



THAÍS BRITO SOUSA

**CARACTERIZAÇÃO DE CASCAS DE ESPÉCIES
FLORESTAIS BRASILEIRAS E USO DE SEUS TANINOS NA
CLARIFICAÇÃO DA ÁGUA**

**LAVRAS-MG
2018**

THAÍS BRITO SOUSA

**CARACTERIZAÇÃO DE CASCAS DE ESPÉCIES FLORESTAIS BRASILEIRAS E
USO DE SEUS TANINOS NA CLARIFICAÇÃO DA ÁGUA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais, área de concentração em Compósitos e nanocompósitos lignocelulósico, para obtenção do título de Doutora.

Dr. Fábio Akira Mori
Orientador

Dr. Luiz Fernando Coutinho de Oliveira
Coorientador

Dra. Graciene da Silva Mota
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2018**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Sousa, Thaís Brito.

Caracterização de cascas de espécies florestais brasileiras e uso
de seus taninos na clarificação da água / Thaís Brito Sousa. - 2018.
75 p. : il.

Orientador(a): Fábio Akira Mori.

Coorientador(a): Luiz Fernando Coutinho de Oliveira, Graciene
da Silva Mota.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2018.
Bibliografia.

1. Anatomia de casca. 2. Composição química de casca. 3.
Coagulante. I. Mori, Fábio Akira. II. Oliveira, Luiz Fernando
Coutinho de. III. Mota, Graciene da Silva. IV. Título.

THAÍS BRITO SOUSA

**CARACTERIZAÇÃO DE CASCAS DE ESPÉCIES FLORESTAIS BRASILEIRAS E
USO DE SEUS TANINOS NA CLARIFICAÇÃO DA ÁGUA
CHARACTERIZATION OF BARKS FROM BRAZILIAN FOREST SPECIES AND
USE OF TANNINS IN WATER CLARIFICATION**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais, área de concentração em Compósitos e nanocompósitos lignocelulósico, para obtenção do título de Doutora.

APROVADA em 23 de agosto de 2018.

Dr. Fábio Akira Mori UFLA

Dr. Luiz Fernando Coutinho de Oliveira UFLA

Dra. Tatiane Kelly Barbosa de Azevedo UFRN

Dra. Caroline Junqueira Sartori IFMG

Dra. Cassiana Alves Ferreira UFLA

Dr. Fábio Akira Mori
Orientador

Dr. Luiz Fernando Coutinho de Oliveira
Coorientador

Dra. Graciene da Silva Mota
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2018**

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por todas as oportunidades que me foram dadas, por todas as barreiras vencidas, pelas bênçãos concedidas, pelas pessoas que foram colocadas na minha vida nos momentos mais propícios.

À minha família, sempre presente em todos os momentos da minha vida e que me ajudaram diretamente nesta jornada. Meu pai que me ajudou na obtenção das cascas, minha mãe que providenciou o transporte rápido do material, meu irmão que corrigiu tantos trabalhos, projetos e a tese. Fora todo o apoio e torcida.

À Day, por sempre acreditar em mim mais do que eu mesma, muito obrigada por não me deixar desistir, muito obrigada por me mostrar que eu era capaz.

À minha madrinha, por todo carinho, zelo e amizade.

Aos amigos do Laboratório de Anatomia da Madeira. Gabriel, quem esteve comigo literalmente em todos os momentos, fez parte de cada detalhe desta tese. Gra, amiga querida que não mediu esforços para me ajudar. As paraenses Jéfyne e Elesandra, minhas companheiras de todos os turnos de trabalho incluindo feriados e finais de semana. Joyce e Eliandra, encararam os reagentes mais diversos comigo.

A todos os membros do NEAPQUIM (Núcleo de Estudos em Anatomia e Produtos Químicos da Madeira), aos meus amigos e familiares pelo incentivo.

Ao meu orientador, pela confiança e liberdade de trabalhar com a linha de pesquisa da minha preferência. Aos meus coorientadores Dr. Luiz Fernando Coutinho de Oliveira e Dra. Graciene da Silva Mota, por todos ensinamentos e orientação.

À empresa colaboradora Bahia Ambiental Consultoria Ltda.

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais, pela oportunidade de realização deste doutorado, especialmente aos departamentos de Ciências Florestais, de Engenharia, de Química, de Física e de Biologia.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo e aos órgãos de fomento CNPq e FAPEMIG.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada.

RESUMO

O objetivo geral deste trabalho foi caracterizar química e anatomicamente as cascas de *Stryphnodendron rotundifolium* e *Myracrodruon urundeuva*, e formular coagulantes à base de seus taninos para serem utilizados na clarificação da água. Foram analisadas a anatomia e a espessura do floema secundário e periderme, e também a histoquímica da casca. Foram determinados os teores de cinza, extrativos, lignina e holocelulose, assim como o índice de Stiasny e o teor de taninos condensados. Dois tipos de cationização foram realizados, um conforme a reação de Mannich e uma alternativa ao formaldeído foi o uso do dimetil carbonato. As cascas das espécies apresentaram ritidoma frequentemente em anastomose, formando um padrão reticulado. As cascas de *M. urundeuva* foram marcadas pela presença de ductos secretores e floema morto entre as peridermes. Fenômeno de dilatação foi observado em *S. rotundifolium* no floema não condutor e em *M. urundeuva* após a periderme mais interna. A quantidade de extrativos em *S. rotundifolium* foi muito maior que em cascas de várias espécies. Para os taninos de *M. urundeuva*, o índice de Stiasny foi de 66,7%, enquanto para os taninos de *S. rotundifolium*, de 95,1%. O rendimento de taninos condensados foi de 11,1% para a casca de *M. urundeuva* e de 25,2% para a casca de *S. rotundifolium*. A análise por FTIR indicou que ambos os processos de cationização ocorreram. Os taninos cationizados com dimetil carbonato apresentaram baixa eficiência na remoção de turbidez, porém, podem ser testados como agentes coagulantes secundários. Nenhum coagulante à base de tanino alterou o pH da água. Ambas as cascas apresentaram maior conteúdo fenólico na casca externa do que na casca interna, sendo indicado a realização de estudos voltados à elaboração de um plano de manejo que vise a exploração sustentável dessas cascas. Os coagulantes derivados de taninos produzidos pela reação de Mannich apresentaram resultados satisfatórios para o uso da água de clarificação.

Palavras-chave: Anatomia de casca. Composição química de casca. Coagulante. *Myracrodruon urundeuva*. *Stryphnodendron rotundifolium*.

ABSTRACT

The general objective of this work was to characterize chemically and anatomically barks from of *Myracrodruon urundeuva* and *Stryphnodendron rotundifolium*, and formulate tannin-based coagulants of these species to be used in water clarification. Anatomy and thickness of the periderm and secondary phloem, and also the bark histochemistry were analyzed. Ash, extractives, lignin, and holocellulose content were determined as well as Stiasny index and condensed tannins content. Two types of cationization were performed, one following Mannich reaction and an alternative to formaldehyde was the use of dimethyl carbonate. Barks species presented rhytidome frequently anastomosing periderm layers, forming a reticulate pattern. *M. urundeuva* was marked by the presence of secretory ducts and dead phloem between the periderms. Dilation phenomena was observed in *S. rotundifolium* in nonconducting phloem, and in *M. urundeuva* after innermost periderm. Amount extractives in *S. rotundifolium* was much higher than in barks of several species. For *M. urundeuva* tannins the Stiasny index was 66.7%, whereas for *S. rotundifolium* tannins was 95.1%. The yield of condensed tannins was 11.1% for *M. urundeuva* bark, and 25.2% for *S. rotundifolium* bark. FTIR analysis indicated that both cationization processes occurred. Cationized tannins with dimethyl carbonate had low turbidity removal efficiency, however, can be tested as a secondary coagulant agent. No tannin-based coagulant changed the pH of the water. Both barks presented more phenolic content in outer bark than inner bark, in which it is indicated the accomplishment of studies directed to the elaboration of management plan that aim at the sustainable exploitation of these barks. Tannin-derived coagulants produced by Mannich reaction presented satisfactory results for use clarification water.

Keywords: Bark anatomy. Bark chemical composition. Coagulant. *Myracrodruon urundeuva*. *Stryphnodendron rotundifolium*.

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	9
1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
3.1	Anatomia da casca	12
3.2	Química da casca	14
3.3	Taninos vegetais	15
3.4	Espécies produtoras de taninos	16
3.4.1	<i>Stryphnodendron</i> Mart. (barbatimão).....	17
3.4.2	<i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão (aroeira).....	18
3.5	Química dos taninos vegetais	20
3.5.1	Taninos hidrolisáveis	20
3.5.2	Taninos condensados	21
3.6	Uso de taninos no tratamento de água	24
	REFERÊNCIAS	28
	SEGUNDA PARTE - ARTIGOS	34
	ARTIGO 1 - Chemical and structural characterization of barks from <i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão and <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart.....	35
1.	Introduction	35
2.	Material and Methods	37
3.	Results	39
4.	Discussion	53
5.	Conclusions	54
	References	55
	ARTIGO 2 – Characterization of tannins from Brazilian forest species and its use in clarification water	60
1.	Introduction	60
2.	Material and Methods	62
3.	Results and Discussion	64
4.	Conclusions	71
	References	72

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

Cascas de árvores têm despertado grande interesse no meio científico e industrial por se tratar de promissoras matérias-primas para aplicação em diversas áreas. Com composição química atrativa, o uso desta parte do vegetal torna possível a obtenção de diferentes produtos de valor agregado.

O mercado de produtos a partir de cascas ainda é pouco desenvolvido devido ao alto investimento para produção de produtos com destinação nobre, grandes quantidades exigidas e principalmente à falta de conhecimento das características intrínsecas das cascas de cada espécie florestal. Entretanto, devido às restrições no uso de produtos sintéticos e com o crescente apelo pelo pensamento “verde” e uso de materiais renováveis, o estudo de cascas tem-se impulsionado no mundo inteiro, sobretudo na Europa (JANSONE; MUIZNIECE; BLUMBERGA, 2017).

Química e estruturalmente, a casca é um material muito complexo. Do ponto de vista estrutural, a casca em seu estágio secundário de crescimento é composta por floema secundário, periderme e ritidoma podendo ter ainda tecidos remanescentes do crescimento primário (EVERT, 2006). O floema secundário é subdividido em floema condutor e floema não condutor. A periderme é constituída de felogênio, felema e feloderme, já o ritidoma, corresponde a todos os tecidos mortos isolados pela última periderme formada (BAPTISTA et al., 2013). Esses tecidos, por sua vez, são compostos por células de diferentes tamanhos, formatos, funções e quantidades, como os elementos de tubo crivado, fibras, esclereides e células parenquimáticas. Dessa forma, o estudo anatômico da casca é uma poderosa ferramenta não só na identificação e separação de espécies, como na estimação do seu potencial de uso (FURUNO, 1990).

Do ponto de vista químico, as cascas são similares a madeira no que se refere às fibras, as quais contêm celulose, hemicelulose e lignina. Entretanto, esses componentes ocorrem em quantidades menores que na madeira uma vez que as cascas normalmente apresentam maior ocorrência de extrativos e material inorgânico, além de possuírem dois compostos exclusivos, a suberina e ácidos fenólicos (LEWIN; GOLDSTEIN, 1991). Em estudo feito por Jansone, Muizniece e Blumberga (2017), dentre todos os usos da casca (energético, cobertura de solo, sorvente, material de construção e extração de compostos químicos) avaliados, a exploração de compostos químicos foi o que mais apresentou potencial para comercialização, sendo liderado pelos taninos.

Os taninos são compostos químicos de natureza fenólica e quando extraídos do vegetal apresentam potencial para ser aplicado nos mais diversos setores, dentre eles na clarificação da água (BELTRÁN-HEREDIA; SÁNCHEZ-MARTÍN, 2009). Seu uso para esta finalidade tem sido muito interessante, uma vez que se tornam agente coagulante alternativo aos sais inorgânicos e polímeros sintéticos, os quais apresentam alguns inconvenientes, como alteração do pH da água tratada, impactos ecotoxicológicos e riscos à saúde humana (VIJAYARAGHAVAN et al., 2011; NDABIGENGESERE et al., 1995). Além disso vale ressaltar que os taninos são biodegradáveis, não tóxicos, não corrosivos e de origem renovável.

Quanto à obtenção dos taninos, o Cerrado brasileiro tem se destacado como fonte desses compostos bioativos. Com cerca de 6671 espécies florestais nativas, sendo 44% endêmicas (MENDONÇA et al., 1998; KLINK; MACHADO, 2005), *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. e *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., da família Fabaceae e Anacardiaceae respectivamente, se sobressaem pelo seu vasto uso na medicina devido à presença de componentes fenólicos, dentre eles os taninos (CALOU et al., 2014; RIBEIRO et al., 2014; RODRIGUES et al., 2008; VIANA; BANDEIRA; MATOS, 2003).

Espécies do gênero *Stryphnodendron* são conhecidas pelo elevado conteúdo tanífero presente em suas cascas, em torno de 30% segundo Mori et al. (2003) para *S. adstringens*. Goulart et al. (2012) e Carvalho et al. (2014) comprovaram que os taninos desta espécie podem também serem usados como adesivos para madeira. Entretanto, para *S. rotundifolium* os estudos são direcionados apenas para fins medicinais. O mesmo acontece para *M. urundeuva*, que atualmente é imune de corte por estar em risco de extinção devido a exploração desenfreada de sua madeira (MARTINELLI; MORAES, 2013). Entretanto, a comprovação do potencial de uso diversificado de sua casca pode ser um importante passo para a conservação da espécie, pois além de incentivar novos plantios, a obtenção da casca pode ser feita por métodos não destrutivos.

Desta forma, o objetivo geral deste trabalho foi caracterizar química e anatomicamente as cascas de *Stryphnodendron rotundifolium* e *Myracrodruon urundeuva*, e formular coagulantes à base de taninos destas espécies para serem utilizados na clarificação da água.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Anatomia da casca

A casca corresponde ao conjunto de tecidos, de origem primária e secundária, que estão localizados externamente ao câmbio (APEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2009; BOHER et al., 2017). Em árvores, lianas e arbustos, pode ser dividida em casca externa e casca interna, a primeira, compreende a periderme mais interna e as peridermes subsequentes com os tecidos isolados por elas, e a segunda corresponde ao floema secundário (ANGYALOSSY et al., 2016).

Em estágio primário de crescimento, a casca de caules inclui o floema primário, o córtex e a epiderme, já em plantas que passam pelo crescimento secundário, a periderme substitui a epiderme, sendo responsável, dessa forma pela proteção de caules e raízes lenhosas, desenvolvendo-se também próximos a tecidos lesionados, onde forma o súber de cicatrização, sendo portanto, grande responsável pela conservação dos sistemas internos (ESAU, 1974; MORRIS; JANSEN, 2016; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2014).

A periderme é constituída de felogênio, também chamado de câmbio da casca, um tecido meristemático que produz felema (súber ou cortiça) em direção à periferia e feloderme, tecido parenquimático vivo internamente ao meristema; as células meristemáticas do felogênio apresentam divisão assimétrica, sendo produzidas muito mais camadas de felema do que de feloderme (BOHER et al., 2017; ESAU, 1974). O desenvolvimento de sucessivas peridermes dá origem ao ritidoma, que pode também incluir vários tecidos de diferentes origens, como tecidos de origem primária (ROTH, 1981).

A formação da periderme é estimulada não somente pela idade, mas também pelas condições ambientais ou lesões na superfície do órgão (APEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2009). Estudos recentes mostram que o desenvolvimento da periderme envolve a regulação de variados genes e se dá em pelo menos seis estágios, compreendendo séries de divisões anti e periclinais do periciclo e diminuição progressiva da endoderme, além da diferenciação do felema, que exhibe um anel de células, momento anterior ao qual, a região cortical e epiderme rompem e desprendem-se, e apenas após isso, a periderme passa a ser o tecido externo que protege o órgão (BOHER et al., 2013; BOHER et al., 2017; WUNDERLING et al., 2018).

No que diz respeito aos tipos celulares encontrados na periderme, o felogênio é caracterizado por apresentar apenas um tipo, com células em formato retangular e achatadas,

quando vistas transversalmente e retangulares, poligonais e ou até irregulares, quando visualizadas sob o aspecto longitudinal (APEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2009; ESAU, 1974).

As células do felema (súber) apresentam forma prismática, irregular ou alongada, a depender do plano anatômico analisado, além disso, quase sempre estão compactadas e se caracterizam pela suberização das paredes, também apresenta células suberizadas e não-suberizadas, ou células felóides, que se lignificam, podendo se diferenciar em esclereídeos (APEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2009; ESAU, 1974). O felema está relacionado à proteção da planta prevenindo ou até mesmo inibindo a passagem de umidade e gases (BROWN; PANSHIN; FORSAITH, 1949)

O formato das células da feloderme se assemelha com as do parênquima cortical, são ativas, diferenciando-se apenas pelo posicionamento, em fileira radial com as células de felema, raramente formam mais de quatro camadas; contém cloroplastos, ou compostos fenólicos, com a presença de estruturas secretoras, podendo formar também esclereides (APEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2009; ESAU, 1974).

O floema secundário é derivado do cambio vascular, composto por floema condutor e não condutor (ANGYALOSSY et al., 2016). O floema condutor é um tecido diferenciado de modo a exercer a função de condução. Ele está envolvido em transporte a longa distância em que os elementos de tubo crivado são enucleados e desenvolvidos possuindo características específicas, como a abertura de poros na área crivada. A camada de floema formada anualmente é cerca de seis a oito vezes menos espessa que a camada de xilema, em função dessa espessura relativamente limitada, esse tecido normalmente se apresenta em atividade em um curto intervalo de tempo, logo, a camada referente ao floema condutor ocupa apenas uma pequena porção da casca (BROWN; PANSHIN; FORSAITH, 1949; EVERT, 2006).

O floema não condutor surge com a perda do conteúdo citoplasmático dos elementos de tubo crivado do floema condutor, ou seja, é a parte do floema cuja capacidade de condução foi perdida (ANGYALOSSY et al., 2016). O surgimento do floema não condutor pode ser evidenciado de quatro formas: (1) colapso dos elementos de tubo crivado e algumas células associadas a eles; (2) crescimento dilatado resultante do alargamento e divisão das células de parênquima radial e/ou axial; (3) esclerificação, que consiste no desenvolvimento de paredes secundárias em células de parênquimas; (4) acúmulo de cristais (ESAU, 1969). Apesar de não conduzir, ressalta-se o floema não condutor continua em funcionamento só que de outras formas, como na estocagem e mobilização de amido e outros metabólitos, e também possui capacidade meristemática (ANGYALOSSY et al., 2016).

3.2 Química da casca

A casca desempenha várias funções para manter a planta viva, como proteção contra o ataque de insetos, microorganismos e componentes químicos da atmosfera, prevenção à desidratação e transporte de produtos sintetizados pela fotossíntese. Dessa forma, sua composição química se mostra muito complexa, apresentando um grande número de diferentes compostos químicos. Em comparação com a madeira, as cascas são similares ao xilema secundário no que se refere às fibras, as quais contêm celulose, hemicelulose e lignina. Entretanto, esses componentes ocorrem em quantidades menores que na madeira uma vez que as cascas normalmente apresentam maior ocorrência de extrativos e material inorgânico, além de possuírem dois compostos exclusivos, a suberina e ácidos fenólicos (LEWIN; GOLDSTEIN, 1991).

A celulose é um componente estrutural que está relacionada à resistência mecânica do vegetal. De acordo com Sjöström (1981) a celulose é o polissacarídeo dominante nas cascas, aproximadamente 30%, porém, apesar de possuir o mesmo arranjo cristalino que a celulose encontrada na madeira, seu grau de cristalinidade é menor (ROWELL et al., 2005), o que significa mais regiões amorfas e menor resistência mecânica.

As hemiceluloses também são componentes estruturais, e se encontram em uma matrix envolvida por fibrilas de celulose dentro da parede celular. Sua função está relacionada com a umidade de equilíbrio da planta bem como interações supermoleculares, em que certamente está envolvida com o processo de lignificação servindo como interface entre a celulose e a lignina (EK; GELLERSTEDT; HENRIKSSON, 2009). As hemiceluloses normalmente ocorrem como heteropolissacarídeos, e na maior parte dos casos, são semelhantes nas cascas e na madeira, com algumas variações na composição (ROWELL et al., 2005). Em cascas, as mais comuns são: glucose, galctose, mannose, xylose, arabinose e rhamnose (SEGALL; PURVES, 1946).

A lignina é uma substância fenólica tridimensional que confere rigidez à parede celular (KOLLMANN; CÔTÉ JÚNIOR, 1968). Nas cascas de Angiospermas, sua concentração é em torno de 40 a 50% (baseado no material livre de extrativos), enquanto que na madeira, varia entre 18 e 25% (HARKIN; ROWE, 1971). Vale salientar que a lignina também apresenta diferença significativa em relação à casca interna e casca externa, sendo que a lignina da casca interna é similar à lignina da madeira (SJÖSTRÖM, 1981).

Suberina é um componente químico tipicamente encontrado em cascas. É caracterizada como insolúvel e impermeável à água, insolúvel em solventes orgânicos e altamente resistente

ao ácido sulfúrico concentrado (PRIESTLEY, 1921). De acordo com Brown, Panshin e Forsaith (1949), as qualidades de isolamento da periderme são relacionadas ao felema que é altamente suberizada para prevenir ou em menos inibir a passagem de umidade e gases.

O material inorgânico presente nas cascas podem ser cerca de dez vezes maior que na madeira (JENSEN et al., 1963). Os metais são presentes nas cascas como sais diversos incluindo oxalatos, fosfatos, silicatos, entre outros. Dentre os metais mais comuns encontra-se o cálcio e o potássio, sendo que o cálcio é o mais ocorrente, principalmente na forma de cristais de oxalato que são depositados nas células de parênquima axial (SJÖSTRÖM, 1981).

Por estar relacionada com a proteção dos órgãos, as cascas podem desenvolver a síntese e secreção de metabólitos secundários, os quais foram se diversificando ao longo da história evolutiva das plantas, tendo como principal finalidade a defesa contra herbívoros, patógenos ou competidores (DELGODA; MURRAY, 2017; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2014).

As principais classes de metabólitos secundários são os alcaloides, os terpenóides e os compostos fenólicos, os quais representam um dos grupos fitoquímicos mais recorrente e diverso, e talvez por isso figure entre os mais estudados dos metabólitos secundários (BALASUNDRAM; SUDRAM; SAMMAN, 2006; LIN et al., 2016; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2014). São exemplos de compostos fenólicos os ácidos fenólicos, fenilpropanóides, flavonóides, quinonas, ligninas e os taninos condensados (RISPAIL; MORRIS; WEBB, 2005).

3.3 Taninos vegetais

Os taninos vegetais são substâncias fenólicas que possuem a propriedade de se associar e de se combinar com proteínas e com certos polióis (PIZZI, 1993). Este comportamento é considerado a base das propriedades tanantes, e segundo Vermerris e Nicholson (2009), a palavra tanino se refere ao processo de curtimento da pele de animais, justamente, pelo fato dessa capacidade que os taninos têm de precipitar o colágeno da pele dos animais para formar o couro.

Segundo Jorge et al. (2001) os taninos vegetais apresentam peso molecular de 500 até valores superiores a 20.000 Da. Ferrão (2003) complementa afirmando que na presença de água, os taninos formam soluções coloidais que apresentam reação ácida e forte sabor adstringente. Nas plantas, a ocorrência dos taninos está relacionada aos sistemas de proteção contra animais e microrganismos patógenos, em que deixam o material amargo ou adstringente ao paladar dos

mesmos e, então, menos predado, o que pode ser explicado pelo fato de os taninos se associarem às glucoproteínas salivares (SILVA, 2001).

A estrutura dos taninos é variável dependendo da vida da planta em determinada área. Suas propriedades variam entre diferentes espécies ou dentro da mesma espécie, dependendo do tecido vegetal (MORI, 1997). Os taninos podem ser encontrados em praticamente todas as partes da planta, em tecidos foliares, tecidos do broto, tecidos de sementes, tecidos da raiz e do tronco (ASHOK; UPADHYAYA, 2012), com destaque para o cerne e para as cascas, em que normalmente ocorrem em maior quantidade.

3.4 Espécies produtoras de taninos

De acordo com Zucker (1983), os taninos se encontram amplamente distribuídos nas plantas superiores, ocorrendo em aproximadamente 30% das famílias, podendo representar de 2 a 40% da massa seca da casca de várias espécies florestais (HERGERT, 1962).

Os taninos são encontrados com maior frequência entre as espécies de angiospermas. Contudo, nas gimnospermas, também existem alguns gêneros, como *Pinus*, *Picea* e *Tsuga*, nos quais os taninos são encontrados com frequência. Já entre as monocotiledôneas existem poucas espécies ricas em taninos; porém, a família Palmaceae representa uma exceção, já que os taninos são encontrados em algumas espécies. Entre as dicotiledôneas, há muitas famílias nas quais os taninos ocorrem em quantidades significativas, sendo as mais notáveis Fabaceae, Anacardiaceae, Combretaceae, Rizoforaceae, Mirtaceae e Polygonaceae. A família Miristicaceae é de interesse especial, por causa dos tubos taníferos distintivos que ocorrem nos raios das madeiras de todas as espécies (SILVA, 2001).

Entre as espécies comercialmente exploradas para a produção, destacam-se o quebracho (*Schinopsis* sp.) de ocorrência na Argentina e Paraguai, a qual pode conter até 25% da massa seca de sua madeira de cerne em taninos e a acácia-negra (*Acacia mollissima* e *Acacia mearnsii*), de ocorrência natural na Austrália (HASLAM, 1966; PANSIN et al., 1962). A *Acacia mearnsii* é cultivada em várias regiões no Rio Grande do Sul e apresenta aproximadamente 28% de taninos na sua casca (TANAC, 2014).

Além dessas espécies, Haslam (1966) cita como grandes produtoras o *Eucalyptus astringens* (casca contendo 40 a 50% de taninos), o mangue-vermelho *Rhizophora candelaria* e o mangue-branco *Rhizophora mangle* (casca com 20 a 30% de taninos). Em relação às espécies produtoras de taninos no Brasil, destacam as seguintes espécies: barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) (MORI et al., 2003), angico branco (*Anadenanthera colubrina*)

e angico vermelho (*Anadenanthera peregrina*) (MOTA, 2016), *Tachigali aurea* (SOUSA, 2015), *Mimosa tenuiflora* (AZEVEDO et al., 2017), *Myracrodruon urundeuva* (QUEIROZ et al., 2002) e *Astronium fraxinifolium* (LORENZI, 1992). Nota-se que essas espécies são todas de ocorrência comum no Cerrado brasileiro, sendo que Afonso (2008) destaca que o principal produto não-madeireiro deste bioma são os taninos.

3.4.1 *Stryphnodendron* Mart. (barbatimão)

O gênero *Stryphnodendron* pertencente à família Fabaceae e subfamília Mimosoideae, é popularmente conhecida como barbatimão e apresenta distribuição geográfica ampla (FELFILI et al., 1999). É praticamente exclusivo da América do Sul, tendo sido identificadas 25 espécies, todas encontradas no Brasil (ALMEIDA et al., 1998). Quanto as suas características botânicas, apresenta-se como árvore de pequeno porte, cuja altura normalmente não ultrapassa 8 metros. Seu tronco apresenta de 20 a 30 cm de diâmetro sendo seu fuste retilíneo até determinada altura, com caule e ramos de forma um pouco tortuosa. A casca é grossa, rugosa e rígida que se solta facilmente, com parte interna de coloração avermelhada (característica comum em espécies produtoras de taninos devido aos pigmentos da classe das antocianidinas) (Figura 1) (ALMEIDA et al., 1998; LORENZI, 1998).

As espécies *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville e *S. rotundifolium* possuem grande importância econômica no Brasil devido as suas propriedades terapêuticas que estão relacionadas aos teores de taninos presentes nas casca das espécies, sendo utilizada como cicatrizante, anti-hemorrágico, no combate à hemorragias e úlceras, dentre outras aplicações (PALLAZZO-DE-MELO et al., 1996; LIMA et al., 1998; RODRIGUES e CARVALHO, 2001). Rizzini e Mors (1976), ainda destaca o uso dos taninos destas espécies na fabricação de tinta para escrever e nas indústrias de couro e farmacêutica.

Mori et al. (2003) estudaram os taninos da casca de *S. adstringens* verificando a enorme potencialidade da espécie para extração destes compostos fenólicos, o rendimento em taninos condensados foi superior a 30%, valor maior que o das espécies exploradas comercialmente. Carvalho et al. (2014) formulou um adesivo natural à base de taninos de *S. adstringens* e utilizou-os para produzir painéis de madeira reconstituída, a conclusão do trabalho foi que em painéis aglomerados o adesivo natural pode substituir em até 50% o adesivo convencional uréia-formaldeído sem comprometer os requisitos estipulados pela norma de comercialização.

Figura 1 - Casca da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.



Fonte: SOUSA (2017).

3.4.2 *Myracrodruon urundeuva* Allemão (aroeira)

Myracrodruon urundeuva é uma espécie arbórea pertencente à família Anacardiaceae. Conhecida como aroeira, seu limite de distribuição natural se estende pelas Regiões Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil até a região chaquenha da Bolívia, Paraguai e Argentina (SANTIN e LEITÃO-FILHO, 1991). É mais frequente no nordeste do Brasil, oeste dos estados da Bahia, Minas Gerais, São Paulo e sul dos estados do Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e Goiás (LORENZI e MATOS, 2002).

O porte da aroeira varia conforme a região de ocorrência, podendo atingir 50 cm de diâmetro e 20 m de altura nos cerrados. Sua casca é castanho-escuro, subdividida em placas escamiformes nos troncos mais velhos, e cinzenta e escamosa nos exemplares mais jovens

(Figura 2) (RIZZINI, 1971). Sua madeira é considerada madeira de lei, sendo muito densa, dura, elástica, resistente a cupins, recebe excelente polimento e, quando seca, é de difícil trabalhabilidade (SANTOS, 1987; RIZZINI, 1995; MORAES e FREITAS, 1997).

Myracrodruon urundeuva é amplamente utilizada para diversos fins madeireiros e não madeireiros, como para a construção de cercas e para fins medicinais (MONTEIRO et al. 2006; ALBUQUERQUE e OLIVEIRA 2007; LUCENA et al. 2007). Seu uso madeireiro se destaca por sua alta durabilidade e dificuldade de putrefação, é muito usada na construção civil como postes ou dormentes para cercas, na confecção de móveis de luxo e adornos torneados (ALMEIDA et al., 1998; LORENZI, 1992). Suas propriedades antiinflamatórias, adstringentes, antialérgicas e cicatrizantes provenientes das cascas, conferem seu uso farmacológico (VIANA et al., 1995). Segundo Souza et al. (2007), tais propriedades se devem a ocorrência de taninos do tipo profisetidina, que em roedores foram capazes combater lesões gástricas.

Queiroz et al. (2002) relataram que o rendimento em taninos condensados no tronco da aroeira chegou 16,7% quando a extração foi realizada em água com metanol. Os autores ainda destacaram que o principal componente do extrato foi a fisetina, e em menor quantidade os ácidos gálico e elágico, flavanonas, flavanóis e elagitaninos.

Figura 2 - Casca da espécie *Myracrodruon urundeuva*.



Fonte: SOUSA (2017).

3.5 Química dos taninos vegetais

Os taninos vegetais são compostos de substâncias com uma elevada proporção de grupos fenólicos com hidroxilas livres e de diferentes graus de condensação ou polimerização (BROWNING, 1963). Eles podem ser classificados em duas diferentes categorias de componentes químicos de natureza fenólica: taninos hidrolisáveis e taninos condensados (PIZZI, 1994).

3.5.1 Taninos hidrolisáveis

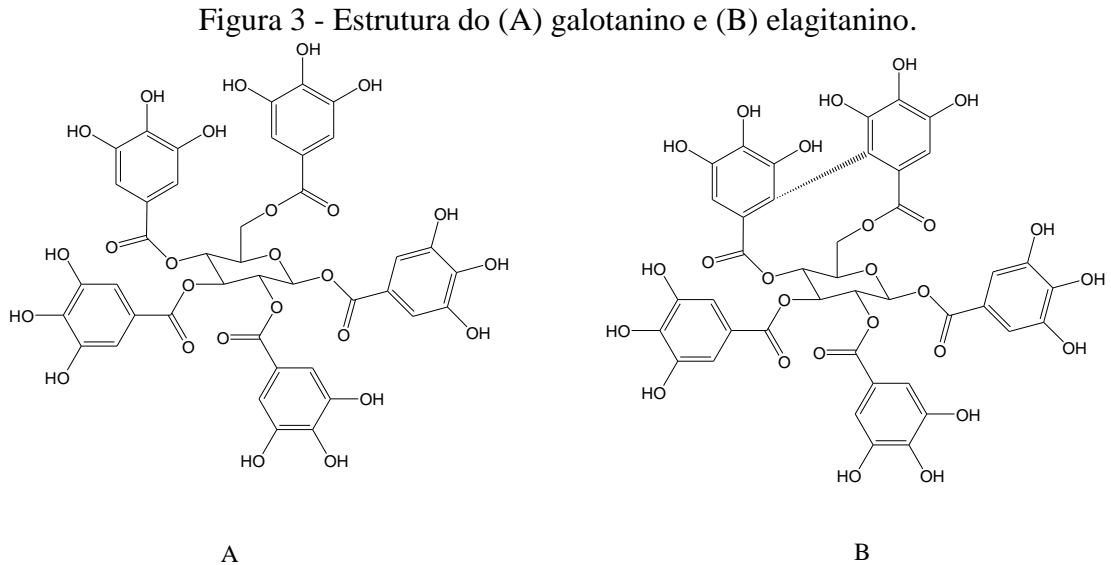
Os taninos hidrolisáveis estão presentes em folhas, galhos, cascas, frutos e madeiras de várias árvores como, por exemplo: *Terminalia*, *Phyllanthus* e *Caesalpinia*, entre outros gêneros (BATTESTIN; MATSUDA; MACEDO, 2004). Para Zucker (1983) e Metche (1980), sua função nas plantas é protegê-las contra os herbívoros, em que estes compostos agem no processo digestivo desses animais, dificultando-o em decorrência da complexação dos taninos com certas proteínas ligadas à produção de enzimas digestivas.

De acordo com Lewin e Goldstein (1991), os taninos hidrolisáveis são compostos por oligômeros de taninos ligados uns aos outros por ligações de éster, que podem ser quebradas por hidrólises ácida ou alcalina dando origem a pequenas moléculas. A unidade básica estrutural desse tipo de tanino é um poliol, usualmente D-glucose, com seus grupos hidroxilas esterificadas pelo ácido gálico (galotaninos) ou pelo hexadihidroxifênico (elagitaninos) (BATTESTIN; MATSUDA; MACEDO, 2004).

Segundo Pizzi (1983), os taninos hidrolisáveis são subdivididos em galotaninos e elagitaninos (Figura 3) conforme o produto da hidrólise, sendo que os galotaninos decompõem-se em ácido gálico e açúcares, enquanto os elagitaninos formam ácido elágico e açúcares. Os galotaninos apresentam como núcleo a glicose, enquanto os elagitaninos são iguais ao grupo dos galotaninos, mas que se formam com mais um grupo hexahidroxidofenol (ácido gálico) e glicose (SILVA, 1999). Em outras palavras, na maioria dos galotaninos se encontram unidades D-glucose que são unidas por ligações de éster do ácido gálico, enquanto os elagitaninos podem ser considerados produtos da oxidação enzimática dos galotaninos (LEWIN; GOLDSTEIN, 1991).

De acordo com Pizzi (2003), os taninos hidrolisáveis possuem certas propriedades indesejáveis para produção de adesivos fenólicos, como baixa reatividade com formaldeído, baixo caráter nucleofílico e limitada produção mundial. Tais propriedades também são

indesejáveis quando se trata de produção de coagulantes para tratamento de água, uma vez que as reações de funcionalização dos taninos necessitam de sítios reativos, além da baixa produção ser sempre um fator limitante principalmente quando se pensa em sintetizar o produto em larga escala.



Fonte: Battestin, Matsuda e Macedo (2004)

3.5.2 Taninos condensados

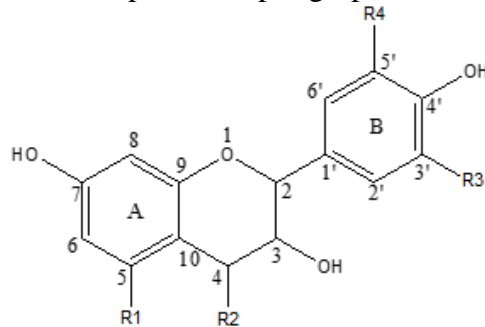
Os taninos condensados são conhecidos por possuírem uma larga distribuição na natureza e particularmente pela expressiva concentração encontrada tanto na madeira quanto na casca de várias espécies (PIZZI, 2003). Os taninos deste tipo também são chamados de proantocianidinas, provavelmente pelo fato de apresentarem pigmentos avermelhados da classe das antocianidinas, como cianidina e delphinidina (SANTOS; MELLO, 1999).

Segundo Zucker (1983), os taninos condensados têm função de assegurar a defesa contra microrganismos patogênicos. Ashok e Upadhyaya (2012) salientam que os taninos também são encontrados no cerne de coníferas e podem desempenhar um papel na inibição da atividade microbiana, resultando, assim, na durabilidade natural da madeira. A ocorrência desses compostos é comum em angiospermas e gimnospermas, principalmente em plantas lenhosas (SANTOS; MELLO, 1999).

As moléculas de taninos condensados são constituídas por oligômeros ou polímeros baseados em unidades monoméricas do tipo flavonóide, que consiste de unidades tricíclicas e hidroxiladas de 15 carbonos (Figura 4) (LAKS, 1991). As unidades flavanoides possuem

diferentes graus de condensação sendo unidas por ligações carbono-carbono, que são difíceis de serem quebradas por hidrólises (ASHOK; UPADHYAYA, 2012). Dos vários tipos de monoflavonóides que ocorrem na natureza, apenas os flavan-3-óis e os flavan-3,4-dióis participam na formação dos taninos, já que são os únicos com capacidade de sofrerem reações de polimerização, constituindo-se assim como os precursores dos taninos condensados (PIZZI, 1983).

Figura 4 - Estrutura da unidade flavanóide percussora dos taninos condensados. Os radicais R_1 , R_2 , R_3 e R_4 podem ser compostos ou por grupo hidroxila ou átomo de hidrogênio.



Fonte: Jorge et al. (2001).

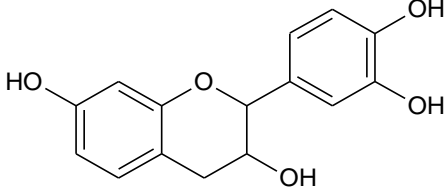
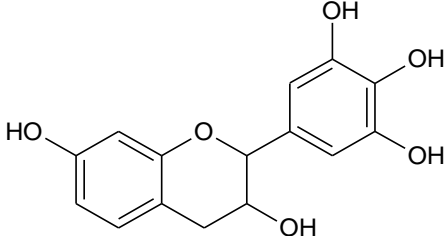
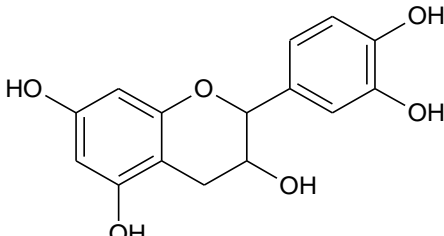
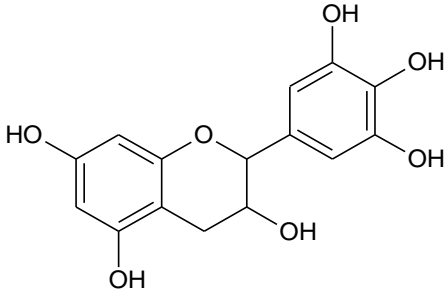
A estrutura básica dos taninos condensados apresenta um heteroanel central de éter, ligado a dois anéis fenólicos. De modo geral, corresponde a copolímeros de condensação, cujas estruturas podem ser do tipo resorcinólico ou floroglucinólico no anel A e pirogalol ou catecol no anel B. O tipo resorcinólico é aquele que possui apenas uma hidroxila ligada ao carbono 7 no anel A, enquanto o tipo floroglucinólico possui hidroxilas nos carbonos 5 e 7. O anel B, tipo catecol, possui duas hidroxilas ligadas, respectivamente, aos carbonos 3' e 4', enquanto o anel B pirogalol possui hidroxilas ligadas aos carbonos 3', 4' e 5'. Em alguns taninos pode ocorrer o anel B fenólico, que possui apenas uma hidroxila ligada ao carbono 3' (PIZZI, 1983).

Taninos condensados apresentam uma rica diversidade estrutural, resultante de padrões de substituições entre unidades flavânicas, diversidade de posições entre suas ligações e a estereo-química de seus compostos (SANTOS; MELLO, 1999). As principais unidades monoméricas e nome dos respectivos taninos condensados são apresentados no Quadros 1. Para Hemingway et al. (1989), a presença de grupos hidroxilas favorece a autocondensação dos flavanóides, o que ocorre devido à ativação das posições 6 e 8. Deste modo, a catequina e a galocatequina são mais reativas em condensação dos centros nucleofílicos 6 e 8 do que a fisetidina e a robinetidina.

As ligações interflavonóides são geralmente realizadas por meio dos centros fortemente nucleofílicos do anel A: C6 e C8; predominando assim ligações C4-C6 em taninos compostos

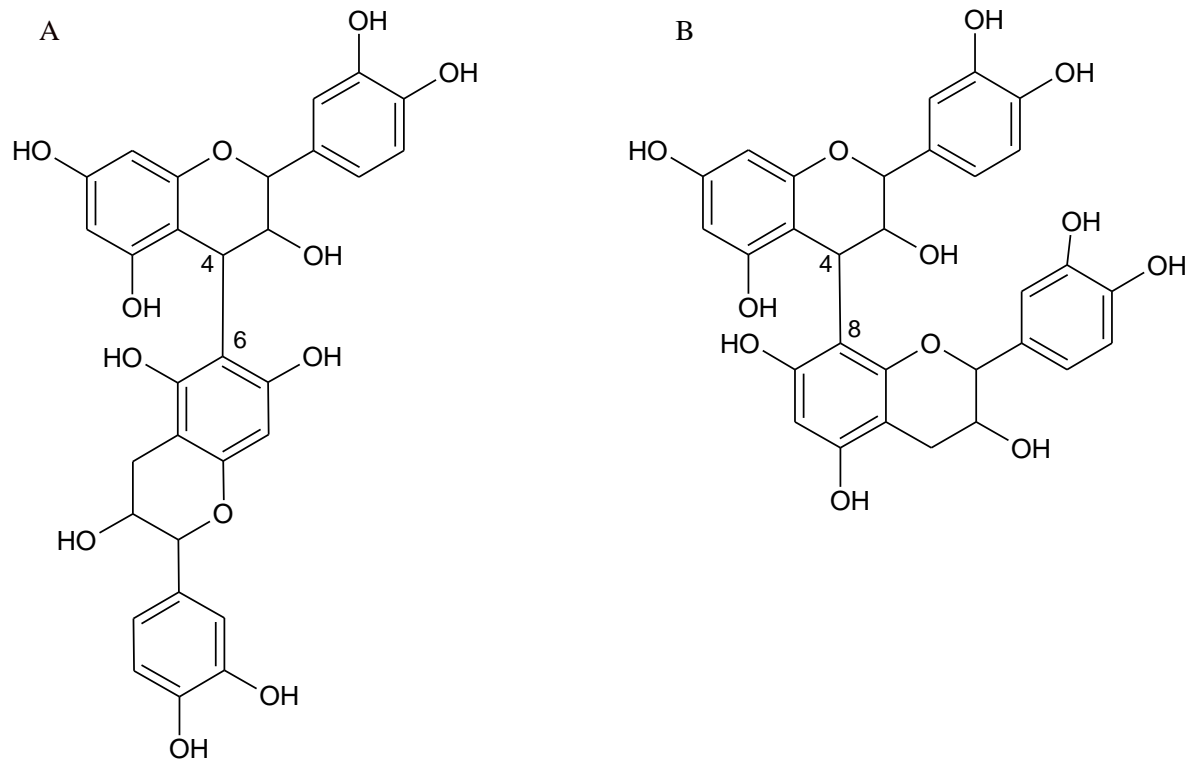
primariamente por fisetinidina/robinetidinina e ligações C4-C8 nos compostos correspondentes de catequina/galocatequina (PIZZI, 1994) (Figura 5).

Quadro 1 - Nomenclatura dos principais monômeros e taninos condensados correspondentes.

Monômero	Taninos condensados
 <p data-bbox="512 801 624 831">Fisetidin</p>	<p data-bbox="1007 656 1150 685">Profisetidin</p>
 <p data-bbox="507 1160 671 1189">Robinetidin</p>	<p data-bbox="983 1048 1174 1077">Prorobinetidin</p>
 <p data-bbox="523 1541 635 1570">Catequina</p>	<p data-bbox="991 1395 1126 1424">Procianidin</p>
 <p data-bbox="515 1921 675 1951">Galocatequina</p>	<p data-bbox="999 1765 1158 1794">Prodelfinidin</p>

Fonte: Jorge et al. (2001) adaptado.

Figura 5 - Ligações interflavanóides (A) C4-C6 e (B) C4-C8.



Fonte: Sousa (2017).

3.6 Uso de taninos no tratamento de água

Uma das alternativas no tratamento da água para abastecimento é a utilização de taninos vegetais como agente coagulante. Acredita-se que os taninos podem assumir a propriedade de coagulante e atuar na etapa do tratamento referente à coagulação/floculação. Esta etapa tem como objetivo desestabilizar os colóides pela destruição da camada de solvatação, e formar flocos com estes colóides que tenham peso suficiente para sedimentar. Dessa forma, é possível retirar as partículas coloidais suspensas na água por sedimentação após a formação dos flocos, proporcionando clarificação e redução de muitos microrganismos capazes de ocasionar doenças (SILVA, 1999).

Para Özacar e Sengil (2003) os taninos são coagulantes naturais efetivos numa ampla faixa de pH, que elimina o uso de alcalinizantes como soda ou cal, não acrescenta metais ao processo e proporciona uma redução no volume de lodo a ser descartado. Ainda, devido a sua composição orgânica, pode ser biologicamente degradado ou eliminado termicamente. Tais características são essenciais no tratamento da água e de efluentes, pois possibilitam que os taninos sejam desejáveis nas etapas de coagulação e floculação, minimizando alguns impactos

negativos quando se utiliza coagulantes químicos, como o odor desagradável, riscos com dosagens excessivas, geração de lodo orgânico e em menor quantidade, além de dispensar o uso de substâncias básicas para correção do pH.

Em estudos realizados por Coral, Bergamasco e Bassetti (2009), os autores apontaram que o desempenho do tanino foi semelhante ao do sulfato de alumínio quando analisada a turbidez. Para os sólidos sedimentáveis, observou-se que a água tratada com taninos apresentou uma maior formação de sólidos em relação ao sulfato de alumínio, em que afirmam que os flocos formados pelos taninos se apresentaram mais definidos e aglutinados que os flocos formados pelo sulfato de alumínio. Para os parâmetros pH e alcalinidade, verificou-se que a água tratada com taninos apresentou resultados mais desejáveis, uma vez que este coagulante pouco alterou nesses quesitos, não sendo então necessário o uso de um outro produto para a correção do pH do meio. Os autores ressaltaram que este tipo de coagulante apresenta vantagens a serem consideradas, e que muitos estudos ainda devem ser realizados de forma a caracterizar por completo este coagulante e seu desempenho no tratamento de águas para consumo humano.

Silva (1999), em seu estudo de tratabilidade físico-química com uso de taninos vegetais em água para abastecimento e de esgoto, apresentou resultados que permitiram concluir que o coagulante à base de tanino foi mais efetivo que o sulfato de alumínio no tratamento de água bruta, pois diminuiu os teores de ferro em 90%, alumínio em 65%, zinco em 80% e não alterou teores de cloreto, dureza e condutividade elétrica, enquanto o tratamento à base de sulfato de alumínio diminuiu os teores de ferro em 70%, alumínio em 43% e o zinco em 60%. Segundo o experimento do mesmo autor, a necessidade de sulfato de alumínio ficou reduzida em 95% quando aplicado junto ao tanino.

Segundo Pelegrino (2011), os sais metálicos apesar de serem empregados para desestabilização química dos efluentes, caracterizados como agentes inorgânicos não biodegradáveis, acrescentam elementos químicos ao efluente final ou ao lodo, sendo ambientalmente menos desejáveis que os coagulantes naturais. Logo, o autor estudou o emprego do coagulante natural tanino no pós-tratamento físico-químico por coagulação e flotação do efluente de reator anaeróbico de manto de lodo de escoamento ascendente, buscando aperfeiçoar esta etapa do sistema de tratamento de esgoto. Pelegrino (2011) utilizou os taninos extraídos da casca da Acácia negra (*Acacia mearnsii*) e justificou a utilização desse composto fenólico sobre a capacidade do produto de neutralizar as cargas dos colóides pela formação de ligações em pontes e pelo fato do produto ser responsável pela formação dos flocos e conseqüentemente a sua decantação/flotação.

Cruz (2004) citou também como importante fator no emprego dos coagulantes biodegradáveis a questão do odor desagradável das estações de tratamento de efluentes, originados pela ação dos microrganismos associados aos sulfatos reduzidos a sulfetos no processo de coagulação/floculação. Em seu trabalho este autor afirmou que em comparação com o sulfato de alumínio, o tanino catiônico, apresentou resultados muito parecidos em relação à qualidade do efluente final. Entretanto, além da vantagem em relação ao odor, a utilização do tanino também é vantajosa por apresentar menor custo, por usar uma matéria-prima renovável, pela menor contribuição de ânions sulfatos ao efluente final, menor geração de massa de lodo e obtenção de um lodo orgânico com maior facilidade de eliminação.

No entanto, vale ressaltar que o grande poder de floculação dos taninos se dá por meio da modificação dos mesmos. Beltrán-Heredia, Sanchez-Martín e Frutos-Blanco (2009) salientam que algumas pesquisas já foram encontradas a respeito de alterações químicas na estrutura dos taninos, porém, a maioria delas são patentes, incluindo o processo específico utilizado pela empresa brasileira TANAC, empresa de grande destaque internacional, sobretudo na produção de taninos extraídos da árvore *Acacia mearnsii* (acácia negra) destinados principalmente para tratamento da água e curtimento de couro.

Segundo os mesmos autores, a reação que torna os taninos eficientes nesse sentido envolve três reagentes: os taninos, um aldeído e um composto de amino. Estes, sob certas condições de pH e temperatura e concentrações ideais, produzem os agentes coagulantes, sendo esse processo químico chamado de Reação de Mannich. Essa reação resultará em um polímero catiônico, que se ioniza quando se dissolve em água, adquirindo carga positiva e atuando como um cátion (GRAHAM et al., 2008). Desta forma, espera-se que em sistemas com partículas coloidais, os taninos neutralizem as cargas e formem espécies de “pontes” entre estas partículas, formando os flocos (KONRADT-MORAES et al., 2007).

Sousa (2015) utilizou taninos de três espécies brasileiras (*Anadenanthera peregrina* - angico-vermelho, *Tachigali aurea* - veludo e *Stryphnodendron adstringens* – barbatimão) sem realizar a reação de Mannich. O resultado foi semelhante para todas as espécies, não houve alteração do pH da água e a remoção da turbidez foi de cerca de 40%. Apesar de ser um resultado longe do desempenho efetuado pelos coagulantes convencionais sulfato de alumínio e cloreto férrico (que removem mais de 85% da turbidez), a autora concluiu que provavelmente apenas ocorreu o mecanismo de formação de pontes durante o tratamento, uma vez que normalmente os taninos apresentam longa cadeia e alto peso molecular. A autora também acredita que a falta de cátions e a presença de hidroxilas nas moléculas dos taninos não permitiram a neutralização de cargas do sistema coloidal, uma vez que para esta interação

ocorrer, os taninos necessitariam de carga oposta a partícula do colóide que na maioria das vezes é negativa.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, S. R. **Análise sócio-econômica da produção de não-madeireiros no cerrado brasileiro e o caso da cooperativa de pequi em Japonvar, MG**. 2008. 107 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade de Brasília, Brasília, 2008.
- ALBUQUERQUE, U.P.; OLIVEIRA, R.F. Is the use-impact on native caatinga species in Brazil reduced by the high species richness of medicinal plants? **Journal of Ethnopharmacology** 113: 156–170, 2007.
- ALMEIDA, S. P. et al. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998. 188p.
- ANGYALOSSY, V. et al. IAWA List of Microscopic Bark Features. **IAWA Journal**, v. 37, n. 4, p. 517–615, 2016.
- APEZZATO-DA-GLÓRIA, B; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia Vegetal**. 3rd ed. Viçosa, MG: UFV, 2009.
- ASHOK, P. K.; UPADHYAYA, K. Tannins are Astringent. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, Ivano-Frankivsk, v. 1, n. 3, 2012. Disponível em: <www.phytojournal.com>. Acesso em: 1 jun. 2014.
- AZEVEDO, T. K. B. De et al. Teor de Taninos Condensados Presente na Casca de Jurema-Preta (*Mimosa tenuiflora*) em Função das Fenofases. **Floresta e Ambiente**, p. 1–7, 2017.
- BALASUNDRAM, N; SUDRAM, K; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potencial uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191-203. 2006.
- BAPTISTA, I. et al. Characterisation and fractioning of *Tectona grandis* bark in view of its valorisation as a biorefinery raw-material. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 166–175, 2013.
- BATTESTIN, V.; MATSUDA, K. L.; MACEDO, A. G. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 15, n. 1, p. 63-72, 2004.
- BELTRAN-HEREDIA, J.; SANCHEZ-MARTÍN, J.; FRUTOS-BLANCO, G. *Schinopsis balansae* tannin-based flocculant in removing sodium dodecyl benzene sulfonate. **Separation and Purification Technology**, Oxford, v. 67, n. 3, p. 292–303, 2009.
- BOHER, P. et al. The potato suberin feruloyl transferase FHT which accumulates in the phellogen is induced by wounding and regulated by abscisic and salicylic acids. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n.11, p. 3225-3236. 2013.
- BOHER, P. et al. A comparative transcriptomic approach to understanding the formation of cork. **Plant Molecular Biology**. v. 96, n. 1-2, p. 103-118, 2017
- BROWN, H. P.; PANSHIN, A.J.; FORSAITH, C. C. **Text book of wood technology**. v. 1. New York: McGraw-Hill, 1949. 652 p.
- BROWNING, B. L. **The chemistry of wood**. New York: J. Wiley, 1963. 689 p.
- CALOU, I. et al. Neuroprotective properties of a standardized extract from *Myracrodruon urundeuva*

- Fr. All. (Aroeira-Do-Sertão), as evaluated by a Parkinson's disease model in rats. **Parkinson's Disease**, v. 2014, n. June, 2014.
- CARVALHO, A. G. et al. Adesivos tânicos de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville na produção de painéis aglomerados. **Revista Árvore**, v. 38, n. 1, p. 195–202, 2014.
- CORAL, L. A.; BERGAMASCO, R.; BASSETTI, F. J. Estudo da viabilidade de utilização do polímero natural (TANFLOC) em substituição ao Sulfato de Alumínio no tratamento de Águas para Consumo. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ADVANCES IN CLEANER PRODUCTION, 2., 2009, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Advances in Cleaner Production, 2009.
- CRUZ, J. G. H. **Alternativas para a aplicação de coagulante vegetal à base de tanino no tratamento do efluente de uma lavanderia industrial**. 2004. 62 p. Dissertação (Mestrado Profissionalizante em Engenharia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.
- DELGODA, R.; MURRAY, J. E. Evolutionary perspectives on the role of plant secondary metabolites. In: BADAL, S.; DELGODA, R. (Eds). **Pharmacognosy**. Academic Press, 2017. 93-100 p.
- EK, M.; GELLERSTEDT, G.; HENRIKSSON, G. **Pulp and paper chemistry and technology: Wood chemistry and wood biotechnology**. Berlin: Walter de Gruyter. 2009. v. 1, 308 p.
- ESAU, K. **The Phloem. Encyclopedia of Plant Anatomy**. Histology, v. 5, parte 2. Gebrüder Borntraeger, Berlin, 1969. 505 p.
- ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. Tradução de Berta Lange de Morretes. São Paulo: Blucher, 1974. 293 p.
- EVERT, R. F. **Esau's plant anatomy: meristems, cells and tissues of the plant body-their structure, function and development**. 3rd ed. New York: J. Wiley, 2006. 601 p.
- FELFILI, J. M. et al. Estudo fenológico do *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville no Cerrado sensu stricto da Fazenda Água Limpa no Distrito Federal, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 83-90, jan./fev. 1999.
- FERRÃO, M. F. et al. Técnica não destrutiva de análise de tanino em café empregando espectroscopia no infravermelho e algoritmo genético. **Tecno-Lóg**, v. 7, n. 1, p. 9-26, 2003.
- FURUNO, T. Bark structure of deciduous broad-leaved trees grown in the San in region, Japan. **IAWA Bulletin**, Leiden, v. 11 n. 3 p. 239-254, 1990.
- GOULART, S. L. et al. Resistência ao cisalhamento de painéis compensados produzidos com adesivo à base de taninos de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão). **Floresta e Ambiente**, v. 19, n. 3, p. 308–315, 2012.
- GRAHAM, N. et al. Characterisation and coagulation performance of a tannin-basic cationic polymer: a preliminary assessment. **Colloids and surfaces A: Physicochem and engineering aspects**, Nova York, v. 327, n. 1-3, p. 9-16, 2008.
- HASLAM, E. **Chemistry of vegetable tannins**. London: Academic, 1966. 170 p.
- HARKIN, J. M.; ROWE, J. W. **Bark and its possible uses**. Washington: USDA Forest Service, 1971. 41 p. (Forest Products Laboratory Report, FLP-091).
- HEMINGWAY, R. W. **Chemistry and significance of condensed tannins**. New York: Plenum, 1989. 553 p.

- HERGERT, H. L. Economic importance of flavonoid compounds; wood and bark. In: _____. **The chemistry of flavonoid compounds**. New York: The Macmillan, 1962. p. 553-595.
- JANSONE, Z.; MUIZNIECE, I.; BLUMBERGA, D. Analysis of wood bark use opportunities. **Energy Procedia**, v. 128, p. 268–274, 2017.
- JENSEN, W. et al. The chemistry of bark. In: BROWNING, B. L. (Ed.). **The chemistry of wood**. Berlin: Interscience, 1963. p. 587-666.
- JORGE, F. C. et al. Aplicações para as cascas de árvores e para os extractos taninosos: uma revisão. **Silva Lusitana**, Lisboa, v. 9, n. 2, p. 225-236, 2001.
- KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A Conservação do Cerrado Brasileiro. **Megadiversidade**, Belo Horizonte, v. 1, n. 1, p. 148-155, jul. 2005.
- KOLLMANN, F. F. P.; CÔTÉ JUNIOR, W. A. **Principles of wood science and technology: solid wood**. Berlin: Springer-Verlag, 1968. v. 1, 592 p.
- KONRADT-MORAES, L.C. et al. Avaliação da eficiência de remoção de cor e turbidez, utilizando como agente coagulante os taninos vegetais, com a finalidade de obtenção de água tratada. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL**, n. 24, 2007, Belo Horizonte. **Anais**. Belo Horizonte: ABES – Associação Brasileira de Engenharia Sanitária, CD-ROM.
- LAKS, P.E. Chemistry of bark, In **Wood and Cellulosic Chemistry**, Hon, D.N.S., Shiraishi, N., eds. Cap. 7, Marcel Dekker Inc., New York, pp. 257-330, 1991.
- LEWIN, M.; GOLDSTEINS. I. S. **Wood structure and composition**. New York: M. Dekke, 1991. 488 p.
- LIMA, J. C. S.; MARTINS, D. T. O.; SOUZA JÚNIOR, P. T. Experimental evolution of stem bark *Stryphnodendron adstringens* (Mart) Coville for anti-inflamamatory activity. **Phytotherapy Research**, London, v. 12, n. 1, p. 218-220, Mar. 1998.
- LIN, D. et al. An overview of plant phenolic compounds and their importance in Human nutrition and management of type 2 Diabetes. **Molecules**, v. 21. 2016.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. São Paulo: Plantarum, 1992. v.1. 368p.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 1998. 352 p.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512 p.
- LUCENA, R.F.P. et al. Useful plants of the semi-arid northeastern region of Brazil – a look at their conservation and sustainable use. **Environmental Monitoring and Assessment** 125: 281–190, 2007.
- MARTINELLI, G. MORAES, M.A. **Livro vermelho da flora do Brasil**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. 1100 p.
- MENDONÇA, R. et al. Flora vascular do cerrado. In: SANO, S.; ALMEIDA, S. (Ed.). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 1998. p. 288-556.

- METCHE, M. Tanins, nature et propriétés, Groupe Polyphénols. **Nancy**, Paris, v. 10, p. 11-32, 1980.
- MONTEIRO, J.M. et al. Use and traditional management of *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan in the semi-arid region of northeastern Brazil. **Journal Ethnobotany and Ethnomedicine** 2: 1–7, 2006.
- MORAES, M. L. T.; FREITAS, M. L. M. **Resumos Embrapa - CPAO/Flora Sul**. Dourados – MS: 1997. p. 9. (Boletins Informativos)
- MORI, F. A. **Uso de taninos da casca de Eucalyptus grandis para produção de adesivos de madeira**. 1997. 47 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1997.
- MORI, F. A. et al. Influência do sulfito e hidróxido de sódio na quantificação em taninos da casca de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*). **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 10, n.1, p. 86-92, 2003.
- MORRIS, H; JANSEN, S. **Bark**. 2016. Disponível em: <<http://www.dendrology.org/publications/tree-profiles/bark/>>. Acesso em: 20 jul. 2018.
- MOTA, G. S. **Características anatômicas e ecológicas de casca e madeira de Anadenanthera**. 2015. 134 p. Tese (Botânica Aplicada) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.
- NDABIGENGESERE, A.; NARASIAH, K.S.; TALBOT, B.G. Active agents and mechanism of coagulation of turbid waters using *Moringa oleifera*. **Water Research**, v. 29, n. 2, p. 703–710, 1995.
- ÖZACAR, M.; SENGIL, I. A. Evaluation of tannin biopolymer as a coagulant aid for coagulation of colloidal particles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and engineering aspects**, Amsterdam, v. 229, p. 85-96, 2003.
- PALAZO-DE-MELLO, J. C.; PETEREIT, F.; NAHRSTEDT, A. Flavan-3-ol and prodelphinidins from *Stryphnodendron adstringens*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 41, n. 3, p. 807-817, Sept. 1996.
- PANSHIN, A. J. et al. **Forest products: their sources, production, and utilization**. 2nd ed. New York: McGraw-Hill, 1962. 538 p.
- PELEGRINO, E. C. F. **Emprego de coagulante à base de tanino em sistema de pós-tratamento de efluente de reator UASB por flotação**. 2011. 161 p. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) - Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos, São Carlos, 2011.
- PIZZI, A. **Wood adhesives: chemistry and technology**. New York: M. Dekker, 1983. 364 p.
- PIZZI, A. Tanin-Based adhesives. In: PIZZI, A. (Ed.). **Wood adhesives: chemistry and technology**. New York: M. Dekker, 1993. p. 177-246.
- PIZZI, A. **Advanced wood adhesives technology**. New York: M. Dekker, 1994. 289 p.
- PIZZI, A. Natural phenolic adhesive I: tannin. In: PIZZI, A.; MITAL, K. L. (Org.). **Handbook of adhesive technology**. 2nd ed. New York: M. Dekker, 2003. p. 573-587
- PRIESTLEY, J. H. Suberin and Cutin. **New Phytol**, v. 20, p. 17-29, 1921.
- QUEIROZ, C.R. A. A.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). **Revista Árvore**, v.26, n.4, p.485-492, 2002.

- RAVEN, P. H.; EVERT, R. E.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 8ª.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. 876 p.
- RIBEIRO, D. A. et al. Promising medicinal plants for bioprospection in a Cerrado area of Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 155, n. 3, p. 1522–1533, 2014.
- RISPAIL, N; MORRIS, P; WEBB, K. J. Phenolic compounds: extraction and analysis. In: MÁRQUEZ, A. J. et al. **Lotus japonicus Handbook**. Netherlands: Springer Netherlands, 2005. p. 349 – 355.
- RIZZINI, C. T.; MORS, W. B. **Botânica econômica brasileira**. São Paulo: EDUSP, 1976. 229 p.
- RIZZINI, C. T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil. Manual de dendrologia brasileira**. São Paulo: Edgard Blücher, 1971. 296 p.
- RIZZINI, C. T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil - manual de dendrologia brasileira**. 2.ed. São Paulo: Edgard Blücher, 1995. 296 p.
- RODRIGUES, F. F. G. et al. Antiulcer and antimicrobial activities of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. **Pharmacognosy Magazine**, v. 4, n. 15, p. 193–196, 2008.
- RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais dos Cerrados na região do Alto Grande/MG. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, MG, v. 25, n. 1, p. 21-28, 2001.
- ROTH, I. **Structural patterns of tropical barks**: Handb. Pflanzenanat. IX/3. Berlin: Borntraeger, 1981. 609 p.
- ROWELL, R. M. **Handbook of wood chemistry and wood composites**. Boca Raton: CRC, 2005. 703 p.
- SANTIN, D. A.; LEITÃO FILHO, H. F. Restabelecimento e revisão taxonômica do gênero *Myracrodruon* Freire Allemão (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v.14, n.2, p.133-145, 1991.
- SANTOS, E. **Nossas madeiras**. Belo Horizonte: Itatiaia, 1987. 316 p.
- SANTOS, S. C.; MELLO, J. P. C. Taninos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: EdUFSC, 1999. p. 323-354.
- SEGALL, G. H.; PURVES, C. B. Chemical composition of wood barks. **Pulp Paper Magazine**, Canada, v. 47 p. 149-162, 1946.
- SILVA, R. V. **Uso de taninos da casca de três espécies de eucalipto na produção de adesivos para madeira**. 2001. 57 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.
- SILVA, T. S. S. **Estudo de tratabilidade físico-química com uso de taninos vegetais em água de abastecimento e de esgoto**. 1999. 87 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Escola Nacional de Saúde Pública – Fundação Oswaldo Cruz, São Paulo, 1999.
- SJÖSTRÖM, E. **Wood chemistry: Fundamentals and Applications**. 2nd ed. San Diego, California; London, England: Academic Press, 1993. 293 p.
- SOUSA, T. B. **Uso de taninos de espécies florestais no tratamento de água para abastecimento**. 2015. 96 p. Dissertação (Ciência e Tecnologia da Madeira) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

SOUZA, S. M. C. et al. Antiinflammatory and antiulcer properties of tannins from *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) in Rodents. **Phytotherapy Research**, v. 21, n.3, p. 220-225, 2007.

TANAC. **Construindo o futuro todos os dias**. Disponível em: <<http://www.tanac.com.br/PT/institucional.php?codCategoriaMenu=148&nomArea=Hist%C3%B3rico&codDado=2&menu=138>>. Acesso em: 9 jun. 2014.

VERMERRIS, W.; NICHOLSON, R. **Phenolic compounds biochemistry**. Heidelberg: Springer, 2009.

VIANA, G. S. B.; BANDEIRA, M. A. M.; MATOS, F. J. A. Analgesic and antiinflammatory effects of chalcones isolated from *Myracrodruon urundeuva* allemão. **Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology**, v. 10, n. 2-3, p. 189-95, 2003.

VIANA, G. S. B. et al. **Aroeira-do-sertão**: estudo botânico, farmacognóstico, químico e farmacológico. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 1995. 164p.

VIJAYARAGHAVAN, C. SIVAKUMAR, T. VIMAL KUMAR, A. Application of plant based coagulants for wastewater treatment. **Int. J. Adv. Eng. Res. Stud.**, v. 1, n.1, p. 88-92, 2011.

WUNDERLING, A. et al. A molecular framework to study periderm formation in *Arabidopsis*. **New Phytologist**, v. 219, n.1, p. 219-229, 2018.

ZUCKER, W. V. Tannins: does structure determine function? An ecological perspective. **The American Naturalist**, Lancaster, v. 121 n. 3, p. 335-365, 1983.

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

ARTIGO 1 - Chemical and structural characterization of barks from *Myracrodruon urundeuva* Allemão and *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.

Artigo a ser submetido ao periódico Industrial Crops and Products (versão preliminar).

ABSTRACT

The objective of this work was to characterize chemically and structurally barks from *Myracrodruon urundeuva* Allemão and *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. Anatomy and thickness of the periderm and secondary phloem, and also the bark histochemistry were analyzed. Ash, extractives, lignin, and holocellulose content were determined. Barks species presented rhytidome frequently anastomosing periderm layers, forming a reticulate pattern. *M. urundeuva* was marked by the presence of secretory ducts and dead phloem between the periderms. Dilation phenomena was observed in *S. rotundifolium* in nonconducting phloem, and in *M. urundeuva* after innermost periderm. Amount extractives in *S. rotundifolium* was much higher than in barks of several species. Both barks presented more phenolic content in outer bark than inner bark, in which it is indicated the accomplishment of studies directed to the elaboration of management plan that aim at the sustainable exploitation of these barks.

1. Introduction

Myracrodruon urundeuva Allemão, commonly known as “aroeira”, is a medicinal plant species from Anacardiaceae family. It is a representative species in the Cerrado Biome and can be found in gallery forest and ciliary forest (Flora do Brasil 2020, 2018). The potential of barks is highlighted in several studies that point to the occurrence of large amounts of tannins that are related to analgesic, anti-inflammatory, antioxidant, antifungal, antibacterial, among other activities (Calou et al., 2014; Galvão et al., 2018; Souza et al., 2007; Viana et al., 2003). Currently, this species is immune to cutting because it is at risk of extinction due to the rampant exploitation of its wood (Martinelli and Moraes, 2013). In this way, knowledge about their bark becomes fundamental for a sustainable use of the species.

Species of the genus *Stryphnodendron* are representative of the Cerrado, comprising 13 species endemic to Brazil (Flora do Brasil 2020, 2018). Studies with barks of species of this genus highlight presence of tannin pyrogallics, flavones, flavonols, flavononols, xanthonnes, chalcones, flavonones and steroids as secondary metabolites, a highlight its potential for use in the medicinal area and as raw material for wood adhesives. *Stryphnodendron rotundifolium*

Mart., popularly known as barbatimão, their barks are utilized for a variety of health problems by local communities, particularly by the inhabitants of rural areas.

Bark of trees has aroused great interest in the scientific and industrial environment because they are promising raw materials for application in several areas. With attractive chemical composition, the use of this part of the vegetable makes it possible to obtain different products of added value.

The market for products from bark is still underdeveloped due to the high investment for the production of noble products, large quantities required and mainly because of lack of knowledge in intrinsic characteristics of the bark of each forest species. However, due to the restrictions on the use of synthetic products and the growing appeal for "green" thinking and the use of renewable materials, the study of bark has been boosted throughout the world, especially in Europe (Jansone et al., 2017).

Chemically and structurally, bark is a very complex material. From the structural point of view, the bark in its secondary stage of growth is composed of secondary phloem, periderm and rhytidome, and may have remaining tissues of the primary growth (Evert, 2006). The secondary phloem is subdivided into conducting phloem and non-conducting phloem. The periderm consists of phellogen, phellem and phelloderm, and the rhytidome corresponds the outer bark, which consists of the innermost periderm and tissues isolated by it (Angyalossy et al., 2016). These tissues, in turn, are composed of cells of different sizes, shapes, functions and quantities, such as sieve-tube, fibers, sclereids and parenchyma cells. In this way, the anatomical study of the bark is a powerful tool in the identification and separation of species (Furuno, 1990).

From a chemical point of view, barks are similar to wood in relation to fibers, which contain cellulose, hemicellulose and lignin. However, these components occur in smaller quantities than in wood since the barks usually present higher occurrence of extractives and inorganic material, besides possessing two exclusive compounds, suberin and phenolic acids (Lewin and Goldstein, 1991). The main classes of secondary metabolites are alkaloids, terpenoids and phenolic compounds, which represent one of the most recurrent and diverse phytochemical groups, and perhaps because of this it is among the most studied secondary metabolites (Balasundram et al., 2006; Lin et al., 2016; Raven et al., 2014). In this group, the tannins stand out as one of the most viable alternatives for the use of the bark (Jansone et al., 2017).

The barks of several species have been object of recent studies on their chemical and structural characterization aiming at their potential as raw material, for example, *Eucalyptus*

spp. (Foelkel, 2006; Miranda et al., 2016, Sartori et al. 2016, Sartori et al. 2018), *Pseudotsuga menziesii* (Ferreira et al., 2015), *Quercus cerris* (Şen et al., 2010), *Tectona grandis* (Baptista et al. 2013), *Anadenanthera peregrina e Anadenanthera colubrina* (Mota et al. 2017). These studies have shown that knowledge about the anatomy and chemical composition of the barks is important to direct their processing routes, products and consequently their valorization.

Microscopic observations of the bark structure of *S. polyphyllum* were performed by Vergílio and Marcati (2017), however, no anatomical references of *S. rotundifolium* and *M. urundeuva* bark were found. Extracts from the bark of *S. rotundifolium* (for example, Oliveira et al, 2011, Costa et al, 2012, Vandesmet et al, 2017) and *M. urundeuva* (for example, Viana et al, 1997, Viana et al. 2003, Carlini et al. 2010, Vieira et al., 2015) were characterized in relation to some chemical constituents and biological activities. The objective of this work was to characterize chemically and structurally barks from *Myracrodruon urundeuva* Allemão and *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. in order to provide information that values its use.

2. Material and Methods

2.1. Sampling

Barks from six trees from *Myracrodruon urundeuva* Allemão and *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. were collected. *M. urundeuva* barks were collected in the municipality of Parnaguá, Piauí, Brazil (10°13'39" S, 44°38'21" W) with climate of type Aw according to Köppen. *S. rotundifolium* barks were collected in the municipality of Lavras, Minas Gerais, Brazil (21°14'43" S, 44°59'59" W) with climate of type Cwa according to Köppen. Both were obtained from native forest and they were taken from the lower part of the stem until 1.3 m of height.

The trees were randomly selected and characterized: *Myracrodruon urundeuva* trees presented around 14.3 cm in diameter at breast height (dbh) and 10–13 m in height; *Stryphnodendron rotundifolium* trees presented average of 20.16 cm dbh, and 6.5–8 m in height.

The material collected were divided in two parts, one for anatomical and histochemistry characterization and other for chemistry characterization.

2.2. Macroscopy analysis

The bark thickness was measured in transverse section using a pachometer and based on bark thickness and mean diameter of the tree the percentage of bark in each specimen was determined. Samples were polished in the transverse plane with water sandpaper and was estimated thickness of the periderm, rhytidome, total secondary phloem, conducting and non-

conducting phloem, and dead phloem (from *Myracrodruon urundeuva*). 18 measurements was performed per species, three per specimen.

2.3. Anatomy

The samples were impregnated with DP 1500 polyethylene glycol and transversal, tangential and radial microscopic sections were prepared from cambium to the outside (Mota et al., 2017; Quilhó et al. 1999; 2000). A sliding microtome was used, to cut sections 15–20 μm thick. The sections were stained in alcian blue and in a double staining with alcian blue and safranin. Permanent slides were mounted in a synthetic resin (entellan).

Macerations were undertaken, small portions were selected of the samples and put in a solution of glacial acetic acid and hydrogen peroxide (1:1) at 60°C for 7 h (Franklin 1945, modified by Kraus and Arduin 1997). The macerated material was staining in alcian blue and semi-permanent slides were mounted in glycerine.

From the slides were quantified diameter of sieve-tube elements; ray height and thickness, number of cells by ray height and thickness, abundance of rays per linear millimetre; and number of phellem and phelloderm layers and cells. From macerated material were quantified length of sieve-tube elements; length, diameter, cell-wall thickness, and lumen thickness of fibres. For each anatomical feature were performed 180 measurements per species, 30 per specimen.

Microscopic observations and data acquisition used an optical microscope Ken-A Vision TT-1010, coupled to a digital camera and using Wincel – PRO software. The slides were photographed using a microscope attached to an image capture system (CX31, Olympus, Tokyo, Japan). Terminology followed Angyalossy et al. (2016).

2.4. Histochemistry

Sections of bark samples were cut using sliding microtome from samples impregnated with DP 1500 polyethylene glycol the material. This sections were treated with ferric chloride to detect phenolic compounds, lugol to detect starch, lugol-H₂SO₄ 70% to detect cellulose and Sudan IV to detect suberin in the cell wall, all according to Johansen (1940). To detect inorganic material was followed methodology purposed for Chamberlain (1932) modified by Kraus and Arduin (1997), to detect calcium oxalate crystals was used hydrochloric acid and to detect calcium carbonate crystals was used acetic acid. To detect lignin in the cell wall was used phloroglucinol–HCl (Sass 1951).

2.5. Summative Chemical Composition

The barks were air dried, ground and the fraction 35-60 mesh used for chemical analysis. Summative chemical analysis included determinations of ash, extractives soluble in dichloromethane, ethanol, and water, Klason and acid-soluble lignin, and holocellulose.

The extractives were determined according to TAPPI standards (TAPPI Standard T204 om-88 and T207 om-93). Successive Soxhlet extractions were made with dichloromethane, ethanol, and water, for 6 h, 16 h, and 16 h, respectively, and the extractives solubilized by each solvent were determined gravimetrically.

Klason lignin was determined following to TAPPI Standard T 222 om-88, lignin acid soluble TAPPI Standard UM 250, and ash TAPPI Standard T 211 om-93. Holocellulose was determined by difference.

3. Results

3.1. *Myracrodruon urundeuva* Allemão

The macroscopic outer aspect of *M. urundeuva* bark is presented in Fig. 1A. The bark is greyish brown and thick (5.9-13.8 mm), representing 13.5% of tree diameter, irregularly scaly with some fissures. Detachment of the scales was observed, which made it difficult to analyze the rhytidome at a microscopic level.

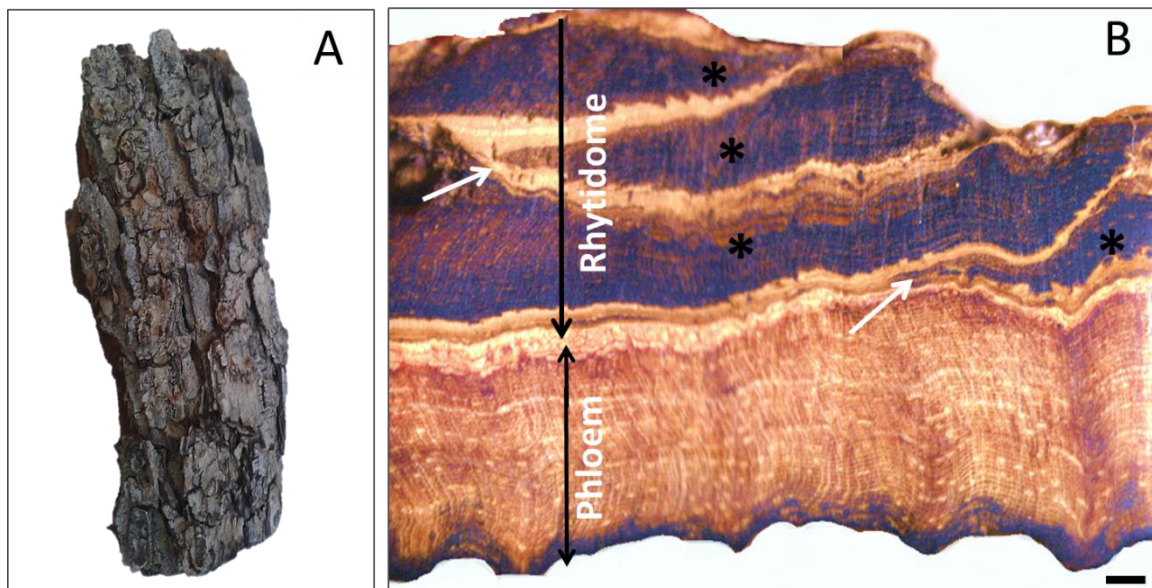


Fig. 1. (A) Macroscopic outer aspect of *Myracrodruon urundeuva*; (B) Transverse section of the bark of *M. urundeuva* evidencing phloem (conductive phloem + non-conductive phloem);

rhytidome with phloem between the periderms (*); union of periderms or anastomosis (arrows). Scale bar = 1 mm.

3.1.1. Bark Anatomy

The bark included the rhytidome and phloem. Outer bark comprised successive periderms forming rhytidome and dead phloem included between them. This part of the bark represented 8.9% of the tree diameter and 57.5% of bark thickness. Rhytidome presented reticulate pattern, in which were noted sequent periderms which are discontinuous but overlap and have anastomosing layers (Fig. 1B). This tissue represented 2.2% of tree diameter (Table 1) considering the sum of periderms. The number of periderms was variable (2-8) due to parts of rhytidome scaling off throughout the year. Dead phloem was also observed between periderms. This tissue represented 6.7% of tree diameter, corresponding to 43.1% of bark thickness (Fig. 1B and Table 1). Phellem cells presented themselves rectangular with evenly thin-walled (Fig. 2B) and some cells contained phenolic content (Fig. 2C). Four growth rings were detected, marked by the smaller radial dimension of cells (Fig. 2B). The number of phellem layers was up to 33 (Table 1). Phelloderm is thick, up to seven cell layers, paralleling that of the phellem, their cells showed themselves rectangular and consist of sclerified and nonsclerified cell (Fig. 2C and Table 1). In general, periderm layer presented 0.7% of tree diameter (Table 1).

Cortex comprises parenchyma rectangular cells that sclerified forming groups of sclereids (Fig. 2A, 3A and 3B). Dead phloem is dark brown, whereas nonconducting phloem is light brown (Fig. 1B). Secondary phloem is composed of nonconducting and conducting phloem (Fig. 3A). Phloem of the inner bark (nonconducting and conducting phloem) and in the dead phloem in the outer bark were marked by the presence of irregularly dispersed resin ducts (Fig. 2A and 3A).

The conducting phloem represented the smallest portion in relation to the diameter tree, 0.5% (3.6% of the bark thickness) (Table 1). Sieve-tubes are distributed in tangential bands (Fig. 3D) with all sieve plates simple and slightly inclined (Fig. 4F) and two or more companion cells lying along the sieve-tube were observed (Fig. 4A). The diameter and length of sieve-tube elements were 15.0 and 329.5 μm respectively (Table 1). Nonconducting phloem represented 6.5% of tree diameter, corresponding to 38.9% of the bark thickness (Table 1).

The axial parenchyma cells is distributed in continuous broad bands in more or less 3–5 cells that alternated with continuous tangential bands of fibers (Fig. 3A, 3C and 3D). Dilation

through tangential expansion was seen in dead phloem (Fig. 2A). Aliform parenchyma associated to secretory ducts was noted on transverse (Fig. 3D) and tangential section (Fig. 4D)

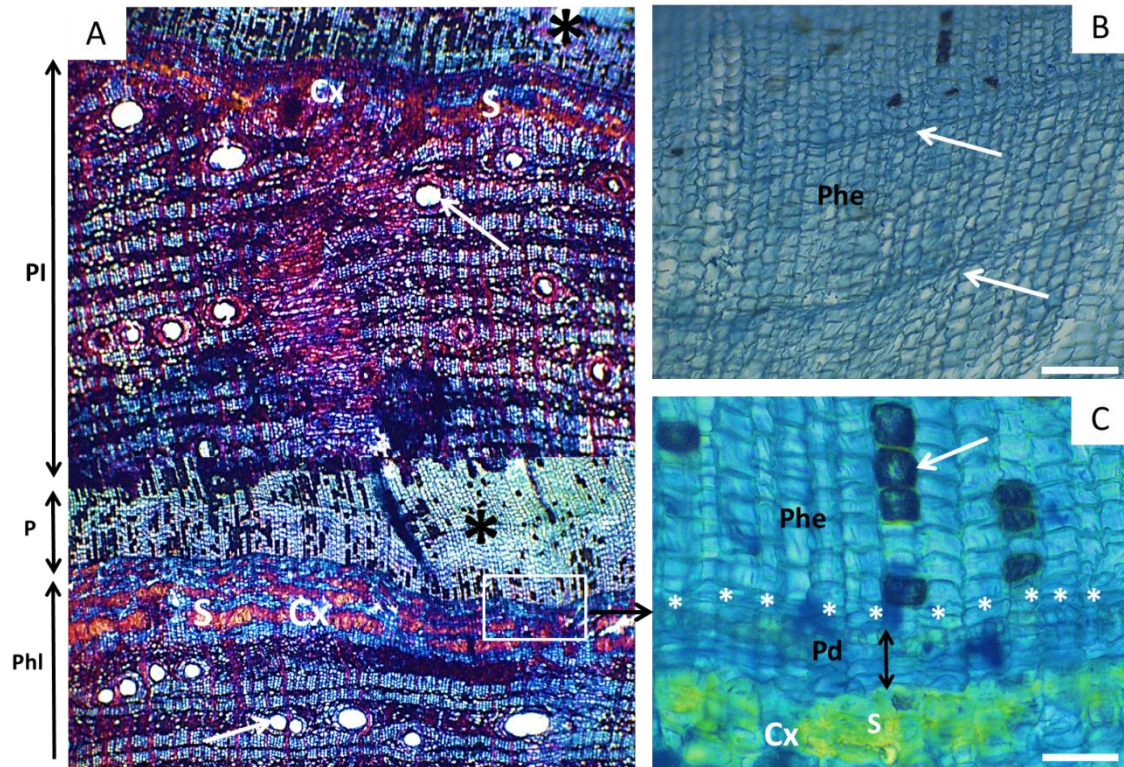


Fig. 2. Transverse sections of *Myracrodruon urundeuva* Allem. bark. (A) nonconducting phloem of inner bark (Phl), periderm (P), dead phloem (PI), ducts (white arrow), cortex (Cx), sclereids (S) and phellem (*); (B) Phellem (Phe), growth ring marked by the smaller radial dimension of the cells (arrow); (C) Phellem (Phe), Phelloderm cells (Pd), Phellogen cells (*) and phellem cells with phenolic content (arrow). Bars: A = 100 μm ; B = 50 μm ; C = 25 μm .

Rays are non-storied (Fig. 3C and Fig. D) and follow wavy course on the transverse section (Fig. 3A). They are composed of procumbent cells (Fig. 4B). The number of cells in the rays was of 1-3 wide, 4-27 in height (Fig. 4C) and 2-6 per millimeter (Table 1). The height was 227.6 μm and the thickness was 21.3 μm (Table 1). Rays dilatation were seemingly absent throughout the conducting and nonconducting phloem (Fig. 3A). However, starting of dead phloem, some rays were slightly dilated (Fig. 2A). Sclerification of rays was noted in nonconducting phloem near to cortex (Fig. 3C).

Fibers presented themselves in continuous tangential bands with shape rounded to polygonal in secondary phloem (Fig. 3C). Tangential bands of fibers were alternated along the phloem in narrow, medium and wide (Fig. 3A). The occurrence of fiber-sclereids was also

verified (Fig. 4G). In cortical region fibers remained in tangential band and sclereids showed in clusters (Fig. 2A, 3A and 3B). The diameter and length of fibers, lumen diameter and wall thickness are shown in Table 1.

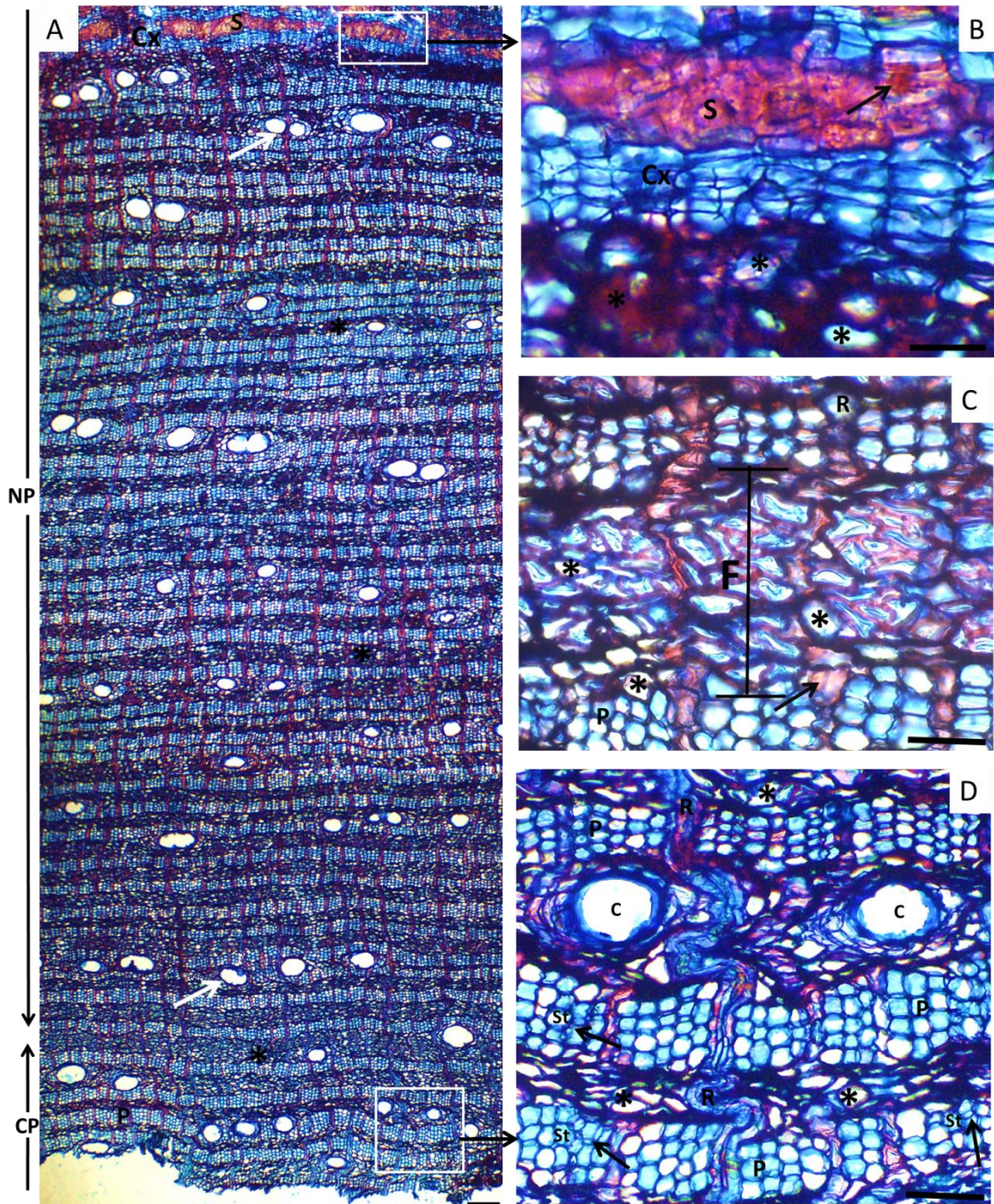


Fig. 3. Transverse sections of *Myracrodruon urundeuva* Allem. bark. (A) Secondary phloem is composed of nonconducting (NP) and conducting phloem (CP), fibers in continuous tangential bands (*), cortex (Cx), resin ducts (white arrows), clusters of sclereids (S); demarcated zones in detail: (B) cortex (Cx), clusters of sclereids (S), sclerified cell with content (black arrow) and fibers (*); (C) Fibers (F), fiber lumen (*), undulated rays (R), rays cells sclerificated (black

arrow) and axial parenchyma (p); (D) axial parenchyma (p), undulated rays (R), secretory ducts (C), fibers (*), sieve-tube (St), companion cells (black arrow). Bars: A = 100 μm , B e C = 25 μm ; D = 50 μm .

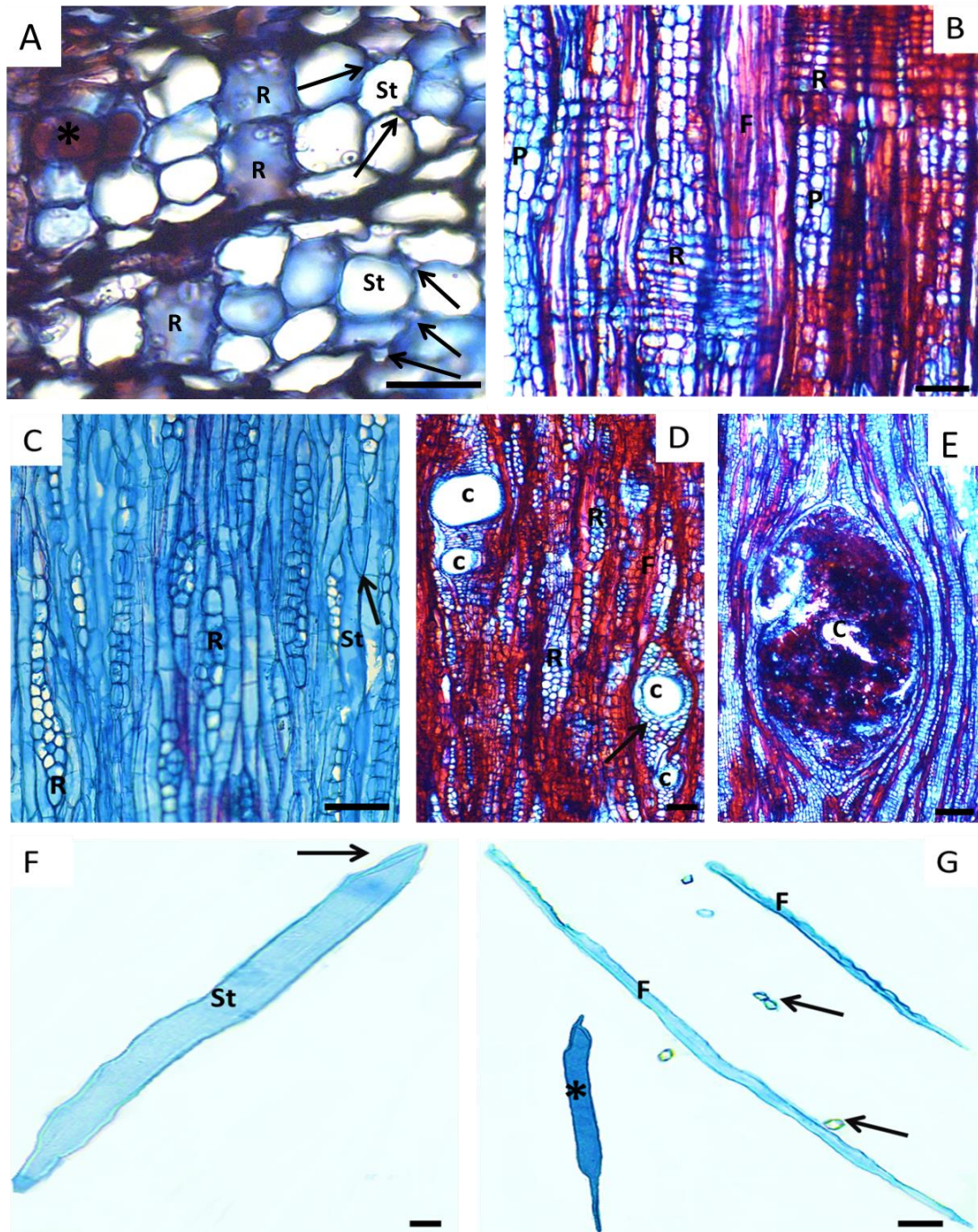


Fig. 4. Phloem of *Myracrodruon urundeuva* Allem. bark (A) Transverse section showing sieve-tube (St), companion cells (arrow) and ray cells (R); (B) Radial longitudinal section showing ray cells (R) and fibers (f); (C), (D) and (E) Tangential longitudinal section; (C) Rays (R), sieve-tube (St) and companion cells; (D) rays (R), fibers (F) and radial secretory ducts (C, arrow); (E)

traumatic radial duct (C); (F) and (G) Dissociated elements: (F) Sieve-tube (St) with sieve plates simple (arrow); (G) Fibers (F), crystals (arrow) and fiber-sclereid (*). Bars: A = 50 μm ; B = 25 μm ; C-G = 50 μm .

Table 1

Quantitative data of barks from *Myracrodruon urundeuva* and *Stryphnodendron rotundifolium*

Parameter	<i>M. urundeuva</i>	<i>S. rotundifolium</i>
Relative thickness (%)		
Bark (rhytidome+córtex+phloem)	13.5 \pm 1.7 (11.0-15.8)	8.1 \pm 2.3 (5.4-11.1)
Rhytidome (successive periderms)	2.2 \pm 0.9 (1.4-3.8)	2.1 \pm 0.8 (1.2-3.5)
Periderm	0.7 \pm 0.2 (0.5-1.1)	1.7 \pm 0.8 (0.7-2.8)
Secondary phloem	6.2 \pm 1.9 (3.3-8.1)	4.5 \pm 0.8 (3.5-5.7)
Nonconducting phloem + cortex	5.7 \pm 1.8 (2.9-7.5)	4.0 \pm 0.8 (3.0-5.1)
Conducting phloem	0.5 \pm 0.1 (0.3-0.7)	0.5 \pm 0.1 (0.4-0.6)
Dead phloem	6.7 \pm 3.2 (4.1-12.3)	-
Number of layers/cells		
Layers of phellem in the periderm	Up to 33	Up to 56
Layers of phelloderm in the periderm	Up to 7	Up to 6
Cell in ray thickness	1.7 \pm 0.2 (1.0-3.0)	1.2 \pm 0.1 (1.0-3.0)
Cells in ray height	11.6 \pm 1.8 (4.0-27.0)	9.0 \pm 1.4 (4.0-21.0)
Anatomy (μm)		
Sieve tube diameter	15.0 \pm 0.6 (8.7-26.8)	21.8 \pm 1.0 (13.6-37.0)
Sieve tube length	329.5 \pm 13.0 (202.9-471.2)	348.1 \pm 22.1 (223.6-573.1)
Ray height	227.6 \pm 28.1 (90.7-519.1)	165.2 \pm 26.8 (81.4-409.2)
Ray thickness	21.3 \pm 3.7 (8.2-45.3)	18.2 \pm 2.2 (8.2-49.2)
Ray per millimeter	3.7 \pm 0.2 (2.0-6.0)	4.2 \pm 0.3 (2.0-8.0)
Fiber diameter	24.28 \pm 1.5 (7.3-49.6)	15.4 \pm 1.3 (9.0-26.6)
Fiber lumen diameter	15.5 \pm 1.3 (3.1-33.5)	5.8 \pm 1.2 (2.2-14.8)
Fiber wall thickness	4.4 \pm 0.4 (1.1-8.5)	4.8 \pm 0.6 (1.7-9.1)
Fiber length	683.8 \pm 86.9 (277.2-1252.3)	1166.1 \pm 82.6 (524.7-1910.6)

The values are shown as population mean \pm population standard deviation (minimum value – maximum value).

3.1.2. Histochemistry

Results of histochemical tests are presented in Table 2 and Fig. 5. Phenolic compounds were observed in all tissues from the *M. urundeuva* bark (Fig. 5A, Fig. 5B and Fig. 5C). In secondary phloem were presented in radial parenchyma and mainly in axial parenchyma (Fig. 5A). In dead phloem is possible to observe more phenolic compounds than in secondary phloem (Fig. 5C). Lignin was observed in walls fibers and sclereids (Fig. 5D and 5E), suberin in walls phellem cells (Fig. 5F), starch grains in conducting and nonconducting phloem, specifically in axial parenchyma (Fig. 5G and 5H) and radial parenchyma (Fig. 5G and Fig. 5H), and cellulose

was presented in all tissues (Fig. 5I and 5J). Calcium oxalate was presented in radial and axial parenchyma near to the fibers with shape prismatic crystals (Fig. 4G).

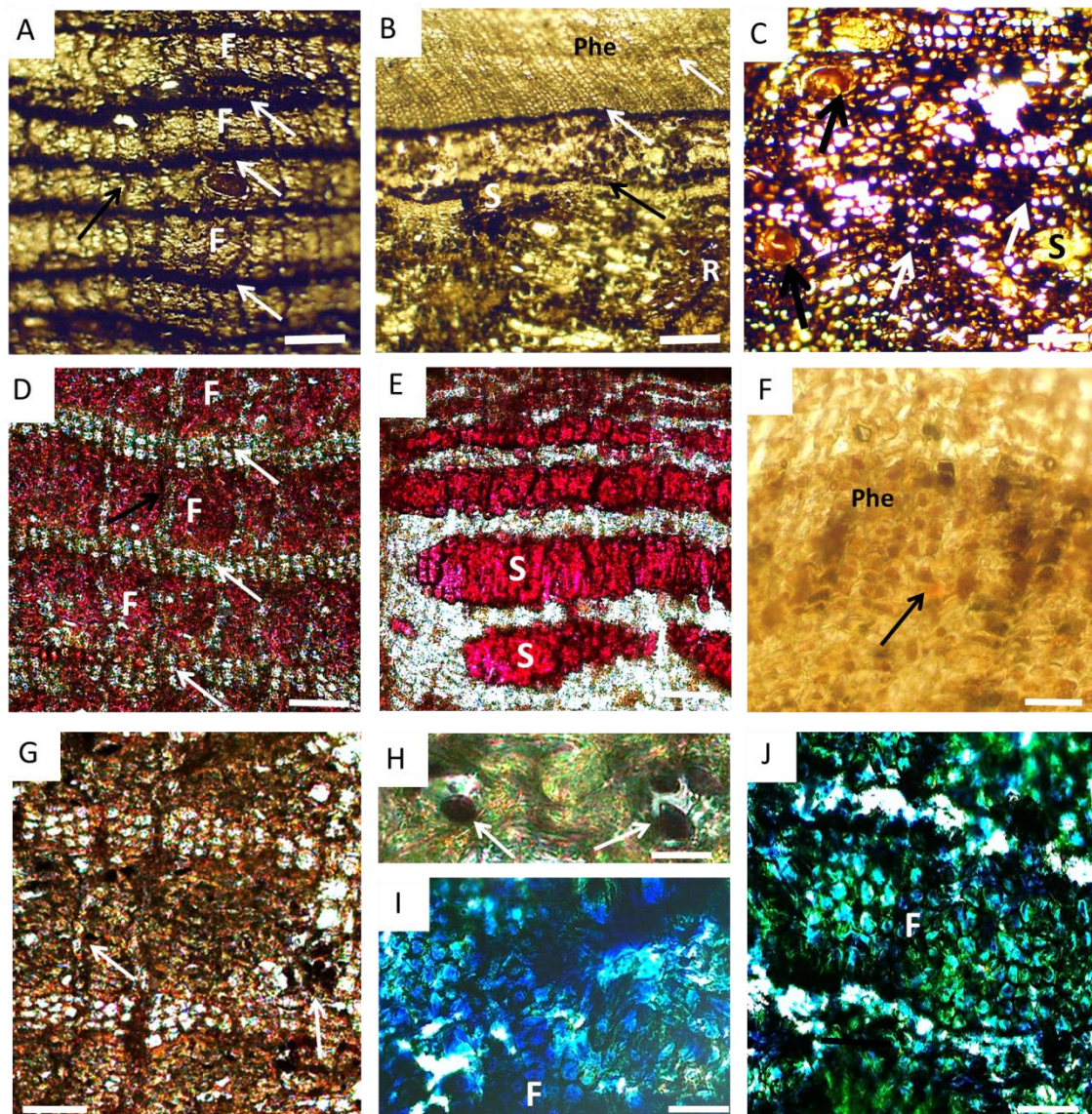


Fig. 5. Transverse sections of the *Myracrodruon urundeuva* Allem. bark submitted to histochemical tests. A-C. Ferric chloride, black color indicates the presence of phenolic compounds. (A) Secondary phloem, fibers in continuous tangential bands (F), axial parenchyma with phenolic content (white arrows), undulated rays (black arrows); (B) Clusters of sclereids in cortex (S), rays with phenolic content (R), phellem (Phe) and cortex, phelloderm and phellem cells with phenolic content (arrows); (C) Dead phloem, cells with phenolic content (white arrows) and ducts with content (black arrows); (D and E) Phloroglucinol-HCl, red staining indicates the presence of lignin; (D) Secondary phloem, fibers in continuous tangential bands (F), axial parenchyma with phenolic content (white arrows), undulated rays (black arrows). (E) Clusters of sclereids (S); (F) Sudan IV, orange color indicates the presence of

suberin (black arrow), orange phellem wall (black arrow); (G and H) Lugol, dark blue staining indicates the presence of starch, fibers, rays cells with starch (white arrows); (I and J) Lugol-H₂SO₄ 70%, blue staining indicates the presence of cellulose, fibers (F). Bars: A-E, I and J = 50 μ m; G = 100 μ m; F and H = 25 μ m.

Table 2

Histochemical tests of *Myracrodruon urundeuva* and *Stryphnodendron rotundifolium* bark.

– absent; + present; 0 not tested

Parameter	<i>M. urundeuva</i>		<i>S. rotundifolium</i>	
	Phloem	Periderm	Phloem	Periderm
Phenolic compounds	+	+	+	+
Starch	+	-	+	-
Cellulose	+	+	+	+
Lignin	+	+	+	+
Suberin	0	+	0	+
Calcium oxalate	+	0	+	0
Calcium carbonate	-	0	-	0

3.1.3. Summative Chemical Composition

Table 3 summarizes the chemical composition of *M. urundeuva* barks. *M. urundeuva* barks presented about 22.81% of polar extractives while the lipophilic extracts in dichloromethane was 4.15%. The proportion between polar and apolar extractives of this species was about 84.6% and 15.4%, respectively. The lignin represented 25.74% of the composition of the bark of *M. urundeuva* and holocellulose 38.06%. The content in ash was very high at 9.24%.

Table 3

Summative Chemical Composition of barks from *Myracrodruon urundeuva* and *Stryphnodendron rotundifolium*

	<i>M. urundeuva</i>	<i>S. rotundifolium</i>
Extractives		
Dichloromethane (%)	4.15 ± 0.4	3.68 ± 2.1
Ethanol (%)	9.33 ± 0.3	30.91 ± 1.3
Water (%)	13.48 ± 1.2	15.60 ± 1.5
Total (%)	26.96 ± 1.7	50.19 ± 3.0
Lignin		
Klason Lignin (%)	24.81 ± 3.1	27.10 ± 1.3
Soluble Lignin (%)	0.93 ± 0.2	1.10 ± 0.03
Total (%)	25.74 ± 3.2	28.20 ± 1.3
Ash (%)	9.24 ± 0.6	1.89 ± 0.2
Holocellulose (%)	38.06 ± 2.2	19,72 ± 2.0

The values are shown as population mean ± population standard deviation

3.2. *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.

Outer aspect of *S. rotundifolium* bark is greyish presenting microfissures, whereas inner bark is reddish (Fig. 6). Bark thickness represents 8.1% of diameter tree, and it is composed majority for secondary phloem, 4.5% of diameter tree (68.6% of bark thickness), being 0.5% corresponding to conducting phloem and 4.0% for nonconducting phloem (Table 1).

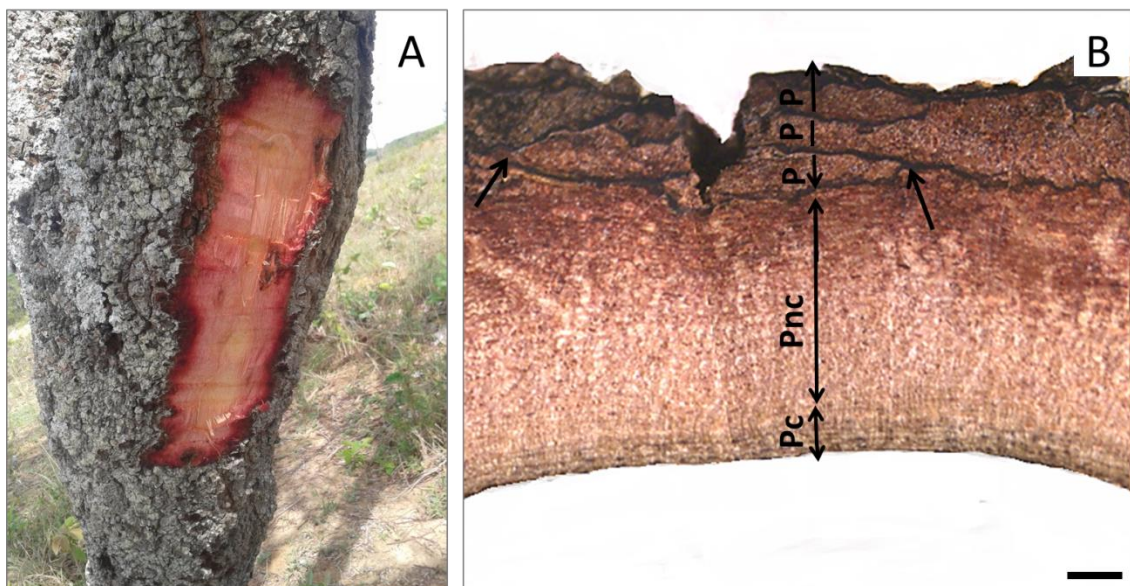


Fig. 6. (A) Macroscopic outer aspect of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.; (B) Transverse section of the bark of *Stryphnodendron rotundifolium* evidencing conductive phloem (Pc), non-conductive phloem (Pnc) and periderms (P); union of periderms or anastomosis (arrows). Scale bar = 1 mm.

3.2.1. Bark Anatomy

The bark presented rhytidome formed by two or more successive periderms (Fig. 7A). The periderm reticulate comprised a phellem nonstratified layer with up to 56 cells in each radial row and up to six phelloderm layers (Table 1 and Fig. 7C). Phellem and phelloderm cells were rectangular with thin-walled but also included some cells with thickened walls, and with phenolic content (Fig. 7B and Fig. 7C). Rhytidome represented 31.4% of bark thickness and 2.1% of tree diameter (Table 1). Stratified lenticels was observed (Fig. 7B).

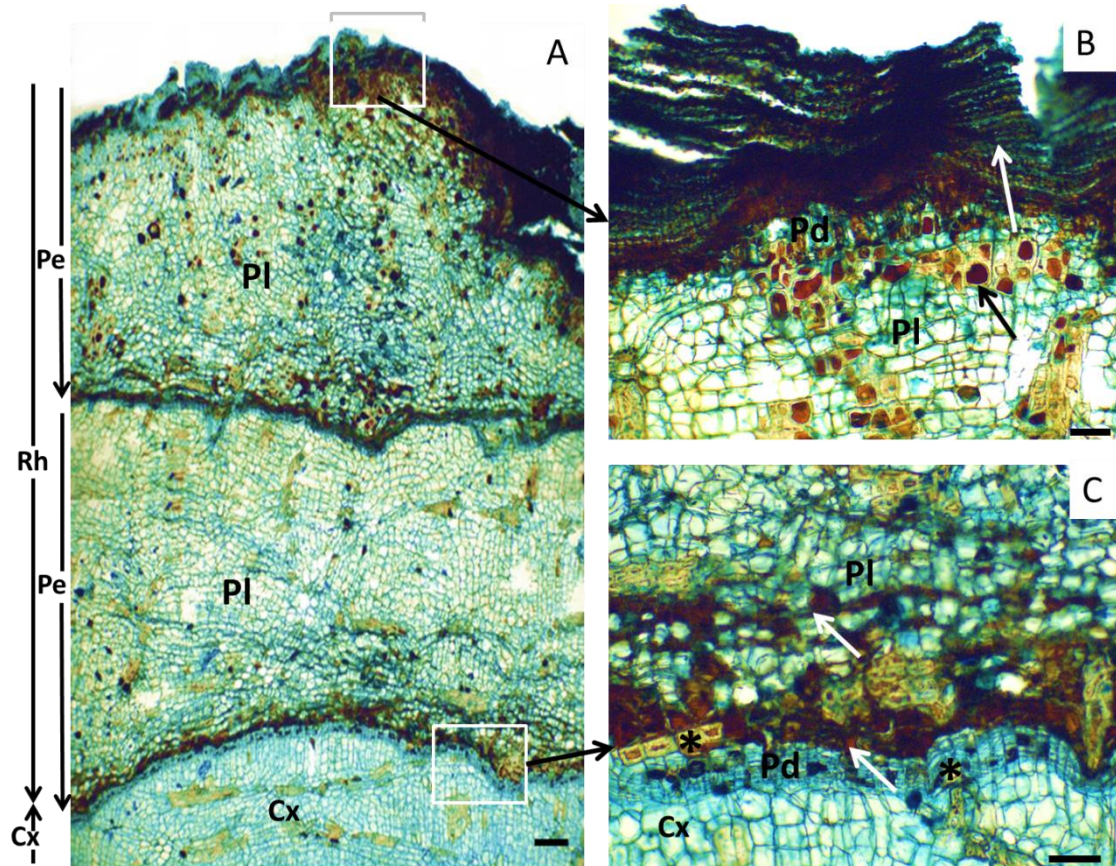


Fig. 7. Transverse sections of *Stryphnodendron rotundifolium* (Mart.) bark (A) Rhytidome (Rh), periderm (Pe), phellem (Pl), cortex (Cx); demarcated zones in detail: (B) stratified lenticels (White arrow), phelloderm (Pd), phellem (Pl) e phenolic content in phellem cells (black arrow); (C) Phellem (Pl), phelloderm (Pd), cortex (Cx) and phelloderm cells stratificated (*) and phenolic content in phellem cells (white arrows). Bars = 100 μ m (A, B and C).

Cortex comprised parenchyma rectangular cells that sclerified, forming groups of sclereids and dilated through tangential expansion and anticlinal division (Fig. 8B). Some sclereids were seen with phenolic compounds (Fig. 8B).

Secondary phloem is composed of nonconducting and conducting phloem (Fig. 8A). The demarcation between nonconducting and conducting phloem was marked by collapsed sieve-tube elements (Fig. 8A).

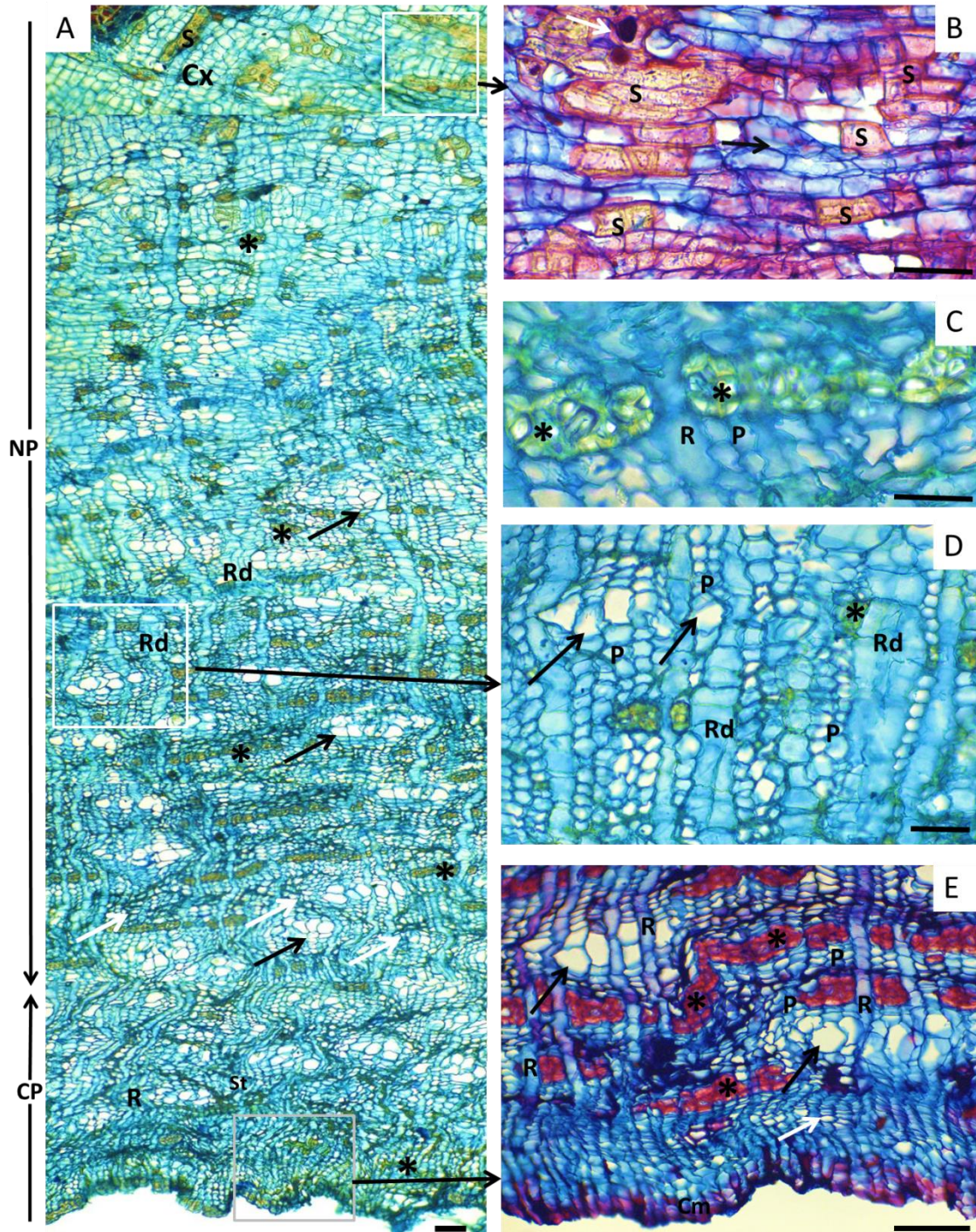


Fig. 8. Transverse sections of *Stryphnodendron rotundifolium* (Mart.) inner bark (A) Secondary phloem is composed of nonconducting (NP) and conducting phloem (CP), collapsed sieve-tube (white arrow), expanded parenchyma cells, usually in groups of 2-8 cells (black arrow), fibers

in discontinuous tangential bands (*), undulated rays (R), dilated undulated rays (Rd), cortex (Cx), clusters of sclereids (S); demarcated zones in detail: (B) clusters of sclereids (S), sclereid with phenolic compounds (white arrow), parenchyma cells expanded (black arrow); (C) gelatinous fibers (*); (D) dilated undulated rays (Rd), axial parenchyma (P), parenchyma cells expanded (black arrow) and fibers (*); (E) sieve-tube (white arrow), undulated ray (R), axial parenchyma in tangential bands of 2-6 cells (P), cambium (cm), parenchyma cells expanded (black arrow) e gelatinous fibers (*). Bars: A = 100 μm , D e E = 50 μm ; B e C = 25 μm .

Sieve-tubes are distributed in radial rows in conducting and nonconducting phloem (Fig. 9A) with reticulate pattern and plates strongly inclined (Fig. 9B, Fig. 9E and Fig. 9F). Two or more companion cells lying along the sieve-tube were observed (Fig. 9A). Companion cells are fusiform and two or more per strand are associated with sieve-tubes. The diameter and length of sieve-tube elements were 21.8 and 348.1 μm respectively (Table 1).

In conducting phloem, near to cambium, axial parenchyma cells is distributed in broad bands in more or less 2–6 cells (Fig. 8E). Axial parenchyma cells form the ground tissue (Fig. 8A) and have two to ten cells per parenchyma strand (Fig. 9A, Fig. 8D and Fig. 8E). Prismatic crystals were presented in chambered axial parenchyma cells (Fig. 9C and Fig. 9D).

Rays are non-storied with an undulated course on the transverse section (Fig. 8A) composed of procumbent cells (Fig. 9B). In the non-conducting phloem, rays slightly dilated in a wedge shape by anticlinal divisions and cell expansion (Fig. 8A, Fig. 8D). Phenolic compounds were verified in ray cells (Fig. 9B). Ray cells showed themselves predominantly uniseriated (Fig. 9C) with around 9.0 cells in height (Table 1). The height was 165.2 μm and the thickness was 18.2 μm (Table 1).

Fibers presented themselves gelatinous in discontinuous tangential bands in secondary phloem (Fig. 8C and Fig. 8E). The diameter and length of fibers, lumen diameter and wall thickness are shown in Table 1.

3.2.2. Histochemistry

Results of histochemical tests are showed in Table 2 and Fig. 10. Phenolic compounds were presented in all tissues from the *S. rotundifolium* bark (Fig. 10A, Fig. 10B, Fig. 10C, Fig. 10D and Fig. 10E), mainly in rhytidome (Fig. 10A), in which was observed in phellem and phelloderm cells (Fig. 10A and Fig. 10B). In conducting phloem phenolic compounds were presented in radial parenchyma and mainly in axial parenchyma (Fig. 10C and Fig. 10D). In nonconducting phloem were presented in axial parenchyma cells expanded (Fig. 10E). Lignin

was observed in fibers in secondary phloem (Fig. 10H and Fig. 10I), sclereids, and phellem and phelloderm cells suberized (Fig. 10F and Fig. 10G). Starch grains were noted in conducting and nonconducting phloem, (Fig. 10M), cellulose in all tissues (Fig. 10L), and suberin in walls phellem cells. The occurrence of calcium oxalate was also detected (Table 2).

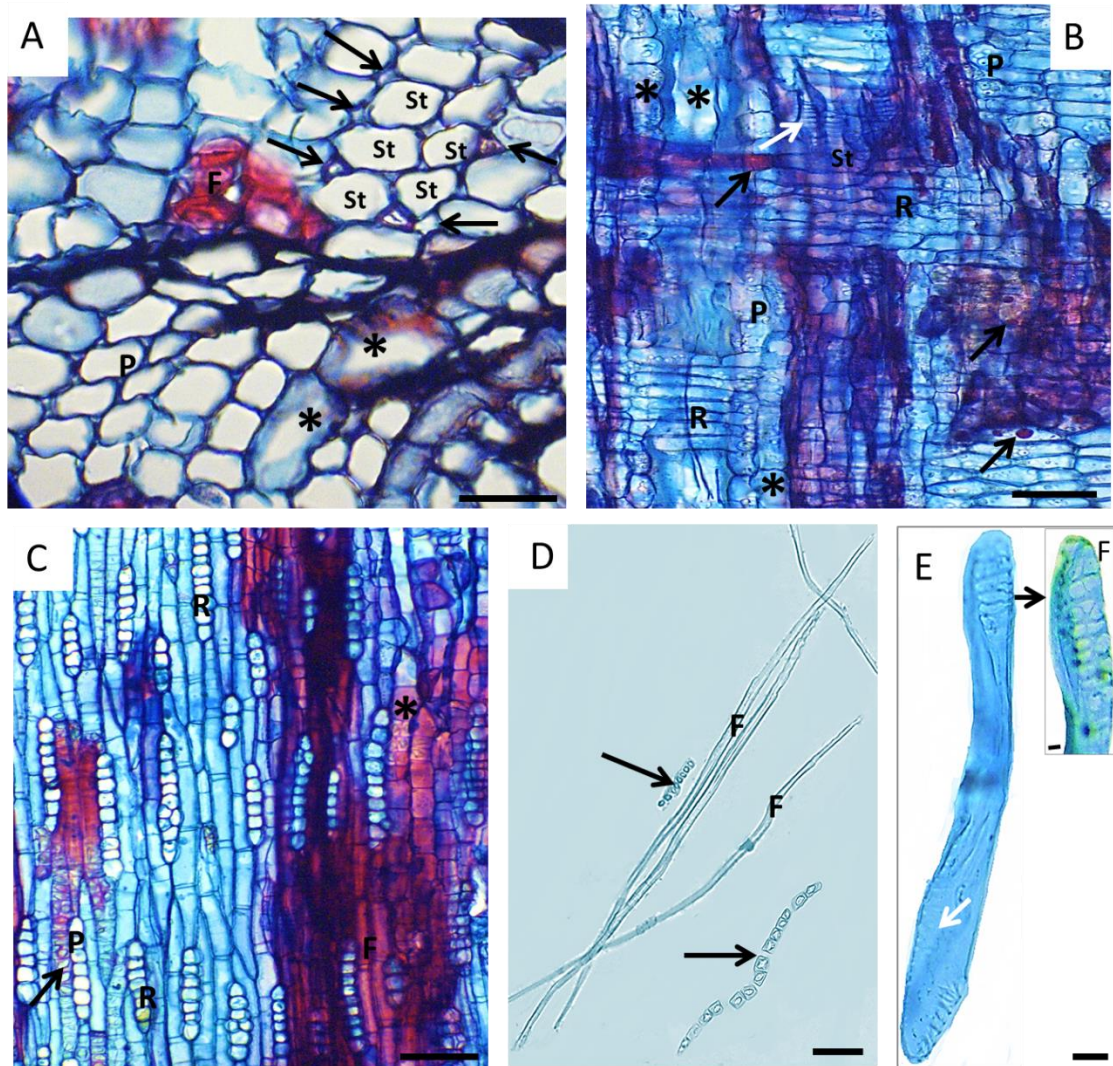


Fig. 9. Conducting phloem of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart bark (A) Transverse section evidencing sieve-tube (St), companion cells (arrows), fibers (F), and axial parenchyma cells expanded (*); (B) radial longitudinal section showing sieve-tube (white arrow), procumbents ray cells (R), axial parenchyma (p) and parenchyma cells expanded (*) and some ray cells with content (black arrow); (C) tangential longitudinal section showing rays (R), parenchyma cells expanded (*) and crystals in axial parenchyma cells (black arrow); (D) Dissociated elements, fibers (F), crystals in axial parenchyma cells (black arrow); (E) Sieve-tube element with lateral sieve plates (white arrow); (F) detail of compound sieve-tube with a reticulate pattern (black arrow). Bars: A, D and E = 50 μ m; B e C = 25 μ m.

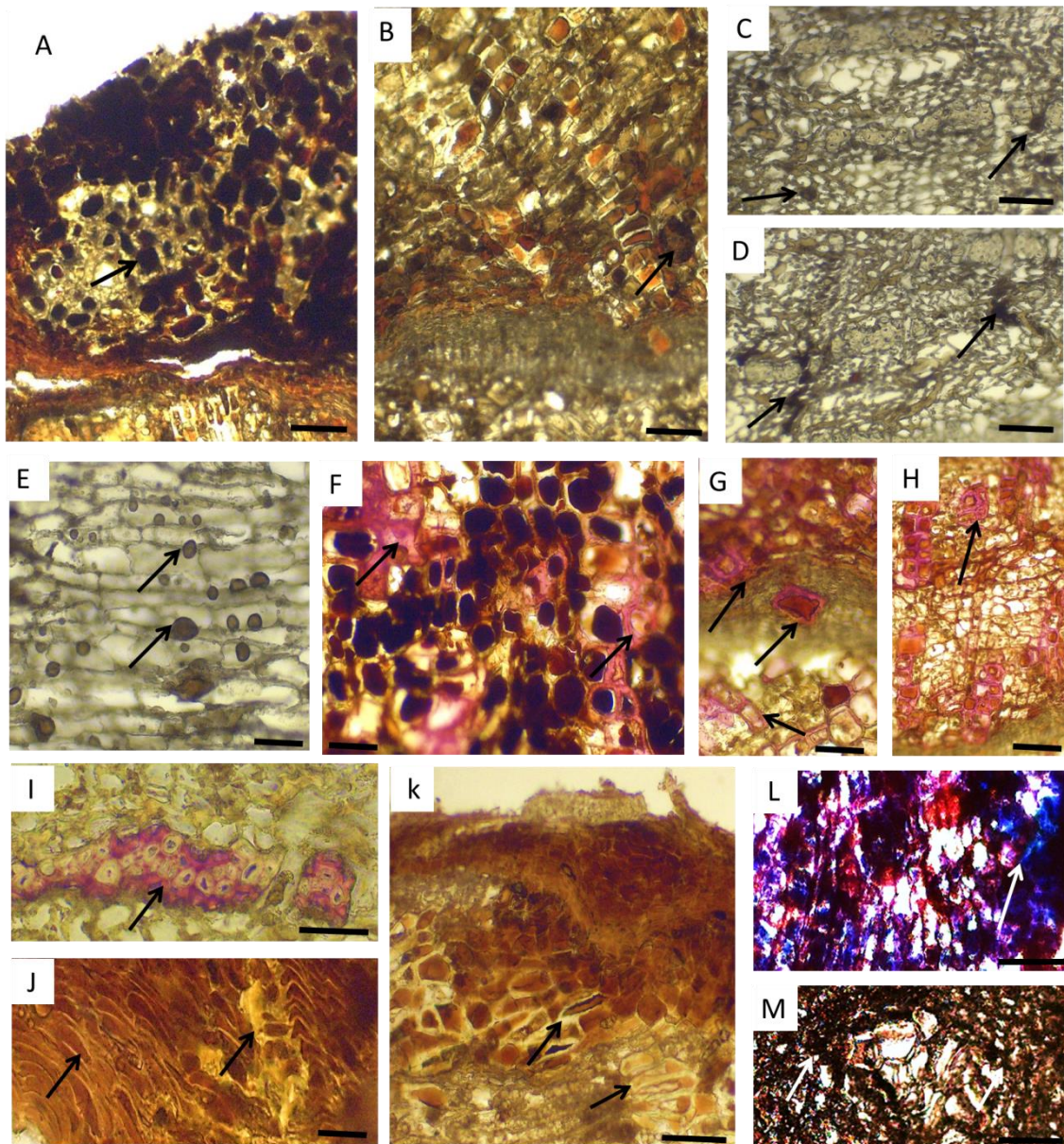


Fig. 10. Transverse sections of the *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. bark submitted to histochemical tests. (A-E) Ferric chloride, black color indicates the presence of phenolic compounds; (A-B) Secondary phloem, phellem cells with phenolic content (arrows); (C,E) Nonconducting phloem, axial parenchyma cells with phenolic content (arrows); (D) Conducting phloem, rays cells with phenolic content (arrows); (F-I) Phloroglucinol-HCl, red staining indicates the presence of lignin; (F) phellem cells with lignin (arrows); (G-H) lignin in sclereids (arrows); (I) Lignin in fibers (arrows); (J-K) Sudan IV, orange color indicates the presence of suberin in phellem cells (arrow); (L) Lugol-H₂SO₄ 70%, blue staining indicates the presence of cellulose, fibers (F); (M) Lugol, dark blue staining indicates the presence of amido, (arrows). Bars: A-H and L = 50 μ m; I-K = 25; M = 100 μ m.

3.2.3. Summative Chemical Composition

Table 3 summarizes the chemical composition of *S. rotundifolium* barks. Total extractives content was very high, 50.19%, from which around 92.7% correspond to polar extractives (46.51% of chemical composition of bark). The lignin represented 28.20% and holocellulose 19.72%. The content in ash was 1.89%.

4. Discussion

Rhytidome irregularly scaly with some fissures was observed in both species and can be explained due to frequently anastomosing periderm layers, forming a reticulate pattern that results in small scales (Roth, 1981). *M. urundeuva* presented scales more evident and thick than *S. rotundifolium*. Outer bark was more thick in *M. urundeuva*, however, both species bark can be considered representative in relation to tree diameter. According to histochemistry test, phenolic compounds were seen in abundance in outer bark and in greater amount than in the inner bark. In *M. urundeuva* bark was noted great amount of phenolic content in axial parenchyma cells mainly in dead phloem, while in *S. rotundifolium* phenolic content was observed predominantly in outermost periderm especially in phellem cells. In both species polar extractives were very high, and can be correlated mainly to phenolic content. Extractives amount from *M. urundeuva* was similar to others Brazilian species, as *A. peregrina* and *A. colubrina*, 28.8 and 29.3% respectively (Mota et al., 2017), *Copaifera langsdorffii*, 21.3%, (Carmo et al., 2016b), and *Goupia glabra*, 24.6% (Carmo et al., 2016a). *S. rotundifolium* presented extractive amount much higher than species before cited as well as in bark of species of major commercial interest species, as *Acacia mangium*, 30.5% (Amini et al., 2017), *Pinus pinaster*, 16.6% (Fradinho et al., 2002), and *Eucalyptus urophylla* clones, 17.1 and 14.9% (Sartori et al., 2018).

M. urundeuva bark presented the main feature common in barks from Anacardiaceae family, occurrence of secretory ducts with formation of parenchyma sheath (Gibson, 1981; Joel and Fahn, 1980). These secretory ducts showed themselves quite abundant and irregular, dispersed in secondary phloem and dead phloem as well as in *Loxopterygium sagotii* bark from the same family (Roth, 1981). Parenchyma sheath was aliform as reported by the same author for *Astronium lecointei* bark. Secretory ducts in Anacardiaceae is commonly related as resin canal, and is related to secretion of lipophilic substances (Aguilar-Ortigoza and Sosa, 2004; Joel and Fahn, 1980).

Dilation phenomena was observed in *S. rotundifolium* from anticlinal cell division and cell expansion in the rays and the axial parenchyma located in nonconducting phloem. In *M. urundeuva* this features occurred after innermost periderm. Dilatation is a process in which bark increases in circumference to follow to the secondary growth of the xylem (Evert, 2006; Trockenbrodt, 1990).

In general, crystals are related to inorganic material present in barks (Jensen et al., 1963). Calcium oxalate was found in both species. Baptista et al. (2013) associated these crystals to the rigidity of bark, probably substituting sclereids in this role. Lignin, phenolic substance that confers rigidity to the cell wall (Kollmann; Côté Júnior, 1968), was seen in fibers, sclereids and fiber-sclereids in *M. urundeuva* and *S. rotundifolium* in similar amount. Starch grains found in nonconducting phloem in these species emphasizes that the phloem maintains its functions of mobilization and storage, evidencing the inconsistency in naming this tissue as nonfunctional (Angyalossy et al., 2016). The occurrence of holocellulose was present in all tissues for the both species, however, in smaller amounts than in *Eucalyptus* hybrids, around 50% (Sartori et al., 2016). In *M. urundeuva* bark the amount of holocellulose was almost two times higher than that in *S. rotundifolium* bark. Detailed study of the composition of these polysaccharides are necessary in order to infer about the possibility of use in biorefinery or even as reinforcing material in composites.

5. Conclusions

Anatomy of barks from *Myracrodruon urundeuva* and *Stryphnodendron rotundifolium* were described for the first time. These species presented rhytidome frequently anastomosing periderm layers, forming a reticulate pattern. In *M. urundeuva* was also observed dead phloem included between periderms.

Both barks presented more phenolic content in outer bark than inner bark, in which stands out the potential of the sustainable use of these species. For this, it is indicated the accomplishment of studies directed to the elaboration of management plan that aim at the sustainable exploitation of these barks. Thus, this sustainable exploration will contribute to an economic and environmental valuation of Cerrado.

Acknowledgments

The authors acknowledge the support of Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior – CAPES, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais –

FAPEMIG, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq and Bahia Ambiental Consultoria Ltda.

References

- Aguilar-Ortigozal, C.J., Sosa, V., 2004. The evolution of toxic phenolic compounds in a group of Anacardiaceae genera. *Taxon* 53, 357–364.
- Amini, M.H.M., Rasat, M.S.M., Mohamed, M., Wahab, R., Ramle, N.H., Khalid, I., Yunus, A.A.M., 2017. Chemical composition of small diameter wild *Acacia mangium* species. *ARPN J. Eng. Appl. Sci.* 12, 2698–2702.
- Angyalossy, V., Pace, M.R., Evert, R.F., Marcati, C.R., Oskolski, A.A., Terrazas, T., Kotina, E., Lens, F., Mazzoni, S.C., Angeles, G., MacHado, S.R., Crivellaro, A., Rao, K.S., Junikka, L., Nikolaeva, N., Baas, P., 2016. IAWA List of Microscopic Bark Features. *IAWA J.* 37, 517–615. <https://doi.org/10.1163/22941932-20160151>
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.* 99, 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>
- Baptista, I., Miranda, I., Quilhó, T., Gominho, J., Pereira, H., 2013. Characterisation and fractioning of *Tectona grandis* bark in view of its valorisation as a biorefinery raw-material. *Ind. Crops Prod.* 50, 166–175. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.004>
- Calou, I., Bandeira, M.A., Aguiar-Galvão, W., Cerqueira, G., Siqueira, R., Neves, K.R., Brito, G.A., Viana, G., 2014. Neuroprotective properties of a standardized extract from *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira-Do-Sertão), as evaluated by a Parkinson's disease model in rats. *Parkinsons. Dis.* 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/519615>
- Carlini, E.A., Duarte-Almeida, J.M., Tabach, R., 2013. Assessment of the toxicity of the Brazilian pepper trees *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira-da-praia) and *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Aroeira-do-sertão). *Phyther. Res.* 27, 692–698. <https://doi.org/10.1002/ptr.4767>
- Carmo, J.F., Miranda, I., Quilhó, T., Carvalho, A.M., Carmo, F.H.D.J., Latorraca, J.V.F., Pereira, H., 2016a. Bark characterisation of the Brazilian hardwood *Goupia glabra* in terms of its valorisation. *BioResources* 11, 4794–4807. <https://doi.org/10.15376/biores.11.2.4794-4807>
- Carmo, J.F., Miranda, I., Quilhó, T., Sousa, V.B., Cardoso, S., Carvalho, A.M., Carmo, F.H.D.J., Latorraca, J.V.F., Pereira, H., 2016b. *Copaifera langsdorffii* Bark as a Source of

- Chemicals: Structural and Chemical Characterization. *J. Wood Chem. Technol.* 36, 305–317. <https://doi.org/10.1080/02773813.2016.1140208>
- Chamberlain, C.J., 1932. *Methods in plant histology*, fifth ed. University of Chicago Press, Chicago.
- Evert, R. F., 2006. *Esau's plant anatomy: meristems, cells and tissues of the plant body-their structure, function and development*, third ed. J. Wiley, New York.
- Ferreira, J.P.A., Miranda, I., Gominho, J., Pereira, H., 2015. Selective fractioning of *Pseudotsuga menziesii* bark and chemical characterization in view of an integrated valorization. *Ind. Crops Prod.* 74, 998–1007. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.065>
- Flora do Brasil 2020 (In construction). 'Rio de Janeiro Botanical Garden' Available at <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=FB83739> [Verified August 2018].
- Foelkel, C., 2004. Casca da árvore do eucalipto : Aspectos morfológicos , fisiológicos , florestais , ecológicos e industriais , visando a produção de celulose e papel [WWW Document]. Eucalyptus Line B. Newsl. URL www.celso-foelkel.com.br
- Fradinho, D.M., Neto, C.P., Evtuguin, D., Jorge, F.C., Irle, M.A., Gil, M.H., Pedrosa de Jesus, J., 2002. Chemical characterisation of bark and of alkaline bark extracts from maritime pine grown in Portugal. *Ind. Crops Prod.* 16, 23–32. [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(02\)00004-3](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(02)00004-3)
- Franklin, G.L., 1945. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resins composites, and a new macerating method for wood. *Nature* 155, 51. doi:10.1038/155051a0
- Furuno, T., 1990. Bark structure of deciduous broad-leaved trees grown in the San'in region, Japan. *Iawa* 11, 239–254.
- Galvão, W.R.A., Braz Filho, R., Canuto, K.M., Ribeiro, P.R.V., Campos, A.R., Moreira, A.C.O.M., Silva, S.O., Mesquita Filho, F.A., Santos, S.A.A.R., Melo Junior, J.M.A., Gonçalves, N.G.G., Fonseca, S.G.C., Bandeira, M.A.M., 2018. Gastroprotective and anti-inflammatory activities integrated to chemical composition of *Myracrodruon urundeuva* Allemão - A conservationist proposal for the species. *J. Ethnopharmacol.* 222, 177–189. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.04.024>
- Gibson, A.C., 1981. Vegetative anatomy of *Pachycormus* (Anacardiaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 83, 273–284.
- Jansone, Z., Muizniece, I., Blumberga, D., 2017. Analysis of wood bark use opportunities.

- Energy Procedia 128, 268–274. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.09.070>
- Jensen, W., Fremer, K.E., Sierilä, P., Wartiowaara, V., 1963. The chemistry of bark, in: Browning, B. L. (Ed.), The chemistry of wood. Interscience, Berlin. pp. 587-666.
- Joel, D., Fahn, A., 1980. Ultrastructure of the resin ducts of *Mangifera indica* L.(Anacardiaceae). 2. Resin secretion in the primary stem ducts. *Ann. Bot.* 46, 779–783.
- Johansen, D.A., 1940. Plant microtechnique, McGraw Hill, New York.
- Kollmann, F.F.P.; Côté Junior, W. A., 1968. Principles of wood science and technology: solid wood, Springer-Verlag, Berlin.
- Kraus, J.E., Arduin, M., 1997. Manual básico de métodos em morfologia vegetal, Seropédica, Rio de Janeiro.
- Lewin, M., Goldsteins, I. S., 1991. Wood structure and composition, M. Dekke, New York.
- Lin, D., Xiao, M., Zhao, J., Li, Z., Xing, B., Li, X., Kong, M., Li, L., Zhang, Q., Liu, Y., Chen, H., Qin, W., Wu, H., Chen, S., 2016. An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes. *Molecules* 21. <https://doi.org/10.3390/molecules21101374>
- Martinelli, G., Moraes, M.A., 2013. Livro vermelho da flora do Brasil, first ed. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Mota, G.S., Sartori, C.J., Miranda, I., Quilhó, T., Mori, F.A., Pereira, H., 2017. Bark anatomy, chemical composition and ethanol-water extract composition of *Anadenanthera peregrina* and *Anadenanthera colubrina*. *PLoS One* 12, 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189263>
- Oliveira, D.R., Brito-Junior, F.E., Bento, E.B., Matias, E.F.F., Sousa, A.C.A., Costa, J.G.M., Coutinho, H.D.M., Kerntopf, M.R., Menezes, I.R.A., 2011. Antibacterial and modulatory effect of *Stryphnodendron rotundifolium*. *Pharm. Biol.* 49, 1265–1270. <https://doi.org/10.3109/13880209.2011.589857>
- Oliveira, D.R., Ferreira Júnior, W.S., Bitu, V. de C.N., Pinheiro, P.G., Menezes, C.D.A., de Brito Junior, F.E., de Albuquerque, U.P., Kerntopf, M.R., Coutinho, H.D.M., Fachineto, R., Menezes, I.R.A., 2014. Ethnopharmacological study of *Stryphnodendron rotundifolium* in two communities in the semi-arid region of northeastern Brazil. *Brazilian J. Pharmacogn.* 24, 124–132. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2014.03.003>
- Quilhó, T., Pereira, H., Richter, H. G. Variability of bark structure inplantation-grown *Eucalyptus globulus* Labill. *IAWA J.* 1999; 20: 171–180.
- Quilhó T., Pereira, H., Richter, H.G. Within-tree variation in phloem cell dimensions and proportions in *Eucalyptus globulus*. *IAWA J.* 2000; 21: 31–40.

- Raven, P. H., Evert, R. E., Eichhorn, S. E. *Biologia Vegetal*. eighth ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Roth, I., 1981 *Structural patterns of tropical barks: Handb*, Borntraeger, Berlin.
- Sartori, C., Da Silva Mota, G., Ferreira, J., Miranda, I., Mori, F.A., Pereira, H., 2016. Chemical characterization of the bark of *Eucalyptus urophylla* hybrids in view of their valorization in biorefineries. *Holzforschung* 70, 819–828. <https://doi.org/10.1515/hf-2015-0258>
- Sartori, C.J., Mota, G.S., Miranda, I., Mori, F.A., Pereira, H., 2018. Tannin extraction and characterization of polar extracts from the barks of two *Eucalyptus urophylla* Hybrids. *Bioresources* 13, 4820–4831.
- Sass, J.E., 1951. *Botanical microtechnique*, second ed. Iowa State College Press: Ames.
- Şen, A., Miranda, I., Santos, S., Graça, J., Pereira, H., 2010. The chemical composition of cork and phloem in the rhytidome of *Quercus cerris* bark. *Ind. Crops Prod.* 31, 417–422. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.01.002>
- Souza, S.M.C., Aquino, L.C.M., Milach Jr, A.C., Bandeira, M.A.M., Nobre, M.E.P., Viana, G.S.B., 2007. Antiinflammatory and Antiulcer Properties of Tannins from *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) in Rodents. *Phyther. Res.* 21, 220–225. <https://doi.org/10.1002/ptr>
- Trochenbrodt, M., 1990. Survey and discussion of the terminology used in bark anatomy. *IAWA Bull.* 11, 141–166.
- Vandesmet, V.C.S., Felipe, C.F.B., Kerntopf, M.R., Rolón, M., Vega, C., Coronel, C., Barbosa, A.G.R., Coutinho, H.D.M., Menezes, I.R.A., 2017. The use of herbs against neglected diseases: Evaluation of in vitro leishmanicidal and trypanocidal activity of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. *Saudi J. Biol. Sci.* 24, 1136–1141. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.03.001>
- Vergílio, P.C.B., Marcati, C.R., 2017. Adaptive and diagnostic significance of the bark of *Stryphnodendron polyphyllum* (Leguminosae) from the Cerrado. *Aust. J. Bot.* 65, 157–171. <https://doi.org/10.1071/BT16212>
- Viana, G.S.B., Bandeira, M. a M., Matos, F.J. a, 2003. Analgesic and antiinflammatory effects of chalcones isolated from *Myracrodruon urundeuva* allemão. *Phytomedicine* 10, 189–95. <https://doi.org/10.1078/094471103321659924>
- Viana, G.S.B., Bandeira, M.A.M., Moura, L.C., Souza-Filho, M.V.P., Matos, F.J.A., Ribeiro, R.A., 1997. Analgesic and Antiinflammatory Effects of the Tannin Fraction from *Myracrodruon urundeuva* Fr. *All. Phyther. Res.* 11, 118–122. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199703\)11:2<118::AID-PTR38>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199703)11:2<118::AID-PTR38>3.0.CO;2-J)

Vieira, L.M., Castro, C.F.S., Dias, A.L.B., Silva, A.R., 2014. Conhecimento e uso de plantas medicinais em uma comunidade rural no município de Cuitegi , Paraíba , Nordeste do Brasil. *Gaia Sci.* 8, 248–265. <https://doi.org/10.1590/1983-084X/13>

ARTIGO 2 – Characterization of tannins from Brazilian forest species and its use in clarification water

Artigo a ser submetido ao periódico Bioresource Technology (versão preliminar).

ABSTRACT

The objective of this work was to characterize the tannins from *Stryphnodendron rotundifolium* and *Myracrodruon urundeuva* barks, and to evaluate its performance in water clarification. Stiasny index and condensed tannins content were determined. Two types of cationization were performed, one following Mannich reaction and another one was an attempt to cationize without the use of formaldehyde. For *M. urundeuva* tannins the Stiasny index was 66.7%, whereas for *S. rotundifolium* tannins was 95.1%. The yield of condensed tannins was 11.1% for *M. urundeuva* bark, and 25.2% for *S. rotundifolium* bark. FTIR analysis indicated that both cationization processes occurred. Cationized tannins with dimethyl carbonate had low turbidity removal efficiency, however, can be tested as a secondary coagulant agent. Tannin-derived coagulants produced by Mannich reaction presented satisfactory results for use clarification water. *S. rotundifolium* tannin-derived coagulants needed less time to remove turbidity, this fact was linked to its higher Stiasny index.

1. Introduction

Water is a primordial element in animal and plant life, being directly related to the health and living conditions of a community. Due to the high level of urbanization in recent decades combined with climate change and the development of the industrial and agricultural sectors, drinking water treatment has become a major challenge. Large volumes of water involved, area restrictions for the installation of treatment systems traditionally used, and also due to the degradation of the water quality of the available water sources are significant obstacles (Mierzwa et al., 2008; Rodriguez et al., 2009).

Among the methods used in water treatment, coagulation and flocculation (CF) is one of the most practiced because of its low cost, simplicity and reliability. The function of the coagulant in CF is to destabilize colloidal particles suspended in the water, causing the formation of flocs of sufficient density to sediment due to gravity (Oladoja, 2015). The most common coagulating agents used are inorganic salts, such as $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ and FeCl_3 , or synthetic

polymers (Beltrán-Heredia et al., 2011). Despite the wide applicability, these coagulants present some drawbacks, such as large volume of sludge produced, alteration of the pH of the treated water, ecotoxicological impacts, and posed risks to human health (Ndabigengesere et al., 1995; Vijayaraghavan et al., 2011).

In this way, developing environmentally friendly coagulants is a relevant issue. The use of plant extracts can be an interesting alternative as they are biodegradable, non-toxic and non-corrosive (Sciban et al., 2009). One of the plant components that stands out for this purpose are the tannins. Tannins are chemical compounds of phenolic nature that can act as a coagulant promoting efficient removal of cationic pollutants due to the high presence of hydroxyls in their structure (Bronco et al., 2006). When cationized, they can act in the destabilization of colloids in the drinking water treatment (Beltrán-Heredia et al., 2011; Sánchez-Martín et al., 2009).

Cationization of tannins consists in a chemical reaction that confers cationic character to the organic tannin matrix, so the main characteristics (such as solubility, stability at different pH levels or heavy metals chelating activity) are kept while other ones are added. Thus, it is expected that in systems with colloidal particles, the tannins neutralize the charges and form "bridges" species between these particles, creating the flocs. A wide variety of anionic substances can be destabilized and subsequently removed with these kinds of coagulants (Beltrán-Heredia et al., 2011; Graham et al., 2008).

One of the best-known methods for cationization of tannins is from the Mannich reaction. This method use formaldehyde, a carcinogenic substance of petroleum origin. Thus, the development of more "green" processes is also necessary. In this context, the use of dimethyl carbonate may be an interesting alternative since it is a reagent that has no impact on the environment and human health. Its use with tannins has already been carried out to obtain polyurethane according to Thebault et al. (2015).

Species of the genus *Acacia* of the Fabaceae family are among the most studied ones for this application (Beltrán-Heredia and Sánchez-Martín, 2009a, 2009b), nevertheless, species of the Anacardiaceae family have also gained prominence (Jesus Beltrán-Heredia et al., 2011). Popularly known as barbatimão, *Stryphnodendron sp.* belongs to the family Fabaceae, being appreciated for its pharmaceutical properties (Oliveira et al., 2014; Rodrigues et al., 2008), as well as their yield in condensed tannins, which may exceed 30% of the chemical composition of the bark of the trees (Mori et al., 2003). *Myracrodruon urundeuva* (aroeira), from Anacardiaceae family, it is also used for medicinal purposes due to the occurrence of tannins, which have healing properties, antimicrobial, antioxidant, among others (Lucena et al., 2011).

Although Brazilian species show great potential for tannin production, its use is focused marjoritarily on the medicinal area. Tannins from *M. urundeuva* and *S. rotundifolium* are studied here for the first time, with a comprehensive analysis of their purity, yield of condensed tannins, cationization, characterization, as well as the evaluation of these tannins as a coagulant agent. Therefore, the objective of this work was to characterize the tannins from both species, and to evaluate its performance in water clarification.

2. Material and Methods

2.1. Sampling and preparation of material

Myracrodruon urundeuva barks were collected in the municipality of Parnaguá, Piauí, Brazil (10°13'39" S, 44°38'21" W) with climate of type Aw according to Köppen. *Stryphnodendron rotundifolium* barks were collected in the municipality of Lavras, Minas Gerais, Brazil (21°14'43" S, 44°59'59" W) with climate of type Cwa according to Köppen. Both were obtained from native forest. Afterwards, they were dried in ambient temperature for a period of two weeks and milled in a Retsch SK hammer mill to obtain a finer and more uniform material. Milled barks passed through a set of sieves with apertures of 0,002 m and 0,0018 m, and was used for extraction the material that was retained in the 0,0018 m sieve.

2.2. Extraction of tannins

The extractions were carried out in two ways. One, for determination of Stiasny Index and condensed tannins content, and other to obtain powder tannins for cationization.

The extractions for determination of Stiasny Index and condensed tannins content were carried out in a water bath at 70 °C and in a period of 3 hours. It was used 100 g of dry bark and 1500 ml of water (liquor / bark ratio 15:1). When the extraction was completed, the material was filtered by using a fine cloth strainer, the retained part was discarded. The obtained extract was then sieved in a 200 mesh sieve, and filtered using a vacuum pump and glass crucible lined with glass wool of porosity 1. The filtrate was concentrated by evaporation to the volume of 150 ml in a heating plate.

The extractions to obtain powder tannins were made in similar way. However, after filtration using a vacuum pump the liquid was taken to a drying oven at 45 ± 3 °C to obtain the dry material. Then this material was macerated with the use of mortar and pistil.

2.3. Determination of Stiasny index and condensed tannins content

The Stiasny index was obtained according to Guangcheng et al. (1991) with modifications. From the liquid concentrated, 0.2 kg samples were taken and 10 mL of distilled water, 4 mL of formaldehyde (37%, m / m) and 2 mL of 10 N HCl were added. This mixture was heated for 35 minutes under reflux. Under these conditions, the tannins form insoluble complexes which can be separated by simple filtration. The extract was filtered through a sintered glass crucible of porosity 2 and placed in the drying oven at a temperature of 103 ± 2 °C until the constant mass. The Stiasny index was calculated by following the equation:

$$\text{Stiasny index} = \frac{(\text{dry mass of precipitate tannin} - \text{formaldehyde})}{(\text{dry mass of solids in 20 g of extract})} \times 100$$

Condensed tannins content was obtained by multiplying Stiasny index by the total solids yield. All measurements were made in triplicate.

2.4. Cationization

Two types of cationization were performed in both species. One following Mannich reaction and another one was an attempt to cationize without the use of formaldehyde.

The cationization was made based on the Mannich reaction reported by Konrath and Fava (2006) was done in three steps:

- 5.4 g of ammonium chloride and 24.4 g of formaldehyde were placed in a volumetric flask. The mixture was heated at 80 °C for a period of 2h. To verify the effectiveness of the reaction between formaldehyde and ammonium chloride, a visual evaluation was performed by the appearance of light yellow to colorless.
- The product obtained in the first step of the Mannich reaction was mixed with 28.0 g of an aqueous tannin solution (50%) for 30 minutes at 60 °C.
- After the second stage the post-reaction stage was carried out, which consisted of adding 0.2 g of monoethanolamine and allowed to react for 3 h at a temperature of 50 °C.

An attempt to cationize the tannins without the use of formaldehyde was made from the use of dimethyl carbonate. The method used was according to Thebault et al. (2015) with modifications. Reactions were conducted at room temperature. 21.0 g of dimethyl carbonate

were added to 10.0 g of powdered tannin extracts. The mixture was run under mechanical agitation for two hours. The second step consisted of adding 7.0 g of ammonium chloride to the mixture for 45 minutes.

2.5. FTIR analysis

FTIR analysis was done both to characterize the tannins as to confirm the cationization. The analysis was carried out using a Shimadzu IRAffinity-1 spectrophotometer. Samples were oven dried at 60 °C for three hours. A blank sample tablet of KBr was prepared for the reference spectrum. A similar tablet was prepared by KBr with 5% w/w of the sample powder to analyze. Each spectrum was obtained with 32 scans with the resolution of 4 cm⁻¹ from 4000 to 400 cm⁻¹.

2.6. Coagulation assays

The water samples were collected in the reservoir lake used to collect water from the Federal University of Lavras (UFLA). Tannins of *Myracrodruon urundeuva* and *Stryphnodendron rotundifolium* cationized with and without formaldehyde were evaluated as coagulant agent, and for comparison, the ferric chloride was also evaluated.

Jar-test was selected as the standard treatment in order to study flocculant process. 1.8 L of turbidity-known from collect water and 0.1 L of coagulant solution (200 mg.L⁻¹, determined in pre-tests) were put into a beaker. Two stirring periods were applied: one at 130 rpm for 2 min and another one at 35 rpm for 20 min. 1 h after Jar-test was finished, sample was collected from the center of the beaker to evaluate turbidity and pH. Jar-test procedure was also carried out without coagulant agent.

3. Results and Discussion

3.1. Stiasny index and condensed tannins content

The Stiasny index is a parameter that allows to evaluate the purity of the tannic extracts. The lower the Stiasny Index, the lower the purity of the tannic extract, indicating that there are compounds, such as sugars and gums, that depending on their concentration may make the use of tannins impracticable. For *Myracrodruon urundeuva* tannins the Stiasny index was 66.7%, whereas for *Stryphnodendron rotundifolium* tannins the index was 95.1%. The Stiasny Index

of *Stryphnodendron rotundifolium* tannins was superior to that of tannins of *Acacia* species extracted in hot water, such as *A. mangium*, 83.5% (Hendrik et al., 2016) and *A. mahogany*, 79.7 % (Lestari et al., 2015). Although the Stiasny Index of *Myracrodruon urundeuva* has been smaller, there are no studies that relate this property to its use in water treatment. This stands out the relevance of this work.

The yield of condensed tannins was 11.1 g of 100 g *M. urundeuva* bark or 11.1%, and 25.2 g of 100g *Stryphnodendron rotundifolium* bark (25.2%). For similar extraction conditions, Sartori et al. (2018) found condensed tannin yield of less than 3% for *Eucalyptus* clones. Compared with commercially exploited species, the yield of *M. urundeuva* condensed tannins was near to that of *A. mangium* tannins, which presented 15.4% (Hoong et al., 2009), while *Stryphnodendron rotundifolium* was superior.

3.2. FTIR Analysis

The functional groups of *M. urundeuva* and *S. rotundifolium* tannins extracted in hot water were analyzed by FTIR. The spectrum are presented in Fig. 1 and the assignments in Table 1. The band referring to O-H stretch vibration in phenolic and aliphatic structures were identified at 3446 cm^{-1} and 3432 cm^{-1} for *M. urundeuva* and *S. rotundifolium* tannins respectively. Small peaks around 2935 cm^{-1} were noted in both species. Small peaks in this region originate from C-H stretch vibration in aromatic methoxyl groups and in methyl and methylene groups of side chains (Chupin et al., 2013; Faris et al., 2016; Soto et al., 2005). A weak signal at 1750 cm^{-1} can be assigned to carbonyl groups. For some authors this region is associated with the C=O of esters, flavonols or to the oxidation of some O-H groups of the flavanol molecules (Konai et al., 2017; Ping et al., 2012); Falcão and Araújo (2014) specify that this region is related to the carboxylic acid C=O of the galloyl unit on the epicatechin gallate. In this study, *S. rotundifolium* tannins presented this peak at 1830 cm^{-1} , the same displacement was reported in *Vitis vinifera* tannins by (Ping et al., 2012). The peaks 1610, 1516, 1442 cm^{-1} are mainly occupied by vibrational motions of C=C groups in the aromatic rings (Socrates 2000). In this study peaks 1521 and 1450 cm^{-1} from *M. urundeuva* tannins and 1516 and 1448 cm^{-1} from *S. rotundifolium* tannins shows evidence of the presence of condensed tannins (Ntenga et al., 2017). Peaks between 1450 and 1205 cm^{-1} are considered as the most significant for the description of ring substituent. 1450 cm^{-1} and 1448 cm^{-1} is particularly resulting from the combination of C-H aromatic bending, C-O stretching and C-OH deformation (Konai et al., 2017). Two peaks were observed only in *M. urundeuva* tannins, 1338

cm^{-1} assigned to saturated C-H in plane bending vibration according to Ping et al. (2012), and 1286 cm^{-1} , corresponding to C-O stretch of the pyran derived part of flavonoid based tannins. Peak 1240 cm^{-1} was only found in *S. rotundifolium* tannins, and represents stretching of C-O carboxyl group which stands for gallic acid or some carbohydrates residues (Konai et al., 2017). The region between 1350 and 1100 cm^{-1} is dominated by C-O stretching vibrations, between 1300 and 1200 cm^{-1} show the vibrations of the B-ring, while the region between 1200 and 1100 cm^{-1} show the vibrations of the A-ring (Tondi and Petutschnigg, 2015). According to Socrates (2000) and Konai et al. (2017) peaks to $1034 - 1216 \text{ cm}^{-1}$ of *M. urundeuva* tannins and $1038 - 1205 \text{ cm}^{-1}$ *S. rotundifolium* tannins can be attributed to the presence of catechin and proanthocyanidins. Peaks belonging to $900 - 740 \text{ cm}^{-1}$ region are O-H wagging of aromatic alcohols and out of plane bending of aromatic C-H (Socrates, 2000).

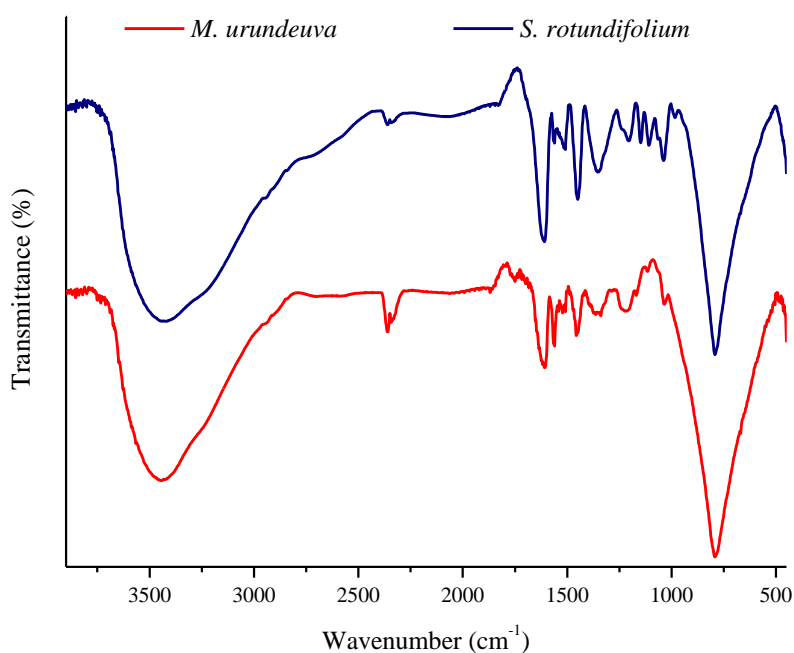


Fig.1. FTIR spectrum of *M. urundeuva* and *S. rotundifolium* tannins extracted in hot water.

Fig. 2 show FTIR spectrum of both species of tannin-derived products for the reaction using dimethyl carbonate and ammonium chloride, and in Fig. 3 for the Mannich reaction.

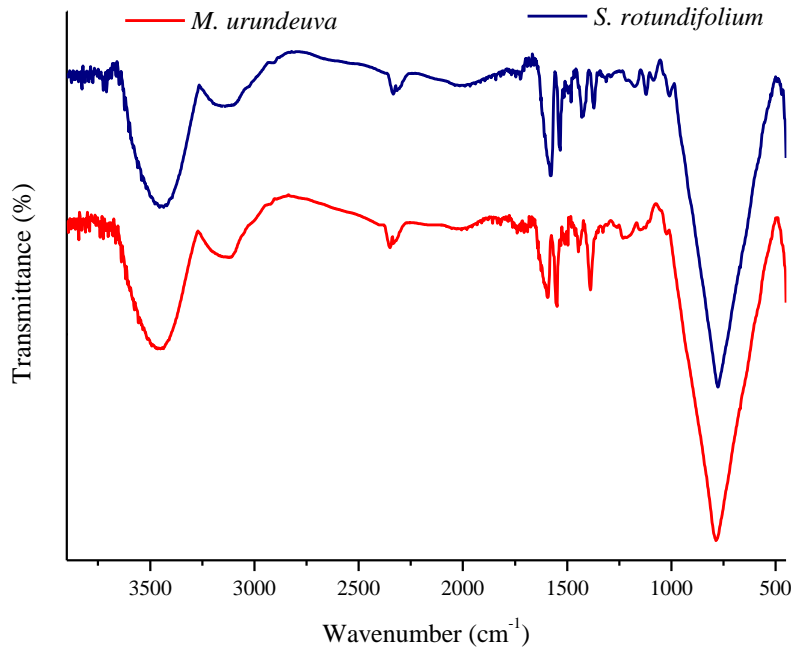


Fig.2. FTIR spectrum of *M. urundeuva* and *S. rotundifolium* tannins-derived products for the reaction using dimethyl carbonate and ammonium chloride.

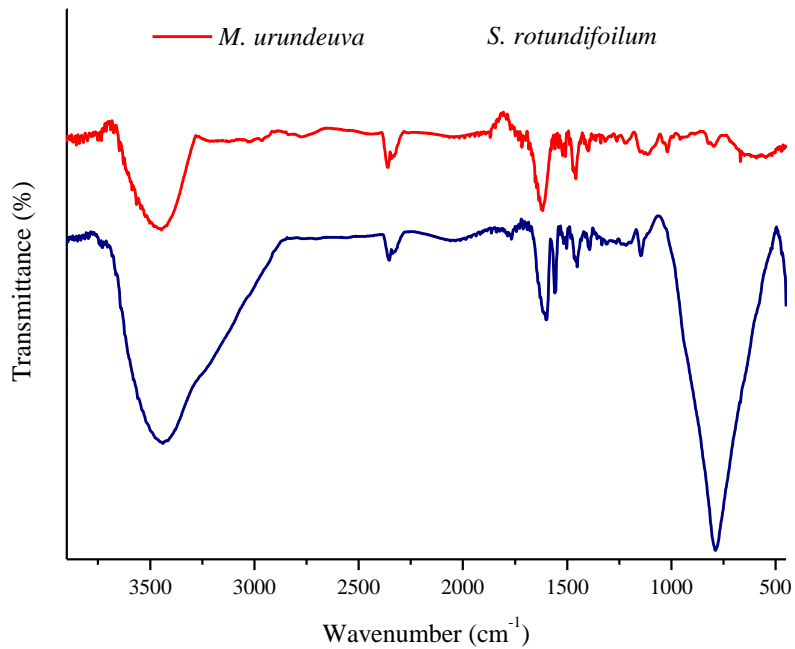


Fig.3. FTIR spectrum of *M. urundeuva* and *S. rotundifolium* tannins-derived products for the Mannich reaction.

Table 1. Summary of FTIR spectra of *M. urundeuva* and *S. rotundifolium* tannins extracted in hot water.

Peak (cm ⁻¹)		Assignment
<i>M. urundeuva</i>	<i>S. rotundifolium</i>	
3446	3432	O-H stretching vibration
2941	2933	C-H stretch vibration in aromatic methoxyl groups and in methyl and methylene groups of side chains
1749	1830	C=O stretching vibration of esters or flavonols
1607	1610	Vibrational motions of C=C groups in the aromatic rings
1560	1560	Vibrational motions of C=C groups in the aromatic rings
1521	1516	Vibrational motions of C=C groups in the aromatic rings
1450	1448	Vibrational motions of C=C groups in the aromatic rings, C-H aromatic bending, C-O stretching and C-OH deformation
1362	1352	C-H deformations region and ring substituent
1338	-	Saturated C-H in plane bending vibration
1286	-	C-O stretch of the pyran derived part of flavonoid based tannins
-	1240	stretching of C-O carboxyl group which stands for gallic acid or some carbohydrates residues
1216	1205	C-O stretching vibrations or epicatechin and proanthocyanidins
1168	1147	C-O stretching vibrations or epicatechin and proanthocyanidins
1113	1108	Aromatic C-H in plane bending vibration and the C-O stretching for the OH substitution of pyran ring epicatechin
1034	1038	C-O stretching vibrations or epicatechin and proanthocyanidins
-	982	Aromatic C-H out of plane bending vibration
795	795	C-H out of plane bending of the B ring of flavonoids vibrations

In Fig. 2, it was observed a shouldering located at 3128 cm^{-1} for *M. urundeuva* and *S. rotundifolium* tannins. These peaks can be attributed to stretching of primary amides that indicates that N-H bonds were formed (Silverstein et al., 1981). Peaks at 1727 cm^{-1} in *M. urundeuva* and 1720 cm^{-1} in *S. rotundifolium* tannins are assigned to stretching vibration band of the C=O double bond of amides corresponding an ester polyol (Pellizzi et al., 2014; Thébault et al., 2015). 1546 cm^{-1} in *M. urundeuva* and 1532 cm^{-1} in *S. rotundifolium* evidence the band of in-plane deformation (bending) of the group NH_2 (Pellizzi et al., 2014; Thébault et al., 2015; Wilhelm and Gardette, 1997).

In Fig. 3, peaks around 1720 cm^{-1} in both species was noted. However, the band corresponding to the group NH_2 showed to be more developed in *S. rotundifolium* tannins than in *M. urundeuva* tannins. In the cationization process it was observed that *S. rotundifolium* tannins reacted rapidly with the mixture of formaldehyde and ammonium chloride and formed an insoluble complex, whereas the product of the reaction with *M. urundeuva* tannins remained liquid. This fact can be explained by the difference of Stiasny index from the species. It is known that the higher the index, the greater the reaction capacity of tannins with formaldehyde.

3.3. Coagulation assays

Turbidity and pH were evaluated before assays with coagulant agents. Thus, initial conditions presented 202 NTU of turbidity and 7.87 of pH.

Fig. 4 shows turbidity removal percentages that have been carried out by using different coagulants agents. It was possible to observe that the cationized tannins with dimethyl carbonate had low turbidity removal efficiency and could be compared to the treatment with no coagulant agent. The bond between the dimethyl carbonate and the tannin molecule is made from the carbonation of tannins hydroxyl groups (Thébault et al., 2015). Thus, despite of the FTIR analysis to show that cationization occurred, it is likely that the molecule underwent hydrolysis and the cationic group may have reacted with the tannin itself.

Both cationized tannins based on the Mannich reaction presented performance comparable to ferric chloride. The way this new coagulant agents forms coagules and flocs suggests it follows a bridging procedure (Beltrán-Heredia et al., 2010). Cationized tannins based on the Mannich reaction presented performance similar to ferric chloride, where the turbidity removal was around 96% for all. The results were satisfactory and can be compared to commercial tannin-derived from *Acacia mearnsii*, produced by TANAC (Sánchez-Martín et al., 2009).

In relation to Stiasny index, although of *M. urundeuva* had been lower than that of *S. rotundifolium*, this factor did not prevent its use for this function. However, it was observed during the water clarification process that the tannins of *S. rotundifolium* reacted faster, forming larger flocs and presenting a lower decantation time even when compared to ferric chloride. This result can be confirmed by FTIR analysis in which the band corresponding to the cationic group was less evident in *M. urundeuva* tannins.

Fig. 5 shows pH of water after the use of different coagulants agents. All the tests in which tannin-based products were used did not change the pH of the water, while ferric chloride reduced the pH. This performance in the drinking water treatment is interesting, since it dispenses the use of reagent pH controllers and consequently reduces the cost with chemicals, and also contributes to the quality of the sludge formed, ie it contains less reagents chemical.

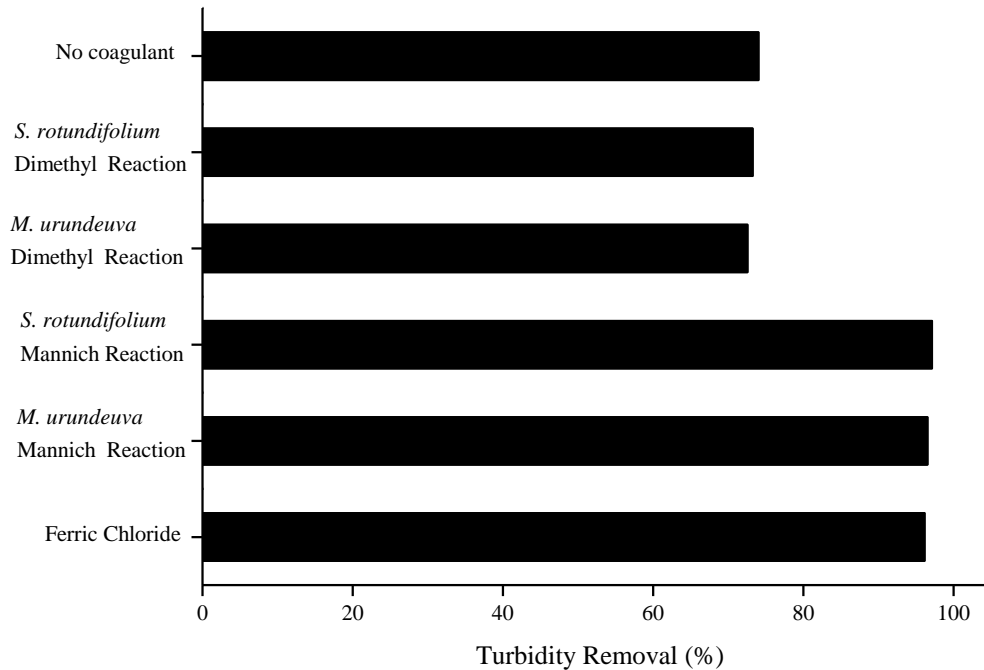


Fig.4. Turbidity removal using different coagulants agents.

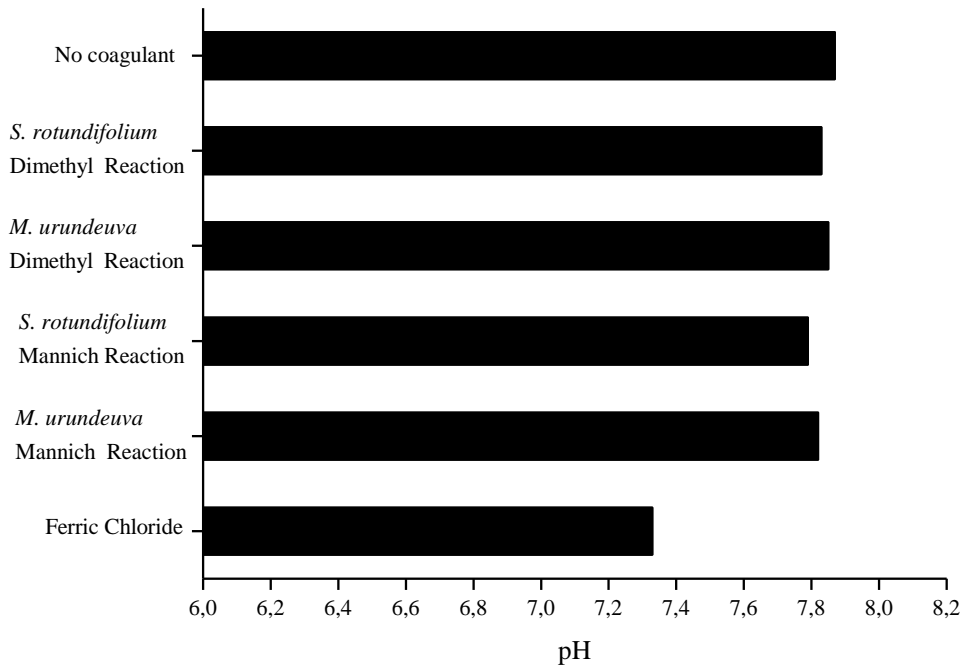


Fig.5. pH of water after the use of different coagulants agents.

4. Conclusions

Tannins from *M. urundeuva* and *S. rotundifolium* barks showed distinct characteristics in which *S. rotundifolium* showed a higher condensed tannins content and Stiasny index. This was the first time tannins of these species were used in water clarification. Cationization using dimethyl carbonate and ammonium chloride presented low turbidity removal when compared to the others, however, studies are indicated to evaluate its potential as a secondary coagulant agent. Tannin-derived coagulants produced by Mannich reaction presented satisfactory results for use water clarification. *S. rotundifolium* tannin-derived coagulants needed less time to remove turbidity, this fact was linked to its higher Stiasny index. The pH of the water had no significant change in any of the tests that used the products based on the tannins.

The extraction of tannin will represent an important valorization of these bark and, therefore, will contribute to the treatment of water for human consumption and the sustainability of *M. urundeuva* and *S. rotundifolium*.

Acknowledgments

The authors acknowledge the support of Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior – CAPES, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq and Bahia Ambiental Consultoria Ltda. The authors would also like to thank the Central of Analysis and Chemical Prospecting of the Federal University of Lavras for support for experiments involving infrared analyzes.

References

- Beltrán-Heredia, J., Sánchez-Martín, J., 2009a. Municipal wastewater treatment by modified tannin flocculant agent. *Desalination* 249, 353–358. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2009.01.039>
- Beltrán-Heredia, J., Sánchez-Martín, J., 2009b. Removing heavy metals from polluted surface water with a tannin-based flocculant agent 165, 1215–1218. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.09.104>
- Beltrán-Heredia, J., Sánchez-Martín, J., Dávila-Acedo, M.A., 2011. Optimization of the synthesis of a new coagulant from a tannin extract. *J. Hazard. Mater.* 186, 1704–1712. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.12.075>
- Beltrán-Heredia, J., Sánchez-Martín, J., Gómez-Muñoz, M.C., 2010. New coagulant agents from tannin extracts: Preliminary optimisation studies. *Chem. Eng. J.* 162, 1019–1025. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.07.011>
- Beltrán-Heredia, J., Sánchez-Martín, J., Jiménez-Giles, M., 2011. Tannin-based coagulants in the depuration of textile wastewater effluents: Elimination of anthraquinonic dyes. *Water. Air. Soil Pollut.* 222, 53–64. <https://doi.org/10.1007/s11270-011-0803-z>
- Bronco, S., Cappelli, C., Monti, S, 2006. Characterization of supramolecular polyphenol-chromium(III) clusters by molecular dynamics simulations. *J Phys Chem B.* 110, 13227-13234.
- Chupin, L., Motillon, C., Charrier-El Bouhtoury, F., Pizzi, A., Charrier, B., 2013. Characterisation of maritime pine (*Pinus pinaster*) bark tannins extracted under different conditions by spectroscopic methods, FTIR and HPLC. *Ind. Crops Prod.* 49, 897–903. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.06.045>
- Falcão, L., Araújo, M.E.M., 2014. Vibrational Spectroscopy Application of ATR – FTIR spectroscopy to the analysis of tannins in historic leathers : The case study of the

- upholstery from the 19th century Portuguese Royal Train. *Vib. Spectrosc.* 74, 98–103. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2014.08.001>
- Faris, A.H., Ibrahim, M.N.M., Rahim, A.A., 2016. Preparation and characterization of green adhesives using modified tannin and hyperbranched poly (amine-ester). *Int. J. Adhes. Adhes.* 71, 39–47. <https://doi.org/10.1016/j.ijadhadh.2016.08.009>
- Graham, N., Gang, F., Fowler, G., Watts, M., 2008. Characterisation and coagulation performance of a tannin-based cationic polymer: A preliminary assessment. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 327, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2008.05.045>
- Guangcheng, Z., Yunlu, L., Yazaki, Y., 1991. Extractives yields, Stiasny values and polyflavanoid contents in barks from six *Acacia* species in Australian. *Australian Forestry, Queen Victoria.* 3, 3154-156.
- Hendrik, J., Hadi, Y.S., Massijaya, M.Y., Santoso, A., 2016. Properties of laminated composite panels made from fast-growing species glued with mangium tannin adhesive. *BioResources* 11, 5949–5960. <https://doi.org/10.15376/biores.11.3.5949-5960>
- Hoong, Y.B., Paridah, M.T., Luqman, C.A., Koh, M.P., Loh, Y.F., 2009. Fortification of sulfited tannin from the bark of *Acacia mangium* with phenol-formaldehyde for use as plywood adhesive. *Ind. Crops Prod.* 30, 416–421. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.07.012>
- Konai, N., Raidandi, D., Pizzi, A., Meva'a, L., 2017. Characterization of *Ficus sycomorus* tannin using ATR-FT MIR, MALDI-TOF MS and ¹³C NMR methods. *Eur. J. Wood Wood Prod.* 75, 807–815. <https://doi.org/10.1007/s00107-017-1177-8>
- Konrath, R.A., Fava, F.J., 2006. Processo de preparação de um agente flocculante à base de extrato vegetal. BR n. PI 0500471-3 A.
- Lestari, A.S.R.D., Hadi, Y.S., Hermawan, D., Santoso, A., 2015. Glulam Properties of Fast-growing Species Using Mahogany Tannin Adhesive. *BioResources* 10, 7419–7433. <https://doi.org/10.15376/biores.10.4.7419-7433>
- Lucena, R.F.P. de, Farias, D.C. de, Carvalho, T.K.N., Lucena, C.M. de, Neto, C.F.A. de V., De, U.P., Albuquerque, 2011. Uso e conhecimento da aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) por comunidades tradicionais no Semiárido brasileiro. *Sitientibus série Ciências Biológicas* 11, 255–264.
- Mierzwa, J.C., da Silva, M.C.C., Rodrigues, L.D.B., Hespanhol, I., 2008. Tratamento de água para abastecimento público por ultrafiltração: avaliação comparativa através dos custos diretos de implantação e operação com os sistemas convencional e convencional com

- carvão ativado. Engenharia Sanitária e Ambiental. 13, 78-87.
- Mori, F.A., Mori, C.L.S. de O., Mendes, L.M., Silva, J.R.M. da, Melo, V.M. de, 2003. Influência do sulfito e hidróxido de sódio na quantificação em taninos da casca de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*). Floresta e Ambient. 10, 86–92.
- Ndabigengesere, A., Narasiah, K.S., Talbot, B.G, 1995. Active agents and mechanism of coagulation of turbid waters using *Moringa oleifera*. Water Research. 29, 703–710.
- Ntenga, R., Pagore, F.D., Pizzi, A., Mfoumou, E., Ohandja, L.-M.A., 2017. Characterization of Tannin-Based Resins from the Barks of *Ficus platyphylland* and of *Vitellaria paradoxa*: Composites' Performances and Applications. Mater. Sci. Appl. 08, 899–917. <https://doi.org/10.4236/msa.2017.812066>
- Oladoja, N.A., 2015. Headway on natural polymeric coagulants in water and wastewater treatment operations. J. Water Process Eng. 6, 174–192. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2015.04.004>
- Oliveira, D.R., Ferreira Júnior, W.S., Bitu, V. de C.N., Pinheiro, P.G., Menezes, C.D.A., de Brito Junior, F.E., de Albuquerque, U.P., Kerntopf, M.R., Coutinho, H.D.M., Fachinetto, R., Menezes, I.R.A., 2014. Ethnopharmacological study of *Stryphnodendron rotundifolium* in two communities in the semi-arid region of northeastern Brazil. Brazilian J. Pharmacogn. 24, 124–132. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2014.03.003>
- Pellizzi, E., Lattuati-Derieux, A., Lavédrine, B., Cheradame, H., 2014. Degradation of polyurethane ester foam artifacts: Chemical properties, mechanical properties and comparison between accelerated and natural degradation. Polym. Degrad. Stab. 107, 255–261. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2013.12.018>
- Ping, L., Pizzi, A., Guo, Z.D., Brosse, N., 2012. Condensed tannins from grape pomace: Characterization by FTIR and MALDI TOF and production of environment friendly wood adhesive. Ind. Crops Prod. 40, 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.02.039>
- Rodrigues, F.F.G., Cabral, B. do S., Coutinho, H.D.M., Cardoso, A.L.H., Campos, A.R., Da Costa, J.G.M., 2008. Antiulcer and antimicrobial activities of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. Pharmacogn. Mag. 4, 193–196.
- Rodriguez, C., Buynder, P.V., Lugg, R., Blair, P., Devine, B., Cook, A., Weinsteins, P, 2009. Indirect Potable Reuse: A Sustainable Water Supply Alternative. Int. J. Environ. Res. Public Health. 6, 1174-1209.
- Sánchez-Martín, J., González-Velasco, M., Beltrán-Heredia, J., 2009. *Acacia mearnsii* de Wild Tannin-Based Flocculant in Surface Water Treatment. J. Wood Chem. Technol. 29, 119–135.

- Sartori, C.J., Mota, G.S., Miranda, I., Mori, F.A., Pereira, H., 2018. Tannin extraction and characterization of polar extracts from the barks of two *Eucalyptus urophylla* Hybrids. *Bioresources* 13, 4820–4831.
- Sciban, M., 2009. Removal of water turbidity by natural coagulants obtained from chestnut and acorn. *Bioresour Technol.* 100 6639–6643.
- Silverstein, R. M. et al. 1981. *Spectrometric identification of organic compounds*. New York: J. Wiley.
- Socrates, G. 2000. *Infrared and Raman characteristic group frequencies: tables and charts*/George Socrates. 3 rd edn. Wiley, Chichester, New York.
- Soto, R., Freer, J., Baeza, J., 2005. Evidence of chemical reactions between di- and polyglycidyl ether resins and tannins isolated from *Pinus radiata* D. Don bark. *Bioresour. Technol.* 96, 95–101. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.05.006>
- Thébault, M., Pizzi, A., Essawy, H.A., Barhoum, A., Van Assche, G., 2015. Isocyanate free condensed tannin-based polyurethanes. *Eur. Polym. J.* 67, 513–526. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2014.10.022>
- Tondi, G., Petutschnigg, A., 2015. Middle infrared (ATR FT-MIR) characterization of industrial tannin extracts. *Ind. Crops Prod.* 65, 422–428. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.11.005>
- Vijayaraghavan, G., Sivakumar, T., Kumar, V., 2011. Application of Plant Based Coagulants for Waste Water Treatment. *Int. J. Adv. Eng. Res. Stud.* 1, 88–92. <https://doi.org/E-ISSN2249-8974>
- Wilhelm, C., Gardette, J.L., 1997. Infrared analysis of the photochemical behaviour of segmented polyurethanes: 1. Aliphatic poly(ester-urethane). *Polymer (Guildf)*. 38, 4019–4031. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(96\)00984-6](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(96)00984-6)