

GERALDO BATISTA LONDE

SISBI/UFU



1000218908

**ANÁLISE QUÍMICA DA *Cecropia adenopus*
(EMBAÚBA)**

Dissertação apresentada ao programa
de pós-graduação em Química da Univer-
sidade Federal de Uberlândia como requisi-
to parcial para a obtenção do título de mes-
tre em Química Orgânica.

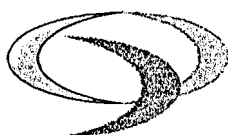
Orientador:
Prof. Dr. SÉRGIO ANTÔNIO LEMOS DE MORAIS

Co-orientador:
Prof. Dr. MANUEL HERNÁNDEZ TERRONES

UBERLÂNDIA-MG

Abril de 2004

MOV
54
L2470
TES/EM



Programa de Pós Graduação em Química- MESTRADO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Química
e-mail: cpqquimica@ufu.br
Fone: 3239-4385 – Fax: 3239-4208

ALUNO: GERALDO BATISTA LONDE

NÚMERO DE MATRÍCULA: 5021442-7

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: QUÍMICA ORGÂNICA

PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA: NÍVEL MESTRADO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:

**“ANÁLISE QUÍMICA DA CECROPIA
ADENOPUS (EMBAÚBA)”**

ORIENTADOR: PROF. DR. SÉRGIO ANTÔNIO LEMOS DE MORAIS

A Dissertação foi APROVADA em apresentação pública realizada no Anfiteatro do Bloco X do Campus Santa Mônica em 20 de abril de 2004 às 10:00 horas, tendo como Banca Examinadora:

NOME:

ASSINATURA:

Prof. Dr. Sérgio Antônio Lemos de Moraes (IQ/UFU)
(Universidade Federal de Uberlândia)

Prof. Dr. Manuel Hernandez Terrones (IQ/UFU)
(Universidade Federal de Uberlândia)

Prof. Dr. João Máximo de Siqueira (UFMS)
(Universidade Federal do Mato Grosso do Sul)

Uberlândia, 20 de abril de 2004.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço a Deus, pela oportunidade, o que muitos chamariam de "coincidência"; de poder ter convivido com estas pessoas, e tê-las como; Amigas e colaboradoras. Faço uma citação ordenada, para não ser injusto, com o grau de importância a que todas merecem.

Dedico e agradeço a:

- * **ADRIANA L. DE CASTRO**..... Colaboradora e amiga.....
Pela colaboração, no desenvolvimento das análises.
- * **GRASIELLE S. DE OLIVEIRA** Colaboradora e amiga.....
Pela colaboração no desenvolvimento, organização e execução das análises, orientações científicas nas mesmas e referências bibliográficas.
- * **ISABEL MALUF**..... Secretária e amiga.....
Pela grande ajuda, e por demonstrar, que não é proporcional ao cargo que se ocupa, a importância que se pode ter, em um trabalho.
- * **JOÃO B. LONDE**..... Irmão e amigo.....
Pelo incentivo, apoio, e colaboração nas referências literárias e citações biológicas.
- * **LUIZ ALBERTO**..... Amigo.....
O grande incentivador, amigo e colaborador.
- * **PROF.^a Dr.^a DORILA P. VELOSO**..... Colaboradora
Pela colaboração, com as análises de RMN de ¹H e RMN de ¹³C.
- * **PROF. Dr. EVANDRO A. NASCIMENTO** Colaborador e amigo.....
Pelas: informações, consultas, aulas de conhecimento científico, análises instrumentais e interpretação das mesmas; e acima de tudo, pelas lições de vida.
- * **PROF. Dr. MANUEL G. H. TERRONES** Co-orientador e amigo.....
Pelas aulas, orientações, e colaboração na confecção deste trabalho.
- * **PROF. Dr. SÉRGIO A. L. DE MORAIS.** Orientador e amigo.....
Pelas informações, consultas, aulas de conhecimento científico e colaboração, na confecção deste trabalho.

- * **RISSIERI G. PISTORI.....** Colaborador.....
Pela colaboração, no desenvolvimento das análises de alelopatia.

- * **PROF. MSc. ROBERTO CHANG.....** Colaborador.....
Pela ajuda, e colaboração nas análises instrumentais, e interpretação das mesmas.

- * **SERGINA B. LONDE.....** Esposa e amiga.....
Pelo incentivo, apoio, carinho e colaboração na confecção dos textos.

- * **TONY DE P. PAULINO.....** Amigo.....
Pela ajuda, e colaboração nas referencias literárias, interpretações, na parte tecnológica e companheirismo.

- * **WESLEY e LEANDRO B. LONDE....** Filhos e amigos.....
Que apesar de jovens, sabem da importância deste trabalho, e souberam perdoar a minha ausência em suas vidas, em momentos da execução do mesmo.

- * **WILLIAN GIGO.....** Amigo.....
Pela ajuda e colaboração nas aulas, nos trabalhos, e pelo companheirismo.

... E aos demais professores e amigos; o meu muito obrigado, pela colaboração.

RESUMO

Cecropia adenopus (embaúba), é uma planta da família *cecropiaceae* (*moraceae*), popularmente conhecida como embaúba, característica de margens de florestas ou de áreas em reflorestamento. Possui rápido desenvolvimento e é abundante em todo território brasileiro. Esta planta é bastante usada na medicina popular no tratamento dos diabetes, sendo útil também contra a tosse e bronquite. Aumenta a energia do músculo cardíaco sem multiplicar os batimentos do coração. O suco obtido da raiz é um poderoso diurético.

Neste estudo foram analisados os principais componentes macromoleculares da madeira, a composição dos principais constituintes voláteis e o poder alelopático da embaúba, cultivada na região de Uberaba-MG.

A composição da química da madeira foi: 59,20% de α -celulose, 4,50% de hemicelulose-A, 8,20% de hemicelulose-B, 25,10% de lignina, 3,86% de extrativos e 0,30% de cinzas. O conteúdo de celulose foi relativamente elevado, indicando que esta madeira possui grande potencial para produção de pasta de celulose. A Lignina de Madeira Moída (LMM) foi isolada e analisada por meio de Infravermelho com Transformada de Fourier (IVTF), Ressonância Magnética Nuclear de Próton e de Carbono-13 (RMN de ^1H e ^{13}C) e por métodos químicos de análises por via úmida. A LMM apresentou uma fórmula mínima igual a $\text{C}_9\text{H}_{6,86}\text{O}_2(\text{H}_2\text{O})_{1,3}(\text{OCH}_3)_{1,15}$ e massa molar média de $204,71 \text{ g mol}^{-1}$, o que é atípico pois o valor esperado para o teor de unidades de grupos metoxílicos de coníferas seria abaixo de $1,00/\text{C}_9$.

Os principais constituintes dos extratos em diclorometano identificados por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CGEM) foram na casca: oct-1-en-3-ol, *trans*-bergamoteno, geranil acetona e alcanos de cadeia longa; nas folhas: *cis*-nerolidol, farnesol, geranil acetona, farnesil acetona, heptadecanal e alcanos de cadeia longa; nas raízes: farnesol, geranil acetona, farnesil acetona e pentadecanal. Em todos estes extratos a maior percentagem foi de ácidos graxos, como o ácido palmítico.

O potencial alelopático destes extratos foi verificado por meio de bioensaios de germinação e medida do desenvolvimento da parte aérea do *P. ma-*

ximum (capim-colonião). Observou maior efeito para os extratos das raízes com incidência em 100 ppm.

Palavras-chave: Madeira, *Cecropia adenopus*, lignina, celulose, extrativos voláteis.

ABSTRACT

"*Cecropia adenopus*" is a plant of the *cecropiaceae* (*moraceae*) family, known as "embaúba" a typical tree of forests margins and areas in reforestation. It has fast development and is abundant in Brazil. This plant has been used in folk medicine such as in the diabetes treatment and coughs and bronchitis. It increases the energy of the heart muscle without multiplying the heartbeats ratio. The juice token from the root is a powerful diuretic.

In this study, the wood chemistry composition, the composition of volatile extractives and the alelopathic power of embaúba tree cultivated in region of Uberaba were analyzed.

The wood chemistry composition was: 59,20% of α -cellulose, 4,50% of hemicellulose-A, 8,20% of hemicellulose-B, 25,10% of lignin, 3,86% of extractives and 0,30% of ash. The content of the cellulose was relatively high, indicating that this wood has great potential for the production of cellulose paste. The milled wood lignin (MWL) was isolated and analyzed by Fourier Transforms Infrared Spectroscopy (FTIR), Nuclear Magnetic Resonance of Proton and of Carbon-13 (^1H and ^{13}C NMR) and by chemical methods of analysis. MWL presented a minimum formula the same as $\text{C}_9\text{H}_{6,86}\text{O}_2(\text{H}_2\text{O})_{1,3}(\text{OCH}_3)_{1,15}$ and mass molar of $204,71 \text{ g mol}^{-1}$, which is atypical because the expected value for conifer methoxyl units should be under $1,00/\text{C}_9$.

The main constituents on the dichloromethane extract identified by Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC/MS) in the bark were: oct-1-en-3-ol, *trans*-bergamotene, geranyl acetone, long chain alkanes; in the leaver: *cis*-nerolidol, farnesol, geranyl acetone, farnesyl acetone, heptadecanal, long chain alkanes; in the root: farnesol, geranyl acetone, farnesyl acetone, pentadecanal. The highest percentages on these extracts were accounted fatty acids, such as the palmitic acid.

The alelopathic potential of these extracts were verified through germination bioassays and development measurements of the aerial part of the *P.*

maximum (capim-colonião). The best effect was noticed with root extracts at 100 ppm concentration.

Keywords: wood, *Cecropia adenopus*, lignin, cellulose, volatiles extractives.

SUMÁRIO

Resumo

Capítulo 1-

1.1. OBJETIVOS.....	17
1.2. INTRODUÇÃO.....	17
1.2.1. DESCRIÇÃO DO VEGETAL.....	17
1.2.2. CARACTERÍSTICAS GERAIS.....	18
1.2.3. CARACTERÍSTICAS ECOLÓGICAS E OCORRÊNCIAS.....	22
1.2.4. USOS MEDICINAIS POPULARES.....	24
1.2.5. CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS.....	25
1.2.6. DURABILIDADE NATURAL.....	26
1.2.7. TRATAMENTO PRESERVANTE.....	26
1.2.8. PRINCIPAIS APLICAÇÕES.....	26
1.2.9. PROPRIEDADES FÍSICAS E MECÂNICAS.....	26

Capítulo 2

2. CONSTITUINTES GERAIS DAS MADEIRAS.....	29
2.1. EXTRATIVOS.....	30
2.2. CELULOSE.....	35
2.3. HEMICELULOSES.....	38
2.4. LIGNINA.....	41

Capítulo 3

3. O COMPORTAMENTO ALELOPÁTICO DE PLANTAS.....	53
3.1. DEFINIÇÃO.....	53
3.2. FUNÇÃO PROTETORA.....	54
3.3. APLICABILIDADE PARA A EMBAÚBA (<i>Cecropia adenopus</i>)....	55

Capítulo 4

4. METODOLOGIA.....	57
4.1. MOAGEM E CLASSIFICAÇÃO DA MADEIRA.....	57
4.2. ALELOPATIA.....	57
4.3. DETERMINAÇÃO DE UMIDADE.....	58

Capítulo 4

4.4. DETERMINAÇÃO DE CINZAS.....	58
4.5. PREPARAÇÃO DA MADEIRA PARA DETERMINAÇÃO DA LIGNINA KLASON, HEMICELULOSE-A, HEMICELULOSE-B, α -CELULOSE E HOLOCELULOSE.....	59
4.5.1. DETERMINAÇÃO DA LIGNINA INSOLÚVEL EM ÁCIDO (LIGNINA KLASON).....	59
4.6. DETERMINAÇÃO DE HOLOCELULOSE.....	59
4.7. DETERMINAÇÃO DE HEMICELULOSES A, B E α -CELULOSE.....	60
4.7.1. HEMICELULOSE-A.....	60
4.7.2. HEMICELULOSE-B.....	61
4.7.3. α -CELULOSE.....	61
4.8. ANÁLISES DOS EXTRATIVOS VOLÁTEIS.....	61
4.8.1. EXTRAÇÃO COM DICLOROMETANO EM APARELHO SOXHLET.....	62
4.8.2. EXTRAÇÃO COM APARELHO DE CLEVINGER.....	62
4.8.3. EXTRAÇÃO COM SOLVENTE EM CONTRACORRENTE (CLEVINGER MODIFICADO).....	62
4.8.4. ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS.....	63
4.9. ISOLAMENTO DA LMM DE EMBAÚBA	63
4.10. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA LIGNINA.....	65
4.10.1. DETERMINAÇÃO DE GRUPOS METOXILÍCOS, UNIDADES SIRINGÍLICAS, GUAIACÍLICAS E <i>P</i> -HIDROXIFENÍLICAS POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (IVTF).....	65
4.10.2. MICROANÁLISE.....	65
4.10.3. DETERMINAÇÃO DA FÓRMULA MÍNIMA.....	65
4.10.4. HIDROXILAS FENÓLICAS.....	65
4.10.5. ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (IVTF).....	66
4.10.6. ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR.....	66
4.10.7. DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS.....	67

Capítulo 5

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	69
5.1. AMOSTRAGEM DA MADEIRA.....	69

Capítulo 5

5.2. ALELOPATIA.....	69
5.3. DETERMINAÇÃO DE UMIDADE.....	74
5.4. DETERMINAÇÃO DE CINZAS.....	74
5.5. DETERMINAÇÃO DA LIGNINA INSOLÚVEL EM ÁCIDO (LIGNINA KLASON).....	74
5.6. DETERMINAÇÃO DE HOLOCELULOSE.....	75
5.7. DETERMINAÇÃO DE HEMICELULOSES E α - CELULOSE.....	75
5.8. EXTRATIVOS	75
5.9. ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS.....	76
5.10. ISOLAMENTO DA LIGNINA DE MADEIRA MOÍDA.....	90
5.11. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA LIGNINA DE EMBAÚBA... ..	91
5.11.1. DETERMINAÇÃO DE GRUPOS METOXILÍCOS, UNIDADES SIRINGÍLICAS, GUAIACÍLICAS E <i>P</i> -HIDROXIFENÍLICAS POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (IVTF).....	91
5.11.2. MICROANÁLISE.....	98
5.11.3. DETERMINAÇÃO DA FÓRMULA MÍNIMA.....	98
5.11.4. HIDROXILAS FENÓLICAS.....	99
5.11.5. ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO.....	100
5.11.6. ESPECTROSCOPIA DE RESSAONÂNCIA MAGNÉTICA NU- CLEAR.....	103
5.11.7. DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS.....	108

Capítulo 6

6. CONCLUSÕES.....	110
--------------------	-----

Capítulo 7

7. REFRÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	112
-----------------------------------	-----

ÍNDICE DE:

EQUAÇÕES, FIGURAS, GRÁFICOS, QUADROS E TABELAS

EQUAÇÕES

	Cap.	Pág.
1. Determinação de %OH fenólicas.....	4	66
2. Determinação de OH fenólicas totais/C ₉	4	66
3. Lei de Beer Lambert.....	5	92
4. Determinação do teor de OCH ₃ /C ₉ segundo Schultz e Glasser.....	5	95
5. Determinação de %OCH ₃ segundo Freudenberg.....	5	98
6. Determinação da fórmula mínima da LMM	5	99

FIGURAS

	Cap.	Pág.
1. Exemplar de embaúba, da cidade de Uberaba-MG.....	1	18
2. Detalhes do tronco, infrutescência e sementes de embaúba.....	1	20
3. Detalhes da folha, infrutescências e frutificação de embaúba.....	1	21
4. Detalhes das raízes, e cortes de um tronco, de uma embaúba.....	1	23
5. Componentes voláteis encontrados na oleoresina da <i>Capsicum annuum</i> (Páprica), <i>Abies nordmanniana</i> , e na <i>Garcinia Kola</i> Henckel	2	32
6. Ácidos resinóicos isolados do <i>Cedro ponderosa</i>	2	33
7. Monoterpenos encontrados em óleo volátil de coníferas: (1) Limoneno, (2) α-pineno e (3) β-pineno.....	2	33
8. Terpenos e suas denominações.....	2	34
9. Graxas: triglicerídeo (1), monoglicerídeo (2) e ceras (3).....	2	35
10. Exemplo de alguns fenóis encontrados em coníferas: (1) vanilina; (2) p-hidroxibenzaldeído; (3) siringaldeído; (4) secoisolariceresinol; (5) 4-metoxiestilbeno; (6) crisina e (7) taxifolina.....	2	36
11. Fórmula da D-glucose.....	2	36
12. Formação da ligação hemiacetalica na molécula de D-glucose.....	2	37
13. Formação de moléculas de celulose pela união de n unidades β-D-glucose, mostradas em três representações diferentes.....	2	38
14. Açúcares que compõem as hemiceluloses.....	2	39
15. Estrutura dos álcoois precursores de ligninas.....	2	41
16. Estrutura dos constituintes básicos da lignina.....	2	42
17. Subestruturas mostrando os tipos de ligações predominantes em ligninas.....	2	43
18. Esquema de estrutura proposta para a lignina de eucalipto (<i>Eucalyptus grandis</i> , madeira dura), segundo Moraes.....	2	44
19. Esquema de identificação dos principais tipos carbonos para a lignina.....	2	45
20. Ligações entre ligninas e polissacarídeos.....	2	46

FIGURAS

	Cap.	Pág.
21. Principais monômeros e dímeros identificados através da reação de oxidação de ligninas, com KMnO_4	2	50
22. Principais produtos identificados na reação de pirólise da LMM do <i>Eucalyptus Grandis</i>	2	51
23. Aparelhos extratores de compostos voláteis.....	4	63
24. Roteiro para extração de LMM.....	4	64
25. Sementes germinadas livres de extratos (controle ou branco).....	5	71
26. Sementes germinadas sob efeito dos extratos do tronco.....	5	71
27. Sementes germinadas sob efeito dos extratos das raízes.....	5	72
28. Sementes germinadas sob efeito dos extratos das cascas.....	5	72
29. Gráfico do comportamento alelopático dos extratos na germinação de sementes de <i>Panicum maximum</i>	5	73
30. Gráfico do comportamento alelopático dos extratos no desenvolvimento de sementes germinadas de <i>Panicum maximum</i>	5	73
31. Cromatograma do óleo essencial da casca, obtido por extração no aparelho de Clevenger.....	5	78
32. Cromatograma do óleo essencial da casca, obtido por extração com diclorometano em contracorrente (Clevenger modificado).....	5	80
33. Cromatograma do óleo essencial das folhas obtido por extração no aparelho de Clevenger.....	5	82
34. Cromatograma do extrato das raízes, obtido por extração no aparelho Soxhlet.....	5	85
35. Cromatograma do óleo essencial das raízes, obtido por extração com diclorometano em contracorrente (Clevenger modificado).....	5	86
36. Cromatograma do extrato do tronco obtido por extração com diclorometano, em aparelho Soxhlet.....	5	88
37. Fotos de aglomerados de lignina com aumento aproximado de 600 vezes.....	5	91
38. Espectros de absorção no IVTF com as linhas de base traçadas (a) e com ampliação da linha de base (b).....	5	92
39. Representação gráfica das absorvâncias relativas ($A_i/A_{1508\text{ cm}^{-1}}$) de máximos característicos do espectro no IV em função de OMe/C_9	5	93
40. Representação gráfica das absorvâncias relativas ($A_i/A_{1508\text{ cm}^{-1}}$) de máximos característicos do espectro no IV em função de OMe/C_9 e da porcentagem de unidades Siringílicas.....	5	94
41. Variação de transmitância em função da % de OMe segundo o método proposto por Faix e Schwes.....	5	95
42. ΔT de transmitância no IVTF da lignina de embaúba, segundo o método proposto por Faix e Schwes.....	5	96
43. Aplicação de diagrama ternário de fases para subunidades siringílicas, guaiacílicas e <i>p</i> -hidroxifenílicas, sugerido por Faix e Schwes.....	5	97

FIGURAS	Cap.	Pág.
44. Gráfico de volume de NaOH versus condutância.....	5	100
45. Espectro de LMM de embaúba no IVTF.....	5	102
46. Espectro de RMN de ^1H da LMM acetilada de embaúba.....	5	105
47. Espectro de RMN de ^{13}C da LMM acetilada de embaúba.....	5	107
GRÁFICOS	Cap.	Pág.
1. Gráfico do comportamento alelopático dos extratos na germinação de sementes de <i>Panicum maximum</i>	5	73
2. Gráfico do comportamento alelopático dos extratos no desenvolvimento de sementes germinadas de <i>Panicum maximum</i>	5	73
3. Gráfico de volume de NaOH versus condutância.....	5	100
QUADROS	Cap.	Pág.
1. Propriedades físicas e mecânicas da embaúba.....	1	27
2. Distribuição dos principais grupos funcionais e ligações existentes na lignina.....	2	45
TABELAS	Cap.	Pág.
1. Composição química aproximada dos constituintes das madeiras.....	2	29
2. Teores relativos das hemiceluloses em coníferas.....	2	40
3. Efeito alelopático dos extratos metanólicos de embaúba sobre o crescimento e germinação do capim-colonião.....	5	69
4. Resumo dos constituinte da madeira de embaúba.....	5	76
5. Compostos identificados por CGEM no óleo essencial da casca de embaúba extraído no aparelho de Cleavenger	5	79
6. Compostos identificados por CGEM no óleo essencial da casca de embaúba obtido por extração com diclorometano em contracorrente (Clevenger modificado).....	5	81
7. Compostos identificados por CGEM no óleo essencial das folhas obtido por extração no aparelho de Clevenger.....	5	83
8. Compostos identificados por CGEM no extrato das raízes obtido por extração no aparelho Soxhlet	5	85
9. Compostos identificados por CGEM no óleo essencial das raízes de embaúba obtido por extração com diclorometano em contracorrente (Clevenger modificado).....	5	87
10. Compostos identificados por CGEM no óleo essencial em diclorometano, obtidos por extração com Clevenger, Clevenger modificado e Soxhlet, para os extratos da embaúba.....	5	89
11. Dados espectrais no IVTF da lignina de embaúba aplicando o método sugerido por Sarkanen.....	5	94
12. Dados espectrais no IVTF da lignina de embaúba	5	95
13. % OCH_3 , calculado pelo método sugerido por Faix e Schwers.....	5	96
14. Microanálise da lignina.....	5	98

TABELAS

	Cap.	Pág.
15. Determinação da fórmula mínima da LMM.....	5	99
16. Absorções em IVTF para lignina.....	5	101
17. Bandas de absorção no espectro IVTF, para LMM da embaúba.....	5	101
18. Atribuições de RMN de ^1H , para ligninas acetiladas.....	5	103
19. Atribuições de RMN de ^{13}C , para ligninas acetiladas de coníferas.....	5	103
20. Atribuições de RMN de ^{13}C , para ligninas acetiladas de folhosas.....	5	104

ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ai	Absorvância inicial
A	Absorvância máxima
CGEM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
δ	Deslocamento químico em ppm
FMTM	Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro
FTIR	Fourier transforms infrared spectroscopy
GCMS	Gas chromatography mass spectroscopy
IV	Infravermelho
IVTF	Infravermelho com transformada de Fourier
IQUFU	Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
kg	Kilograma
LMM	Lignina de madeira moída
L	Litros
m	Massa da amostra, em mg ou Kg
MM	Massa molecular
mg	Miligrama
mL	Militros
MWL	Milled wood lignin
N	Normalidade da solução
ppm	Partes por milhão
% C	Porcentagem de carbono
% H	Porcentagem de hidrogênio
% N	Porcentagem de nitrogênio
% O	Porcentagem de oxigênio
OCH ₃ ou OMe	Grupo metoxila
PA	Reagente com grau analítico
v/v	Relação de volumes.
RMN de ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de carbono treze
RMN de ¹ H	Ressonância magnética nuclear de próton
TMS	Tetrametil silano
°C	Temperatura em graus centígrados
UV	Ultravioleta
C ₉	Unidade fenil propanóide
SE, GE	Unidades siringílicas e guaiacílicas eterificadas
S, G	Unidades siringílicas e guaiacílicas eterificadas ou não
SNE, GNE	Unidades siringílicas e guaiacílicas não eterificadas
UFMG	Universidade federal de Minas Gerais
ΔT	Variação de transmitância
V	Volume, em mL ou em L

Capítulo 1

- INTRODUÇÃO

1.1 OBJETIVOS

Quantificar e caracterizar os principais componentes da madeira de embaúba, *Cecropia adenopus*, (extrativos voláteis das cascas, raízes, folhas e do tronco, lignina, α -celulose, hemicelulose-A e hemicelulose-B). Isolar a Lignina de Madeira Moída (LMM) do tronco dessa madeira e caracterizar a sua estrutura macromolecular, por meio de Ressonância Magnética Nuclear, espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier, determinar o teor de grupos metoxilícos, fenólicos e análise elementar. Verificar ação herbicida.

1.2 INTRODUÇÃO

1.2.1 DESCRIÇÃO DO VEGETAL

Nomes Populares: embaúba, umbaúba, imbaúba, embaúva, umbaúba-do-brejo, árvore-da-preguiça, umbaubeira, pau-de-lixo, torém, umbaúba-branca, árvore-da-preguiça^{1, 2}.

Nome Científico: *Cecropia spp*

Cecropia pachystachya Trec.

Sinomínia botânica: *Cecropia adenopus* (Mart.ex Miq.)

Família: *Cecropiaceae* (moraceae)

São plantas características de solos úmidos, beira de rios, córregos, brejos e lagoas. Ocorre também em bordas e clareiras de matas, em processo de regeneração, e têm preferência pelos locais ensolarados, sendo rara sua presença no interior de matas fechadas. Florescem de setembro a outubro e frutificam de maio a junho. O desenvolvimento das plantas no campo é rápido. Os frutos são procurados pelas aves e servem de alimento a várias espécies de peixes, como o pacu, a piracanjuba e outros³.

1.2.2 CARACTERÍSTICAS GERAIS

Árvore de 5 a 10 m de altura. Tronco de 15 a 20 cm de diâmetro, tipo estipe ou colmo, cheio na base e oco na parte superior, ramificado apenas na região superior e indiviso. Folhas simples, palmatífidas (o mesmo que palmada) com haste comprida (longipeciolada), com incisões, que às vezes, atingem o pecíolo, formando de 9 a 13 segmentos; face superior áspera e a inferior com densa camada de pêlos esbranquiçados com pecíolo piloso de 10 a 55 cm de comprimento; espécie dióica com inflorescências masculinas ramificadas com segmentos organizados aos pares, mais ou menos pêndulas; as femininas, também aos pares pêndulas na frutificação com bráctea pilosa (Figura 1)⁴. Eixo da infrutescência carnosso apresentando numerosos frutos oblongos, embutidos com cerca de 2 mm de comprimento (Figuras 2 e 3).



Figura 1. Exemplar de embaúba, da cidade de Uberaba-MG.

Fonte: GERALDO B. LONDE/2003.

A embaúba é uma das plantas originárias da zona tropical, do continente americano⁵.

Em seus galhos e no caule aparecem os nós, semelhantes aos do bambu (Figura 2). Os galhos compridos crescem horizontalmente, porém, levemente inclinados para cima.

Esta planta se distribui desde o México até Argentina, mas aparece em maior quantidade na região do Equador, ou seja, na região Amazônica. Diversos cachos de flores miúdas embelezam cada galho (Figura 3). A flor possui de dois a quatro cálices; não possui pétalas. Flor masculina e flor feminina se abrem em diferentes pés, ou seja, a planta é dióica. Existem de um a quatro estames e um único pistilo que aparece na parte superior dos estames. O fruto é tipo núcula, com endosperma na semente, conforme ilustrações as seguir (Figuras 2 e 3).

Existem cerca de 100 espécies, entre elas, 61 na Colômbia. No Brasil, existe 37, Peru 29 e no Equador 38 espécies. Encontra-se também nas Índias ocidentais, onde é conhecida por “Yaluma”. E até no Japão há relatos da sua presença⁵.

Do ponto de vista da Botânica, a embaúba fazia parte da família Moraceae, mas foi temporariamente transferida para família urticaceae. Porém, o fato de ela apresentar características de natureza tanto moraceae como urticaceae, foi introduzida uma família independente a CECROPIACEAE. Pertencem a esta, seis gêneros e 200 espécies. Dois desses gêneros são encontrados na África, e um na região tropical da Ásia. Entre as espécies do gênero *Pourouma sp.*, na região Amazônica, existe aquela com fruto conhecido por ‘mapati’².

No Brasil, o nome dessa planta normalmente conhecida por embaúba ou imbaúba, origina-se do termo “ambaíba”, da língua Tupi, e significa “árvore com orifício ou árvore que não serve para construções” (Figura 4).

O nome genérico é *Cecropia*, que possui dois significados: “Kekrops”, da mitologia grega, um ser metade humano e metade cobra, que dizem ser um filho de Deus da Terra. Em grego, significa retinir; pois dizem que o galho oco tem sido utilizado para confecção de instrumentos musicais⁴.

A espécie comumente encontrada nas proximidades de São Paulo é a *Cecropia pachystachya*, na língua grega, *pachystachya* significa flor em espiga “cacho com flores” (Figura 3).



Figura 2. Detalhes do tronco, infrutescência e sementes de embaúba.

Fonte: GERALDO B. LONDE/2003.

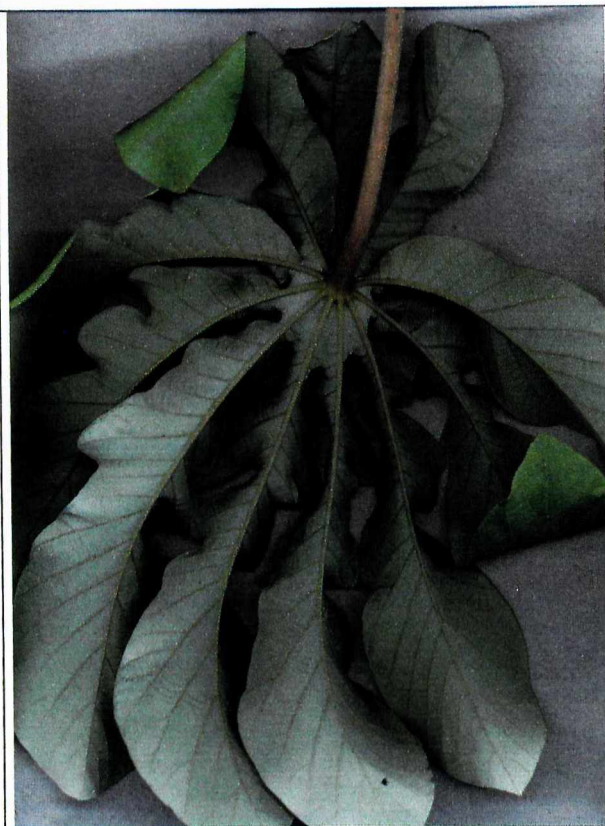


FOLHA (limbo, superfície adaxial)

Suas folhas, grandes, simples e palmadas, encontram-se aglomeradas nas extremidades dos galhos.



Infrutescência carnosa, apresentando numerosos frutos oblongos embutidos, com cerca de 2 mm de comprimento.



FOLHA (limbo, superfície abaxial)



FRUTIFICAÇÃO DA EMBAÚBA

Figura 3. Detalhes da folha, infrutescências e frutificação de embaúba.

Fonte: GERALDO B. LONDE/2003.

Existe uma outra espécie, com folhagem grande e branca, que nos chama a atenção no destaque da floresta. Esta se chama *Cecropia hololeuca* (significa toda branca).

A embaúba de nosso estudo, *Cecropia adenopus*, representada nas ilustrações anteriores, possui folhas aveludadas (Figura 3), de cor clara, porém não tão brancas, como a *Cecropia hololeuca*.

Após a germinação da semente, a folha é simples no início, que vai aos poucos se tornando palmatífida.

Atinge normalmente cerca de quinze metros de altura, e na base do tronco, surgem diversas raízes apoiantes, que a protegem do tombamento e evitam a erosão do solo.

A semente de cor amarela-castanha é miúda, com dois milímetros de comprimento. Em um quilograma de sementes, há cerca de 800.000 unidades. No Amazonas, as sementes que caem nas águas são, também, transportadas pelos peixes^{1, 6}.

O nome inglês desta planta é "Trumpet tree". E, na Colômbia é chamado "Yarumo", no Peru, de "certico", na Bolívia, de "ambaibo" e no Paraguai, de "Ambai". Nos países de língua espanhola da América do Sul, é também chamado comumente pelo nome de "palo de lija" (Árvore de lixa)^{1, 6}.

1.2.3 CARACTERÍSTICAS ECOLÓGICAS E OCORRÊNCIAS

Espécie pioneira, perenifólia, ocorre desde o Rio Grande do Norte até Santa Catarina, tanto na área de influência dos cerrados, quando das florestas estacionais e formações do complexo atlântico. Característica de solos de maior umidade, típica das bordas de matas e de clareiras grandes. Abriga formigas no interior de seu tronco oco (Figura 4). É chamada de árvore-da-preguiça, que tem nas folhas jovens, um dos seus alimentos preferidos. Seus frutos são alimento, para aves e também servem de alimento a várias espécies de peixes, como o Pacú, a Piracanjuba e outros. O interior do tronco e dos ramos é ocupado muitas vezes, por uma espécie de formiga, que podem ser encontradas na parte superior dos nós dos galhos, ou nos orifícios que são os buracos das formigas (Figura 4). Essa simbiose de formigas e embaúba é conhecida desde os tempos antigos, de tal forma, que no Japão, essa árvore já foi chamada "arinosu-no-ki", árvore de ninho de formiga.

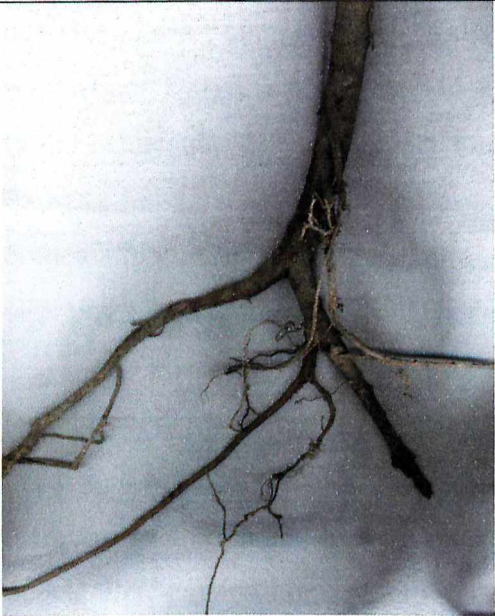


<p>Raízes apoiantes que a protegem do tombamento e evitam a erosão do solo.</p> <p>A madeira é macia e leve com 0,41 de densidade. É utilizado para fabricação de fósforos, lápis e de caixas leves. O tronco, perfurando, é usado como calha em irrigação. Em seu interior, no orifício que origina seu nome, pode abrigar formigas.</p>	
	
RAIZES	
	
TRONCO	TRONCO
“Tipo colmo ou estipe” (corte transversal)	“Orifício central, corte oblíquo/longitudinal”

Figura 4. Detalhes das raízes, e cortes de um tronco, de uma embaúba.

Fonte: GERALDO B. LONDE/2003.

Fritz Müller (1822–1897), após formar-se em Ciências Naturais na Universidade de Berlin, aos 30 anos de idade, veio para Santa Catarina em seus estudos, mantinha contato com Darwin, famoso na época com a teoria de Evolucionismo. Na tentativa de comprovar a teoria de Darwin, pesquisou a gênese dos crustáceos nas praias de Itajaí e, além de publicar relatório intitulado "Para Darwin" (Fuer Darwin) comprovando as idéias do amigo, chegou a desenvolver a teoria explicando que ontogênese repete a filogênese. Para comemorar essa teoria de Fritz Müller, Darwin o chamou de "Príncipe da observação". Chegou a ser comentado que suas expedições teria até mesmo superado a de Darwin. Fritz Müller pesquisou também a simbiose de embaúba e formigas⁷.

Se observar o pecíolo da folha de embaúba, há uma parte branca e saliente, onde podem ser vistas as glândulas, através do microscópio. Essas glândulas produzem secreção doce – mel que atrai as formigas, e contêm o glicogênio. As formigas se alimentam desse mel, secretado por glândulas, chamadas corpúsculos de Müller, em sua homenagem. Essas formigas conhecidas pelo nome de azteca são pretas e miúdas, mas são agressivas e suas picadas bastante doloridas. Vivem entre os nós dos galhos. Em compensação, protegem a embaúba do ataque de saúva e outros vermes ou insetos nocivos.

O fruto de embaúba é macio e doce, muito apreciado por macacos em geral, morcegos, e também por bicho-preguiça habitando nos galhos dessa árvore. Esse animal alimenta-se também das folhagens novas dessa árvore que também é chamada "árvore-de-preguiça".

1.2.4 USOS MEDICINAIS POPULARES

Segundo o uso popular temos: suas folhas e frutos são usados no tratamento da diabetes, sendo úteis também contra a tosse e bronquite. Aumenta a energia do músculo cardíaco sem multiplicar os batimentos do coração. O suco obtido da raiz é um poderoso diurético. Das cascas se prepara um chá expectorante e que auxilia no tratamento do diabetes^{1,3,8}.

Na parte medicinal, as flores, os brotos e a casca do caule são aproveitados para tratamento de bronquite, tosses, erisipela, diabetes e diarreia.

"Sylvio Panizza,⁹ relatou em 1997 que outras ações da embaúba ainda estão sendo estudadas. Existe a forte suspeita de que suas folhas agiriam contra o mal de Parkinson, uma doença degenerativa do cérebro responsável por uma per-

da grave da coordenação motora em médio prazo. A hipótese de alguns cientistas é de que seus componentes agiriam de maneira semelhante aos remédios receitados nesses casos. Faltam mais pistas para chegarmos aos resultados finais”.

Se esses efeitos nunca forem comprovados, só o fato de funcionar contra a pressão alta já será motivo para considerar a embaúba, um santo remédio. Não se pode deixar de lado as estatísticas que apontam essa doença como a principal causa de derrames e de infartos no Brasil^{2,9}.

1.2.5 CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS

Parênquima axial do caule, distinto a olho nu; aliforme e confluyente, formando faixas geralmente irregulares, com 6 a 10 células de largura, vistas ao microscópio ótico comum; seriado, com 4 a 8 células por série. Poros (Vasos condutores), distintos a olho nu; de secção circular, solitários, em maioria (59%) e múltiplos de 2 a 3. Poucos vasos, em média, de 3 poros por mm². Médios, média de 188 µm de diâmetro tangencial. Tilos pouco freqüentes; placa de perfuração simples. Elementos vasculares curtos, média de 456 µm de comprimento; pontuações intervasculares grandes, média de 13 µm de diâmetro tangencial, poligonais. Raios notados a olho nu nas faces transversal e longitudinal tangencial. Na radial o espelhado dos raios é contrastado; poucos, média de 4 raios por mm; muito baixos, média de 0,85 mm de altura, e média de 23 células de altura; de 1 a 5 células de largura, predominando os de 4 a 5 (60%); heterocelulares; pontuações radiovasculares arredondadas e grandes, média de 15µm de diâmetro tangencial. Fibras libriformes; de largura média; com paredes muito delgadas (57%) e delgadas (43%); curtas, com média de 1,40 mm de comprimento. Camadas de crescimento pouco contrastadas, delimitadas por zonas fibrosas⁶.

1.2.6 DURABILIDADE NATURAL

A madeira de Embaúba, em condições adversas, é extremamente suscetível ao ataque de organismos xilófagos (bactérias, fungos etc...)⁶.

1.2.7 TRATAMENTO PRESERVANTE

A madeira de embaúba, com base na estrutura anatômica e na baixa densidade, em tratamentos sob pressão, deve ser bastante permeável às soluções preservantes (óxido de cromo, sulfato de cobre e outras).

1.2.8 PRINCIPAIS APLICAÇÕES

Não é exagero dizer, que a madeira é um dos mais importantes produtos da natureza, cerca de um terço da superfície terrestre está coberta por florestas, contendo um estoque, ainda em crescimento, de 300.000 milhões de m³ desta matéria. Deste estoque, 2.600 milhões m³ são colhidos a cada ano, o que representa 1.300 milhões de toneladas de madeira ao ano. A madeira de embaúba, por ser leve e de propriedades mecânicas baixas, pode ser usada para brinquedos, caixotaria leve, compensados, saltos para calçados, tamancos, lápis, aeromodelismo, carvão vegetal e celulose para papel^{6, 10}.

A embaúba merece especial atenção por sua utilidade, e também pela facilidade de acesso pela população em geral, bem como, pela facilidade de preparo dos extratos ou coleta de partes úteis na medicina popular¹¹. A facilidade acima citada se dá ainda pela grande ocorrência desta espécie na região do triangulo mineiro, pelo elevado índice de reprodução, desenvolvimento, e pela fácil dispersão das sementes, que em geral é realizada por aves como o tucano (*Ramphastos toco*)¹¹

Todos estes fatores contribuíram na escolha deste trabalho voltado para a madeira, em especial, com esta espécie de vegetal.

1.2.9 PROPRIEDADES FÍSICAS E MECÂNICAS

No Quadro 1 se encontram as principais propriedades físicas e mecânicas relacionadas à embaúba⁶.

Quadro 1. Propriedades físicas e mecânicas da embaúba⁶

Propriedades Físicas			Classificação	
Massa específica aparente (Densidade) a 15 % de umidade (g/cm³)			0,41	Leve
Contrações (%) (do p.s.f. até 0 % de umidade)	Radial		2,9	Baixa
	Tangencial		9,0	Média
	Volumétrica		14,7	Média
	Coeficiente de retratibilidade volumétrica		0,52	Médio
Propriedades Mecânicas			Classificação	
Compressão axial	Limite de resistência (kgf/cm²)	Madeira verde	228	Baixo
		Madeira a 15 % de umidade	303	Baixo
	Coeficiente de influência da umidade (%)		5,1	Alto
	Coeficiente de qualidade 100D a 15 % de umidade		7,3	Médio
	Limite de proporcionalidade - madeira verde (kgf/cm²)		182	Baixo
	Módulo de elasticidade - madeira verde (kgf/cm²)		115.400	Médio
Flexão estática	Limite de resistência (kgf/cm²)	Madeira verde	430	Baixo
		Madeira a 15% de umidade	617	Baixo
	Relação L/F - madeira verde		24	Baixa
	Limite de proporcionalidade - madeira verde (kgf/cm²)		205	Baixo
	Módulo de elasticidade - madeira verde (kgf/cm²)		85.100	Médio
	Choque (madeira seca ao ar)	Trabalho absorvido (kgt.m)		1,81
Coeficiente de resiliência R		0,28	Baixo	
Cota dinâmica R/D²		1,48	Alta	
Cisalhamento - madeira verde (kgf/cm²)			55	Baixo
Dureza Janka - madeira verde (kgf)			183	Baixa
Tração normal às fibras - madeira verde (kgf/cm²)			26	Baixo
Fendilhamento - madeira verde (kgf/cm²)			3,4	
(Testes segundo a Norma Brasileira MB-26/53 - ABNT (NBR-6230/85 – INMETRO). Resultados médios de 1 árvore.				

Capítulo 2

- CONSTITUÍNTES DA MADEIRA

2. CONSTITUINTES GERAIS DAS MADEIRAS

A madeira (tronco, sem a casca) é um material extremamente variável. Variações ocorrem entre as espécies, dentro da mesma espécie e até mesmo, dentro as partes de uma mesma árvore. Portanto, é de fundamental importância que se faça uma amostragem representativa, de um povoamento florestal, ou de uma árvore, para a quantificação correta dos seus componentes químicos.

A madeira é constituída, basicamente pelos componentes da parede celular (polissacarídeos e lignina) e pelos componentes secundários. Os componentes secundários são substâncias que contribuem pouco para a parte estrutural e são prontamente solubilizados em solventes orgânicos neutros e em água fria, sendo comumente chamados de extrativos^{10, 12}.

A madeira constitui-se em sua maior parte, pelos componentes macromoleculares: celulose, hemiceluloses e lignina, presente em percentuais variáveis. Uma simplificação sugere a celulose como um esqueleto envolvido por substâncias que funcionam como recheio (hemiceluloses ou polioses), sendo ambas envolvidas pela lignina que atua como um cimento para dar rigidez ao conjunto¹².

Os constituintes secundários incluem compostos orgânicos de diversas funções químicas (extrativos) e, em quantidades mais reduzidas ainda se encontram os compostos inorgânicos. De baixa massa molecular e somando pequenas quantidades, eles englobam: óleos essenciais, resinas, taninos, graxas e pigmentos.

A Tabela 1 apresenta a proporção aproximada, dos constituintes macromoleculares principais e secundários presentes nas madeiras moles (coníferas) e madeiras duras (folhosas).

Tabela 1. Composição química aproximada dos constituintes das madeiras¹³
COMPOSIÇÃO QUÍMICA PERCENTUAL EM CONÍFERAS E FOLHOSAS

COMPONENTES		CONÍFERAS	FOLHOSAS
HOLOCELULOSE	CELULOSE	40 - 45	40 - 45
	GLICOMANANAS	20	5
	XILANAS	10	25 - 30
LIGNINA		25 - 30	20 - 25
EXTRATIVOS		< 10	< 10

2.1 EXTRATIVOS

Os extrativos são componentes secundários, que incluem uma variedade de compostos orgânicos, sendo que nenhuma espécie vegetal os contém em sua totalidade. A presença relativa destes é governada por uma série de fatores, entre os quais merecem maior destaque, os de natureza genética, climática e formação do solo.

Os constituintes menores (metabólitos secundários), não residem na parede celular da planta, e divide-se basicamente em duas classes. A primeira classe engloba materiais conhecidos como extrativos, por serem extraíveis em água, solventes orgânicos neutros, ou volatilizados a vapor. A segunda classe engloba materiais que não são extraíveis comumente com os agentes mencionados, como por exemplo: compostos inorgânicos, proteínas e substâncias pécticas.

Esses constituintes menores são freqüentemente responsáveis por determinadas características da planta, como: cor, cheiro, resistência natural ao apodrecimento, sabor, defesa natural (alelopatia), entre outras.

O teor de extrativos na madeira seca é em torno de 3 a 10%, sendo que o valor para as madeiras de coníferas (madeiras moles) oscila em torno de 5 a 8%¹⁰.

É comum a denominação de resina para uma determinada classe de extrativos. Este termo, no entanto, caracteriza mais a condição física do que designa composto químico. Chama-se de resina, uma série de compostos diferentes, que inibem a cristalização. Deste modo, os seguintes compostos, podem ser componentes da resina: terpenos, lignanas, estilbenos, flavanóides e outros aromáticos.

Além dessas substâncias, outros compostos orgânicos podem estar presentes nos extrativos, como gorduras, ceras, ácidos graxos, álcoois, esteróides e hidrocarbonetos de elevada massa molecular.

Dessa forma, os extrativos abrangem uma grande variedade de compostos. O teor desses compostos na madeira é muito variável, e alguns são encontrados em quantidades significativas, em apenas algumas espécies ou gêneros, ou mesmo em determinadas plantas com idade de maturação^{13, 14}.

Muitas madeiras podem assim, serem mais definitivamente caracterizadas ou identificadas pela natureza e quantidades de extrativos do que pelas proporções dos componentes da parede celular. Nas cascas, folhas ou acículas, galhos, flores,

frutos e sementes, os extrativos ocorrem em quantidades usualmente maiores que na madeira.

A remoção dos extrativos é importante por várias razões:

- Para estimar a sua quantidade total, presente na madeira;
- Para quantificação e posterior separação, e caracterização dos seus componentes;
- Como pré-tratamento (para produção de papel), em procedimentos de isolamento, quantificação e caracterização da celulose, polissacarídeos não-celulósicos e lignina.

Pesquisas sobre extrativos da madeira são motivadas por várias razões, como:

- Descoberta e caracterização de novas estruturas químicas orgânicas;
- Importância dos extrativos na classificação taxonômica de espécies;
- Importância nos processos fisiológicos de crescimento das plantas;
- Descoberta de valiosos subprodutos;
- Determinação das causas de problemas, na utilização da madeira, etc.

A Figura 5 apresenta alguns exemplos de extrativos voláteis encontrados na oleoresina da *Capsicum annuum* (Páprica)¹⁵, *Abies nordmanniana*¹⁶, e na *Garcinia Kola* Henckel¹⁷, que pode ilustrar a grande variedade na composição da madeira. Devido à composição extremamente variável da madeira, não há uma sequência perfeitamente aplicável, para todas as madeiras, devendo o pesquisador, selecionar o melhor procedimento, para atingir seus objetivos. Tentativas preliminares são quase sempre necessárias.

Os extrativos da madeira, solubilizados por solventes orgânicos (diclorometano, etanol, cicloexano, etc.), são as graxas, gorduras, resinas, fitosteróis e hidrocarbonetos não voláteis e não voláteis. Os teores destas substâncias são muito variáveis e são influenciados pela secagem da madeira e estação do ano, em que a madeira foi colhida¹².

A Figura 6 apresenta alguns exemplos de extrativos de natureza ácida, encontrados na oleoresina do *Pinus ponderosa*¹⁸.

Os componentes da madeira, solúveis em água, incluem sais orgânicos, açúcares, polissacarídeos, ciclitóis e algumas substâncias fenólicas. Algumas des-

tas substâncias podem ser parcialmente solúveis em água e são também solúveis em solventes orgânicos.

Os extrativos de coníferas contêm geralmente, todas as classes de terpenos, exceto os sesterpenos, que são raros¹⁷. A terebintina, óleo volátil das coníferas consiste principalmente de monoterpenos, sendo os mais importantes o α -pineno, o β -pineno e o limoneno (Figura 7).

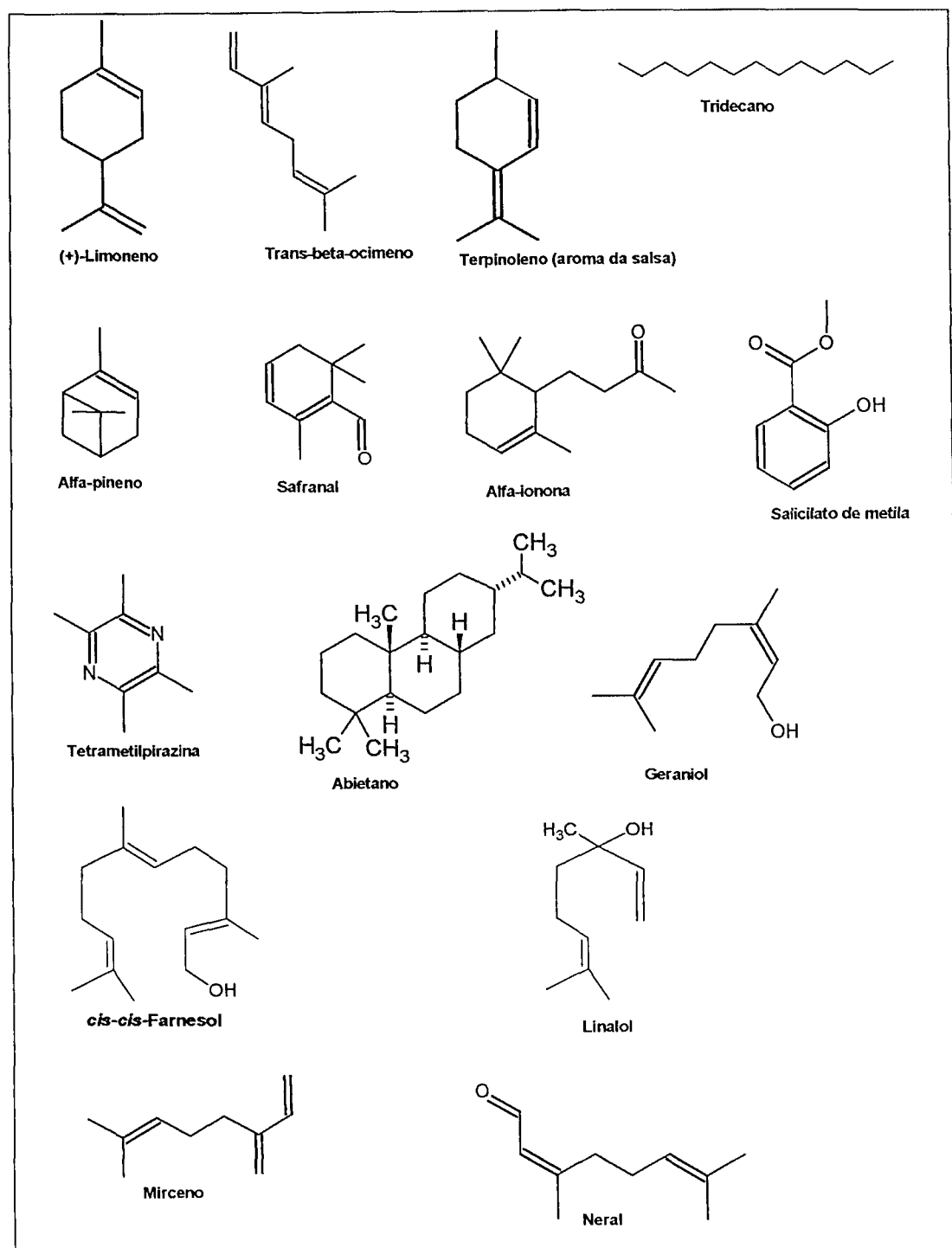


Figura 5. Componentes voláteis encontrados na oleoresina da *Capsicum anuum* (Páprica)¹⁵, *Abies nordmanniana*¹⁶, e na *Garcinia Kola* Henckel¹⁷.

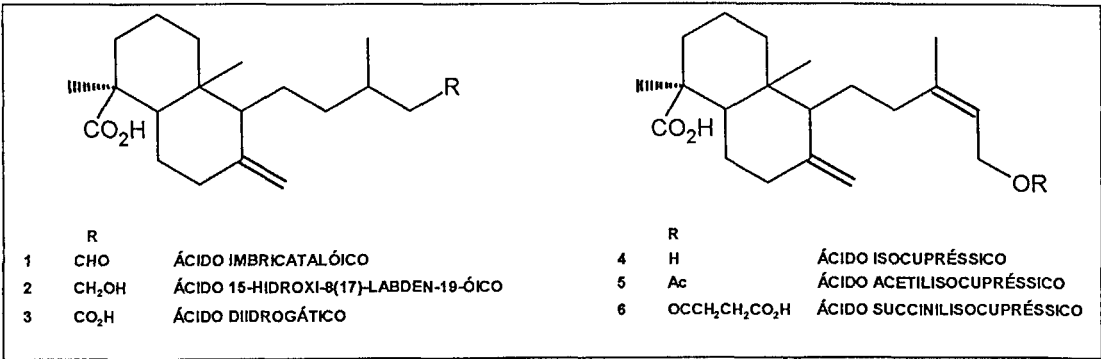


Figura 6. Ácidos resinóicos isolados do *Pinus ponderosa*¹⁸.

Os terpenos podem ser considerados múltiplos de unidades do isopreno (2-metilbutadieno). De acordo com o número destas unidades, ligadas em um terpeno, estes podem ser subdivididos em várias classes: monoterpenos (2 unidades), sesquiterpenos (3 unidades), diterpenos (4 unidades), sesterpenos (5 unidades) e triterpenos (6 unidades)¹⁰; apresentados na Figura 8.

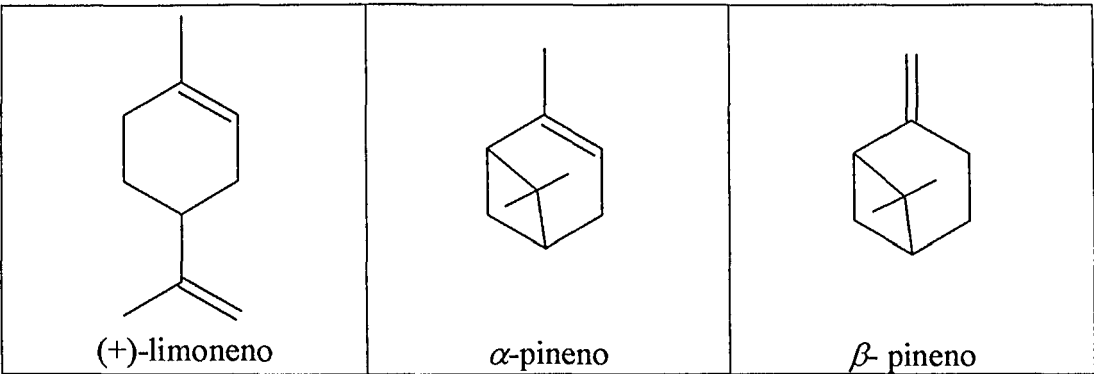
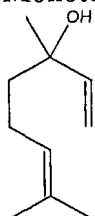
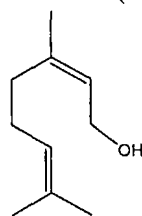
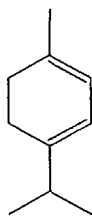
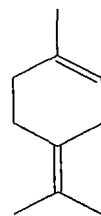
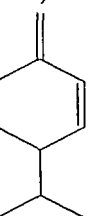
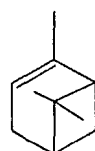
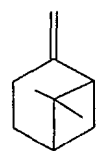
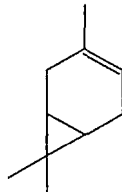
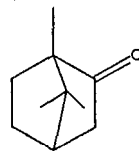
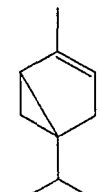
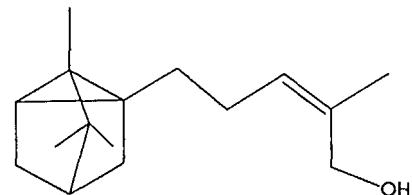
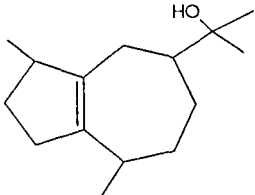


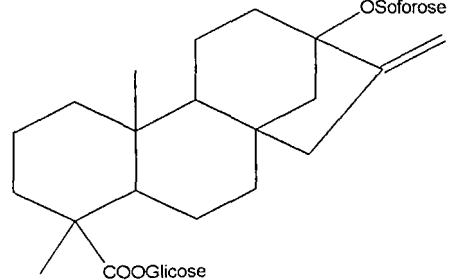
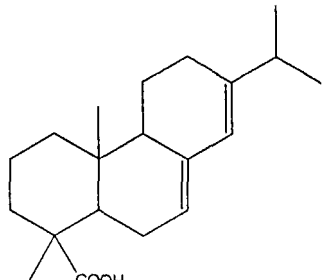
Figura 7. Monoterpenos encontrados em óleo volátil de coníferas: (1) Limoneno, (2) α-pineno e (3) β-pineno.

PREFIXO	Nº DE Carbonos	Nº DE ISOPRENOS
MONO	10	2
SESQUI	15	3
DI	20	4
SESTER	25	5
TRI	30	6
TETRA	40	8
POLY	> 40	> 8

Monoterpenos acíclicos (C 10)		Monoterpenos monocíclicos (C 10)		
				
linalol	nerol	α-terpineno	terpinolelo	β-felandreno

Monoterpenos bicíclicos (C 10)				
				
α-pineno	β-pineno	β-careno	cânfora	tujeno

Sesquiterpenos (C 15)	
	
α-santalol	guaiol

Diterpenos (C 20)	
	
estêvio	Ácido abiético

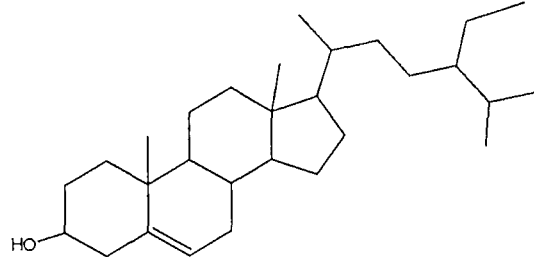
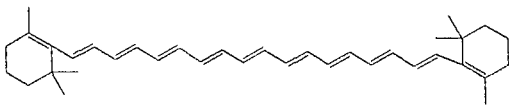
Triterpenos (C 30)	Tetraterpenos (C 40)
	
β-sitosterol	β-caroteno

Figura 8. Alguns terpenos e suas denominações.

Graxas são definidas como ésteres de ácidos carboxílicos (ácidos graxos) com glicerol, enquanto que ceras são ésteres de ácidos graxos, com álcoois de alta massa molecular (Figura 9). Graxas e ceras são extraíveis da madeira, com solventes orgânicos (éter de petróleo, hexano, éter etílico etc.).

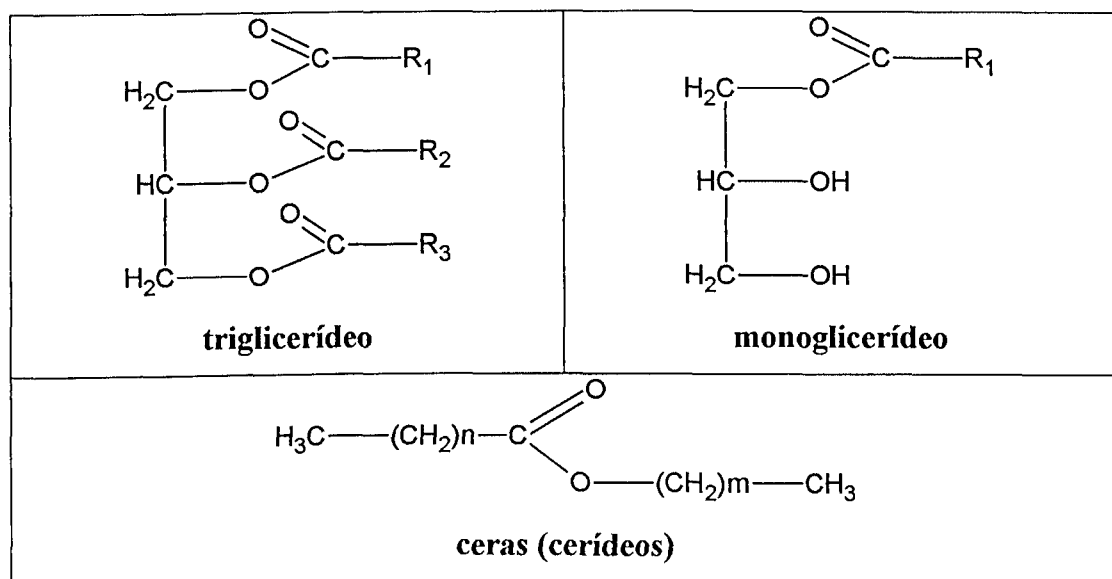


Figura 9. Graxas: triglicerídeo, monoglicerídeo e ceras.

Nos extrativos de coníferas, também se encontram vários compostos fenólicos, dos quais alguns são resíduos e subprodutos da biosíntese da lignina. Alguns desses compostos são apresentados na Figura 10 e dividem-se em:

- Fenóis simples: como por exemplo: vanilina (1), *p*-hidroxibenzaldeído (2) e coniferaldeído (3);
- Lignanas: compostos contendo principalmente, duas unidades fenilpropano ligadas entre se (4);
- Derivados do estilbeno (5);
- Flavanóides (6 e 7).

2.2 CELULOSE

A molécula de celulose pertence à função química dos carboidratos ou glicídios, cuja característica é a de conter um grupo alcoólico, ligado a um átomo de carbono vizinho a um grupo carbonila aldeídico ou cetônico. Por definição a celulose é um polissacarídeo, ou seja, um glicídio que pode ser hidrolisado totalmente gerando monossacarídeos (centenas a milhares). No caso da celulose, o monossa-

carídeo constitutivo desse polímero é a β -D-glucose. Como mostra a Figura 11, o carbono 5 é assimétrico, o que faz com que a glucose tenha atividade óptica (propriedade de girar o plano de vibração da luz polarizada). Como a hidroxila deste carbono está representada no lado direito, por convenção, este composto recebe o nome de D-glucose¹⁰.

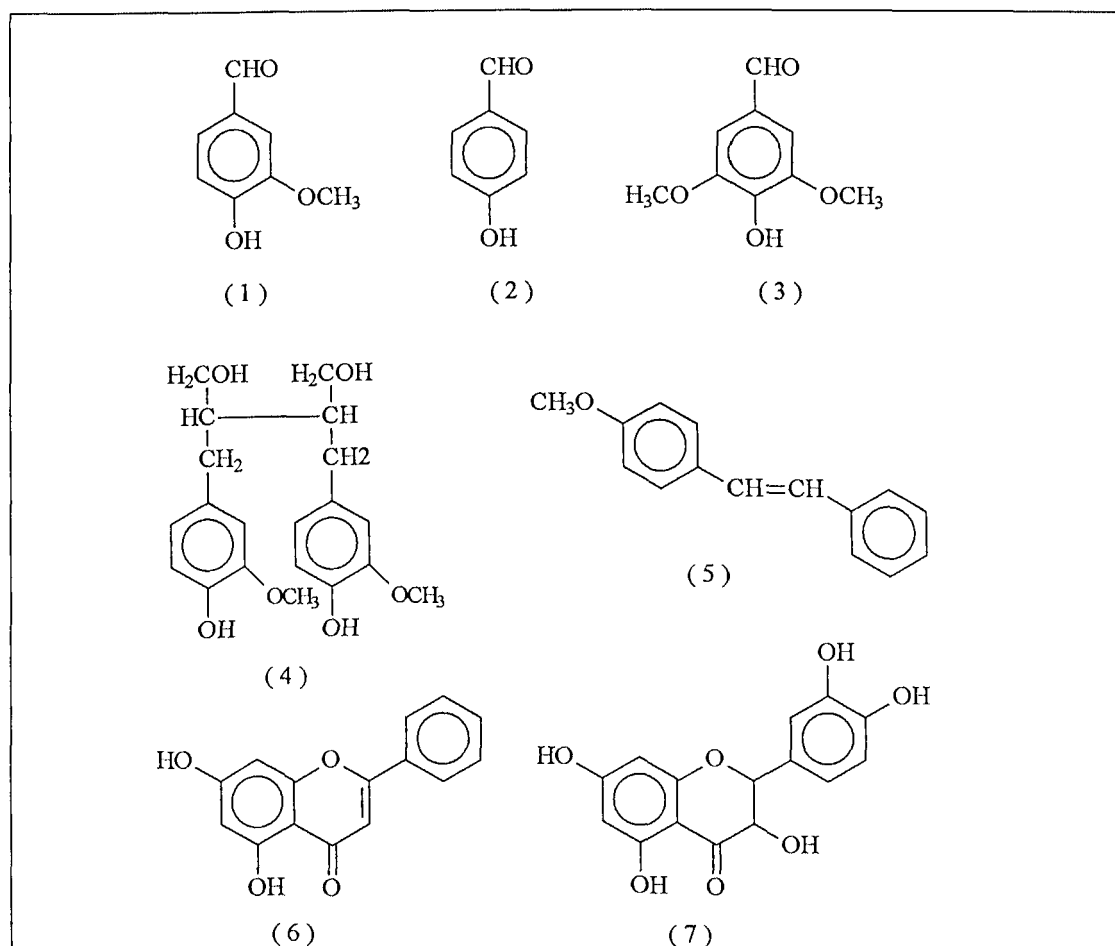


Figura 10. Exemplo de alguns fenóis encontrados em coníferas: (1) vanilina; (2) *p*-hidroxibenzaldeído; (3) siringaldeído; (4) secoisolariceresinol; (5) 4-metoxiestilbeno; (6) crisina e (7) taxifolina.

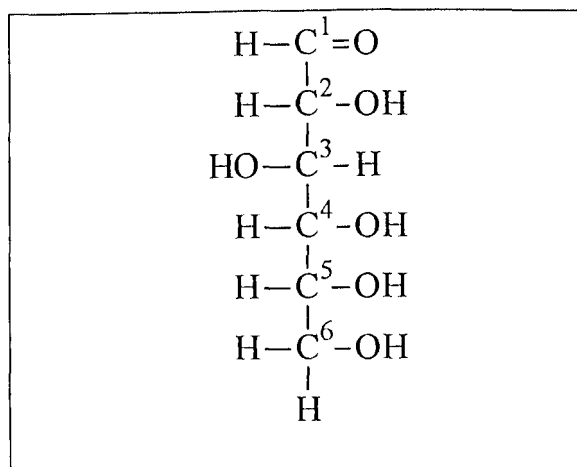


Figura 11. Fórmula da D-glucose.

No caso da D-glucose, o grupo aldeídico do carbono 1 (carbono anomérico), pode reagir com o grupo alcoólico do carbono 5, formando um semi-acetal interno, ou seja, um anel estável de seis átomos. O grupo hidroxila que se forma pelo fechamento do anel é denominado grupo glucosídico. O carbono assimétrico passa a ser o carbono 1. A Figura 12 ilustra esse processo.

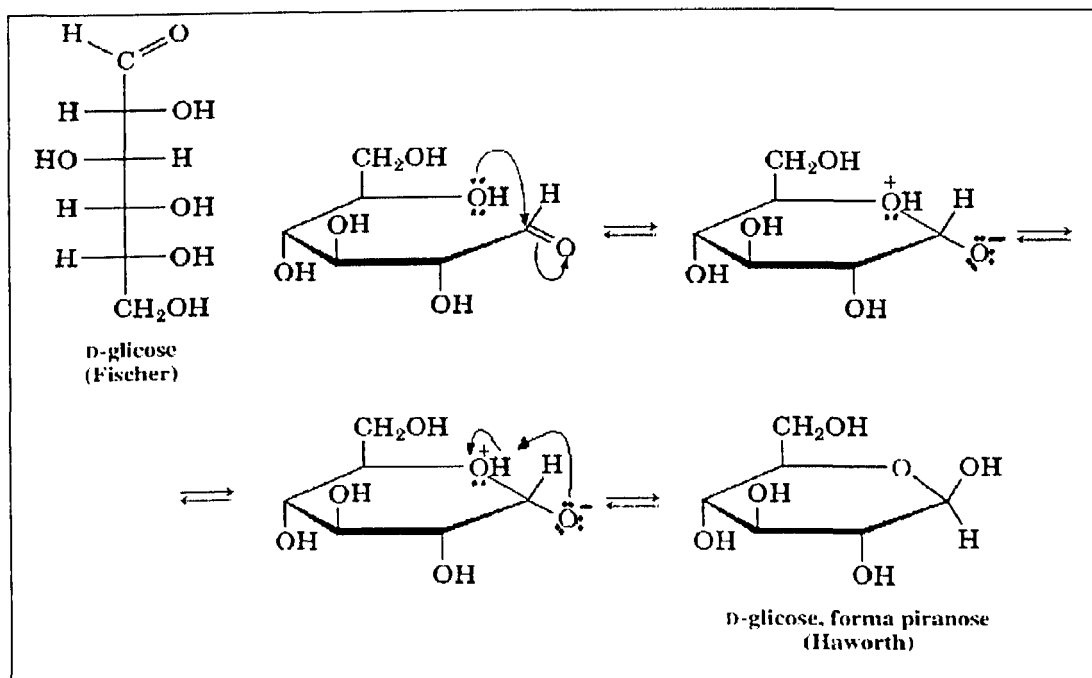


Figura 12. Formação da ligação hemiacetálica na molécula de D-glucose.

A união de moléculas desse monômero, por meio de ligações entre os carbonos 1 e 4, que irá constituir a celulose nas células vegetais^{10, 12}, como mostra a Figura 13.

As moléculas de celulose tendem a formar ligações de hidrogênio intramoleculares (entre unidades de glucose da mesma molécula) e intermoleculares (entre unidades de glucose de moléculas adjacentes). O primeiro tipo de interação é responsável por certa rigidez das cadeias unitárias e, o segundo, pela formação da fibra vegetal, ou seja, as moléculas de celulose se alinham formando as microfibrilas, as quais formam as fibrilas, que por sua vez, se ordenam para formar as sucessivas paredes celulares da fibra¹².

As fibras são constituídas de regiões cristalinas (altamente ordenadas) e amorfas (desordenadas). Na região cristalina, a fibra tem maior resistência à tração, ao alongamento e a solvatação (absorção de solvente). A resistência à tração

na região cristalina é cerca de quinze vezes o valor apresentado na região amorfa, onde a fibra tem sua maior flexibilidade.

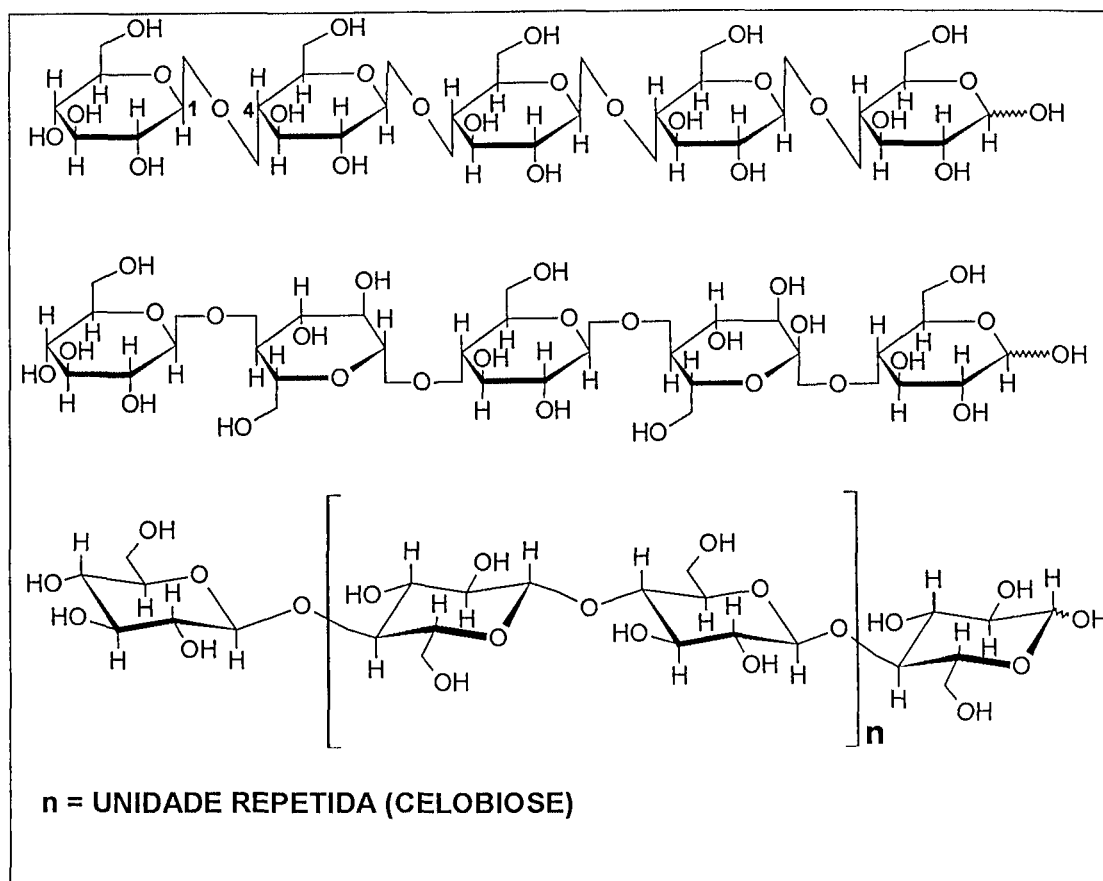


Figura 13. Formação de moléculas de celulose pela união de n unidades β -D-glucose, mostradas em três representações diferentes.

A celulose se distingue analiticamente dos extrativos pela sua insolubilidade em água e solventes orgânicos, das hemiceluloses pela sua insolubilidade em soluções alcalinas aquosas e da lignina pela sua relativa resistência a agentes oxidantes e susceptibilidade a hidrólise por ácidos.

Para o isolamento da celulose das plantas, ela deve ser separada dos extrativos, da lignina e dos outros compostos não celulósicos. Nos métodos comumente usados para o isolamento e determinação da celulose, os outros constituintes da madeira são removidos o mais completamente possível, por técnicas de extração ou solubilização deixando um resíduo que é constituído praticamente por celulose pura. A etapa mais importante é a remoção da lignina. Porém, alguns procedimentos de deslignificação, podem promover perdas da porção mais solúvel da holoceleulose (celulose + hemiceluloses)¹².

2.3 HEMICELULOSES

O termo hemiceluloses refere-se a uma mistura de polímeros (polissacarídeos), de baixa massa molecular, os quais estão intimamente associados com a celulose nos tecidos das plantas. Enquanto a celulose, como substância química, contém exclusivamente a D-glucose como unidade fundamental, as hemiceluloses são polímeros em que na sua composição podem aparecer as seguintes unidades de açúcares condensados em proporções variadas: β -D-xilose, β -D-manose, β -D-glucose, α -L-arabinose, α -D-galactose, ácido β -D-glucourônico, ácido β -D-galactourônico e ácido α -D-4-O-metilglucourônico (Figura 14).

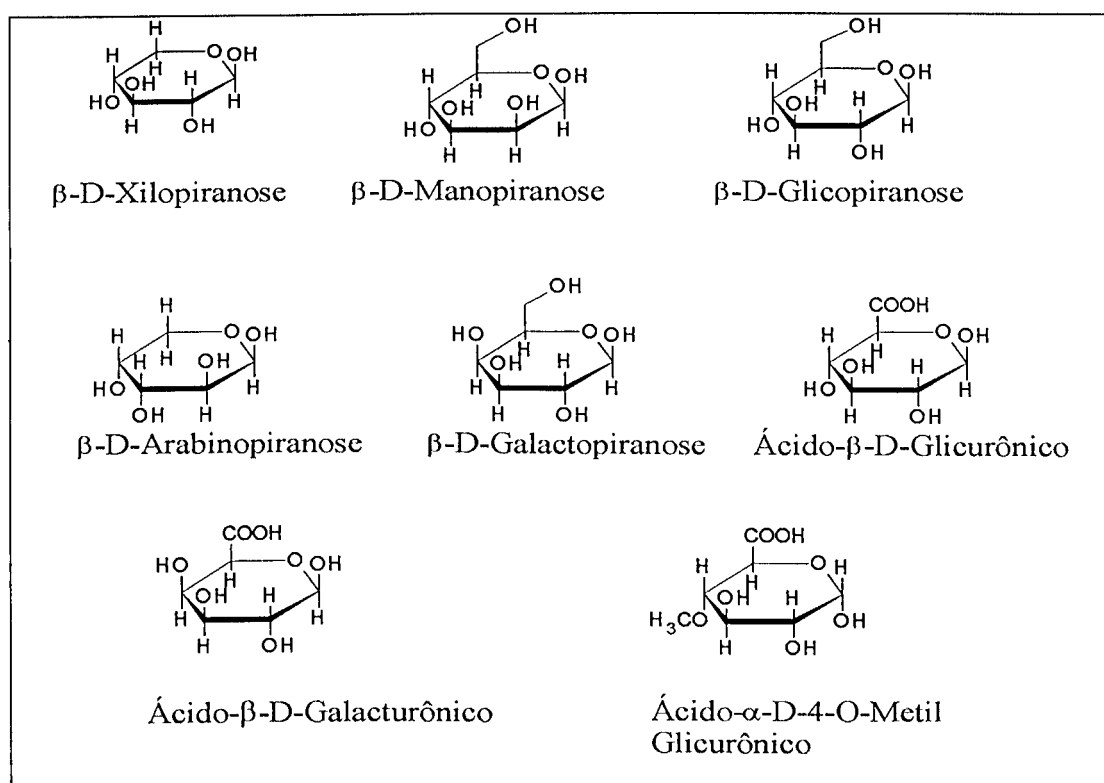


Figura 14. Açúcares que compõem as hemiceluloses.

As hemiceluloses são polímeros, nos quais participam pelo menos dois tipos de unidades de açúcar¹². Isoladas das madeiras, as hemiceluloses se apresentam como misturas complexas de polissacarídeos, sendo as mais importantes: glucouranoxilanas, arabinoglucouranoxilanas, glucomananas, arabinogalactanas e galactoglucomananas. Portanto, o termo hemiceluloses não designa um composto químico definido, mas sim uma classe de componentes poliméricos, presentes em vegetais fibrosos possuindo cada componente propriedades peculiares. Como no caso da celulose e da lignina, o teor e a proporção dos diferentes componentes

encontrados nas hemiceluloses de madeira variam grandemente com a espécie e, provavelmente, também de uma árvore para outra¹⁰.

Como se pode observar na Figura 14, algumas das unidades de açúcar possuem apenas cinco átomos de carbono, sendo, portanto, denominados pentoses, outras, porém, possuem seis átomos de carbono, sendo, então denominadas hexoses gerando assim, pentosanas (polímeros formados pela condensação de pentoses) e hexosanas (polímeros formados pela condensação de hexoses). Um polissacarídeo que quando hidrolisado forme tanto unidades de arabinose como de galactose, estando esta última em maior quantidade é denominado arabinogalactana outro que forme arabinose, ácido glucourônico e principalmente a xilose é denominado arabinoglucouranoxilana e assim por diante¹⁰.

A Tabela 2 apresenta a proporção aproximada das hemiceluloses em coníferas.

Tabela 2. Teores relativos das hemiceluloses em coníferas¹⁰

Hemiceluloses	Ocorrência
Glucouranoxilana	Pequena (< 1%)
Arabinoglucouranoxilana	Pequena a média (10-14%)
Glucomanana	Grande
Galactoglucomanana	Pequena a média
Arabinogalactana	Muito pequena (~2%)

} (12 – 20%)

Muitos pesquisadores tentaram remover a lignina para a obtenção da holocelulose, sem que houvesse perda de nenhuma fração dos polissacarídeos, o que foi conseguido por Ritter¹⁴ e colaboradores que deslignificaram a madeira utilizando tratamentos alternados de cloração e extração alcalina em soluções alcoólicas. O produto desse tratamento foi designado holocelulose indicando que era constituído pela celulose e hemiceluloses, originalmente presentes na madeira¹⁹. Wise, Murph e D'Addieco²⁰, demonstraram que a extração sucessiva da holocelulose (preparada pelo método do clorito ácido) com hidróxido de potássio a 5 e 24%, respectivamente, resultam em valores que, somados, representam verdadeiramente a fração de hemiceluloses da madeira. Assim, a fração de hemiceluloses solubilizada pelo hidróxido de potássio 5% foi designada hemicelulose-A, a fra-

ção solubilizada pelo hidróxido de potássio 24% foi designada de hemicelulose-B e o resíduo fibroso após as duas extrações foi designado de α -celulose.

2.4 LIGNINA

A lignina é um dos três constituintes principais da madeira. É um polímero natural proveniente da condensação desidrogenativa de três álcoois precursores: *trans*-coniferílico (a), *trans*-sinapílico(b) e *p*-cumarílico(c) (Figura 15)²¹.

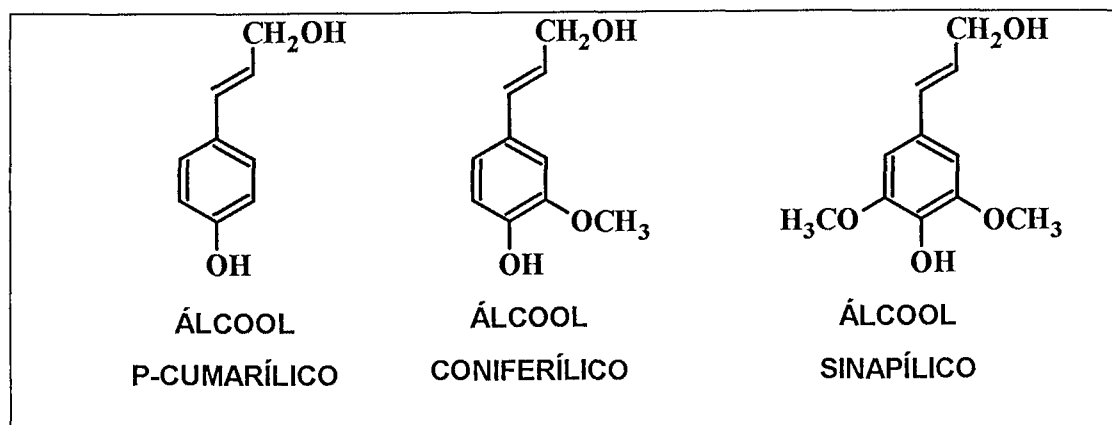


Figura 15. Estrutura dos álcoois precursores de ligninas²¹.

Com uma massa molecular média em massa (Mw), que pode variar de 3.000 a 100.000 Dalton ou mais, este polímero constitui cerca de 25 a 30% da composição das madeiras duras tropicais e tem um papel importante no transporte de nutrientes e água na rigidez das paredes celulares e na resistência dos vegetais à ação dos microorganismos^{12, 21}.

Sua produção como subproduto das indústrias de açúcar, de papel e de álcool é muito grande. Sua principal utilização industrial tem ainda sido como combustível. Entretanto, a literatura registra aplicações como redutor em metalurgia, na produção de briquetes e de carvão, na indústria de silício cristalino, em ligas de metais não ferrosos, na produção de CS_2 , como matéria prima para carvão ativado ou em química fina para produção de vanilina e como fonte de substâncias aromáticas²²⁻²⁵. Seu aproveitamento tem sido objeto de muitos estudos^{12, 26}.

Portanto, define-se a lignina como um polímero vegetal, constituído de unidades arilpropanóides, denominadas C_6C_3 ou, simplesmente unidades C_9 . Essas unidades são: *p*-hidroxifenilpropano, guaiacilpropano e siringilpropano (Figura 16)²⁷.

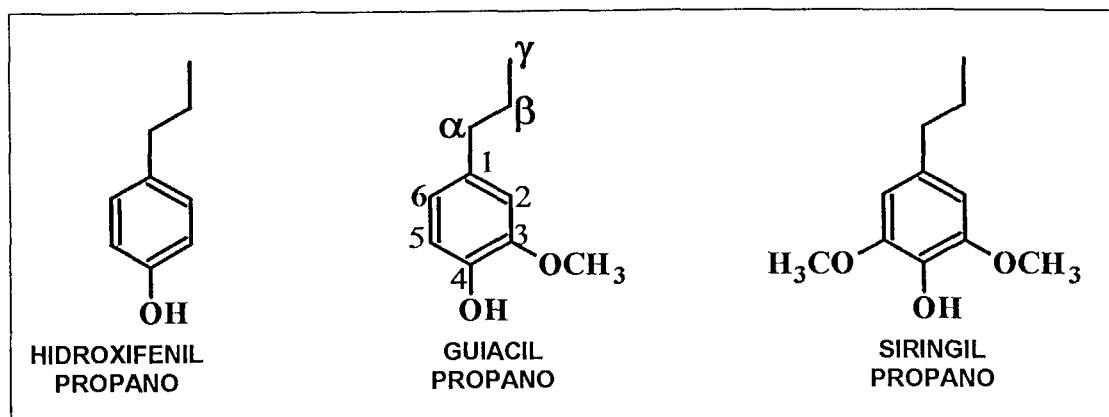


Figura 16. Estrutura dos constituintes básicos da lignina.

O conhecimento dos componentes da estrutura química da lignina é de fundamental importância para posteriores aplicações tecnológicas, assim como, para a proteção do meio ambiente já que várias indústrias a descartam, pelo menos em parte, em rios como rejeito (por exemplo, indústrias de papel).

Apesar da literatura registrar numerosos estudos, referentes à determinação de estruturas, à química e ao aproveitamento de ligninas de coníferas (madeiras moles) e folhosas (madeiras duras), muito se tem para pesquisar nesse campo. Existem diferentes tipos de ligninas, que variam de espécie para espécie e até mesmo dentro de uma mesma espécie, dependendo das condições ambientais, tais como: clima, condições do solo, etc. Elas podem também, ser classificadas segundo sua origem natural ou industrial, conforme o tipo de procedimento utilizado para extraí-la, seja diretamente do vegetal por reação química, ou por extração com solventes após moagem ou ação de microorganismos e, finalmente, segundo o tipo de planta industrial que a produz como rejeito, por exemplo: indústrias de celulose e de produção de álcool.

O estudo químico de ligninas evoluiu a partir da análise dos produtos de suas reações de hidrólise, oxidação com nitrobenzeno^{25, 27} e etanólise²⁶, que permitiram concluir, que as ligninas são formadas a partir de unidades básicas arilpropanóides^{28, 29}, as quais são mostrados na Figura 17. Através da análise dos produtos dessas reações foi possível elucidar os principais tipos de subestruturas das ligninas.

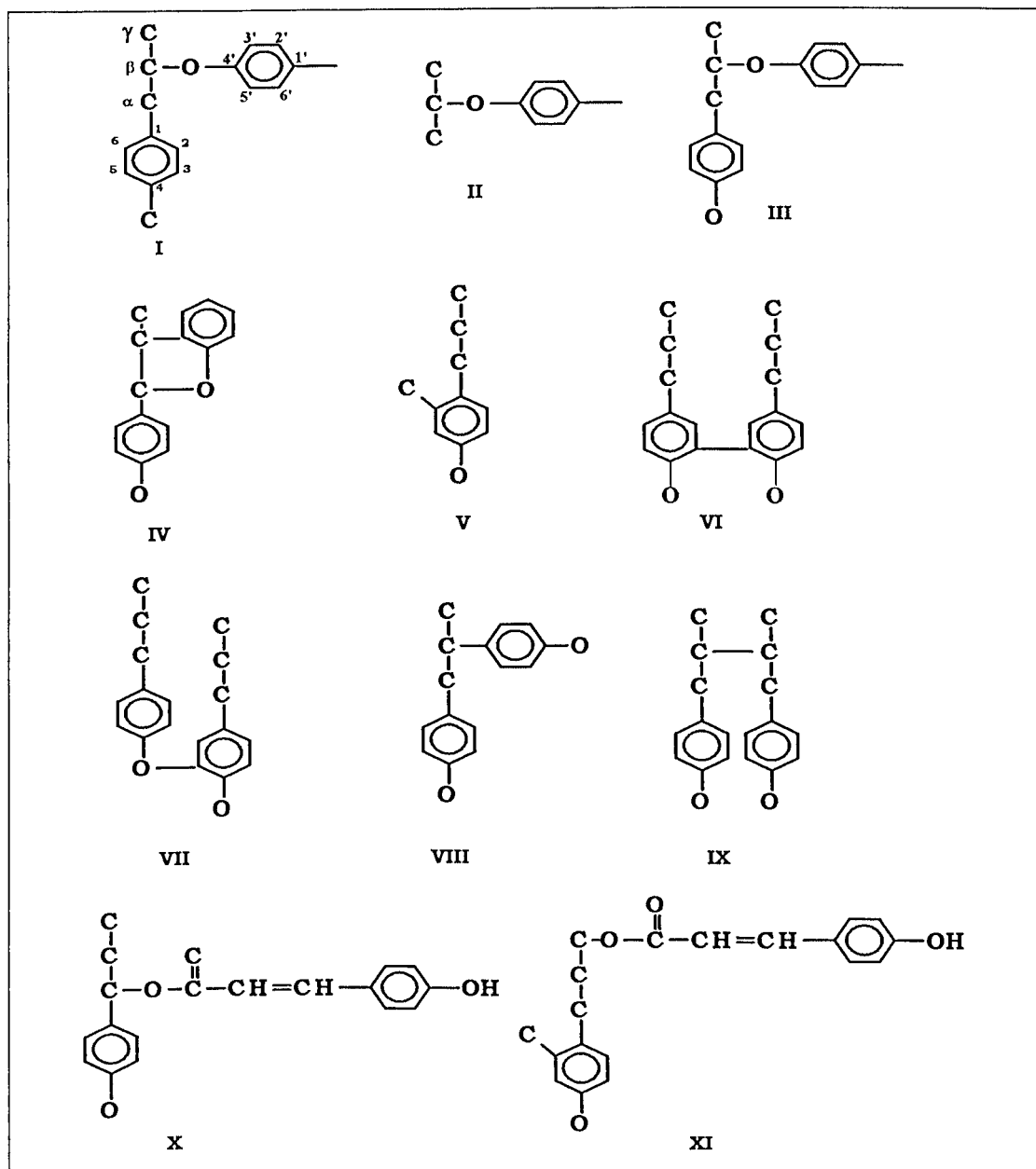


Figura 17. Subestruturas mostrando os tipos de ligações predominantes em ligninas²⁸.

Desse modo, verificou-se que diferentemente da celulose e outros polímeros naturais as ligninas apresentam uma estrutura macromolecular em que as unidades monoméricas não se repetem de forma regular e encontram-se entrelaçadas por diferentes tipos de ligações, tais como: ligações carbono-carbono, entre cadeias alifáticas C_3 (β - β' , α - α' , α - β'); entre as cadeias alifáticas e os anéis aromáticos (β -5', β -1', α -1', β -6'); entre carbonos aromáticos (5-5'); além de ligações etéricas, envolvendo cadeias alifáticas e anéis aromáticos (β -O-4', α -O-4', α - γ')^{25,27-29}.

Em 1974, Nimz³⁰ propôs um esquema estrutural para a lignina da faia (*Fagus silvatica*), que é uma folhosa. Em 1992 Morais e colaboradores^{28, 29} propuseram um esquema para a lignina do *Eucalyptus grandis*, apresentado na Figura 18.

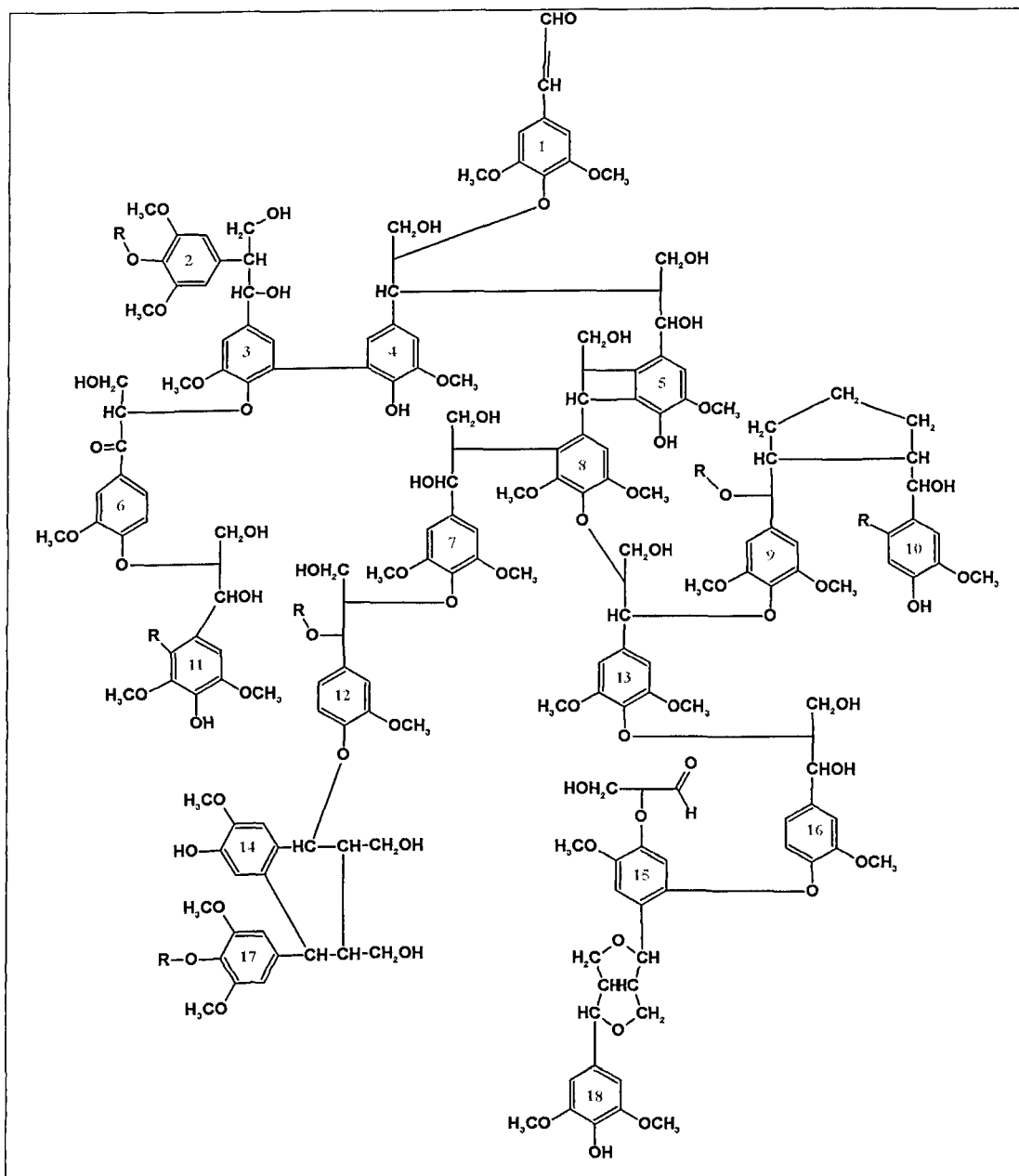


Figura 18. Esquema de estrutura proposta para a lignina de eucalipto (*Eucalyptus grandis*, folhosa), segundo Morais^{28, 29}.

As diferentes unidades monoméricas das ligninas encontram-se entrelaçadas por diversas ligações químicas, carbono-carbono e etéreas que podem ser quantificadas por estudos químicos e físicos²⁵. A Figura 19, apresenta os tipos

principais de carbonos que se encontram em ligninas e o Quadro 2 esquematiza os principais grupos funcionais e ligações predominantes.

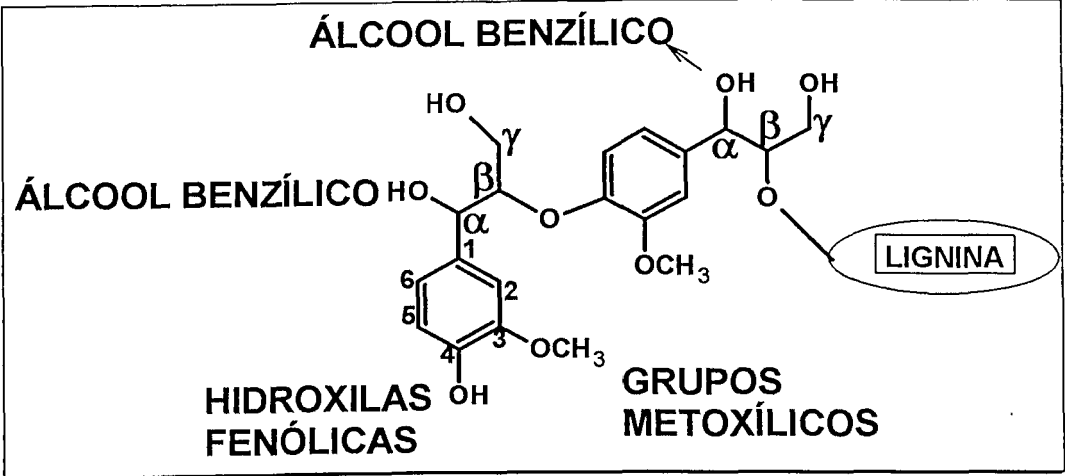



Figura 19. Esquema de identificação dos principais tipos carbonos para a lignina.

Quadro 2. Distribuição dos principais grupos funcionais e ligações existentes na lignina²⁸

TIPOS DE CARBONO	GRUPO FUNCIONAL OU TIPOS DE LIGAÇÕES
C _γ	OH, ÁLCOOIS CINAMÍLICOS
	OH, ÁLCOOIS PRIMÁRIOS
	-CHO
	γ-O-α
	γ-O-β
	γ-O-γ
C _β	β-O-4
	β-5, FENILCUMARÂNA.
	β-β, PINO E SERINGORRESINOL
	β-1
	β-6
	β-β
	β-α
C _α	α-O-4, FENILCUMARÂNA E OUTRAS
	CO DE CETONAS CONJUGADAS
	OH, DE ÁLCOOIS BENZÍLICOS
	α-γ
	α-β
	5-5
	4-O-5
	OH, FENÓLICO
	ANÉIS CONDENSADOS

A possibilidade de ligações covalentes entre ligninas e polissacarídeos tem sido muito estudada. As ligações mais prováveis são entre a macromolécula de lignina e hemiceluloses (Figura 20)³¹.

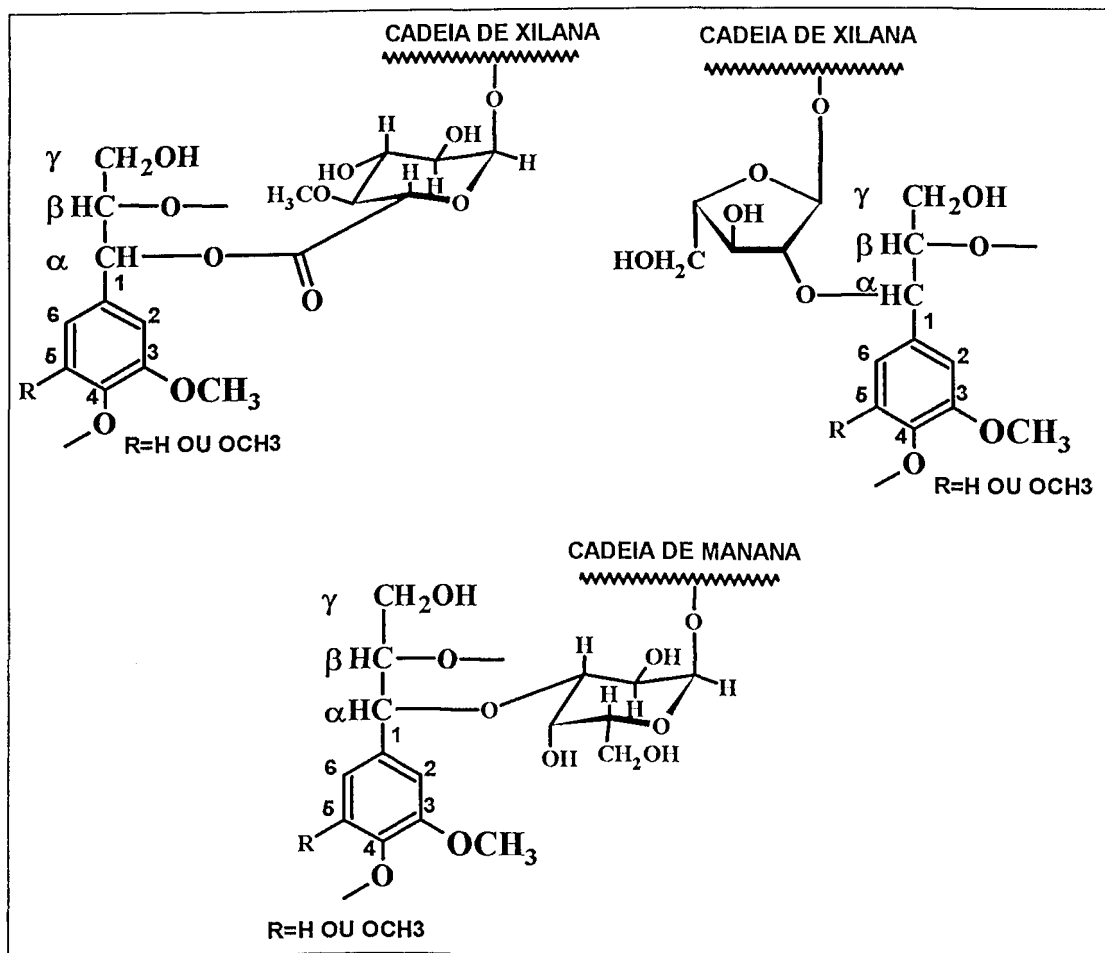


Figura 20. Ligações entre ligninas e polissacarídeos.

Para extrair ou isolar ligninas não existe nenhum método no qual elas permaneçam inteiramente como "*in situ*", isto é, como se apresentam originalmente na madeira. A maior parte dos procedimentos, normalmente empregados, leva a mudanças estruturais, ou seja, as ligninas resultantes diferem em propriedades físicas e químicas da lignina natural presente na madeira^{12, 21}. Objetivando caracterizar as propriedades da lignina natural é preciso utilizar um método de isolamento que forneça uma macromolécula com a estrutura mais próxima daquela "*in situ*". Além do mais, deve-se evitar extrair a lignina impregnada com outras substâncias como carboidratos, taninos, lignanas, ácidos graxos e outros contaminantes^{27, 28}.

Dos vários métodos existentes para extração de ligninas, nenhum é totalmente eficiente e pode variar de madeira para madeira^{12, 21, 27}. As ligninas, mais

próximas da natural, são obtidas com a dissolução em solventes orgânicos. Os principais métodos para obtê-las por extração são: extração sucessiva da madeira com éter etílico e água para eliminação dos extrativos e, em seguida extração da lignina da madeira com etanol (lignina de Brauns ou nativa¹²). Com a moagem da madeira em moinho de bolas, sob atmosfera inerte ou não, seguida da extração sucessiva dos extrativos e posterior extração com dioxano:água, obtém-se a Lignina de Madeira Moída (ou MWL em inglês: "Milled Wood Lignin")^{12,21,25}. Essa técnica remove apenas uma parcela de lignina permanecendo uma boa parte "*in situ*". Entretanto, acredita-se que ela seja composta de fragmentos menores, mas que represente sem grandes modificações a estrutura tridimensional, muito maior presente na madeira.

Os procedimentos usuais de extração que se encontram descritos na literatura podem não se adequar ao isolamento da lignina de climas tropicais, devido à presença de grandes quantidades de extrativos de natureza polifenólica (taninos e outros) e alifática (ácidos e ésteres graxos)^{28,31}. Assim, são necessárias adaptações dos métodos tradicionais, para que ligninas como do eucalipto e outras de climas tropicais, possam ser isoladas sem transformações químicas drásticas e, assim, sejam as mais representativas das protoligninas. A Lignina de Madeira Moída (LMM) é considerada a mais adequada para esse fim e, portanto, a que mais se aproxima ao da macromolécula "*in situ*".

Muitos fatores devem ser considerados, quando se quer verificar se uma lignina é representativa da protolignina nas quais se destacam as porcentagens de carbono e de grupos metoxilas, que devem estar dentro da faixa normalmente encontrada para o tipo de madeira em estudo, possibilitando a determinação da fórmula mínima, a qual deve preencher os requisitos preestabelecidos na literatura como essenciais para uma lignina ser considerada genuína. Além desses fatores, a comparação dos espectros no infravermelho com transformada de Fourier (IVTF) e de ressonância magnética nuclear do carbono treze e do próton (RMN de ¹³C e RMN de ¹H) com aqueles citados na literatura³²⁻³⁷, é de fundamental importância para saber se a lignina obtida é representativa ou não.

A quantificação de grupos funcionais (metoxílicos por exemplo), por métodos químicos conciliados com as técnicas modernas de análise espectrométrica e com reações de degradação da macromolécula com a posterior identificação dos produtos encontrados, possibilita um conhecimento mais detalhado da macromo-

lécua de uma lignina, fornecendo bases lógicas para o estabelecimento de fragmentos de subestruturas, como aquelas apresentadas nas (Figuras 17 e 18). Como pode ser constatado em uma macromolécula de lignina encontram-se diferentes unidades monoméricas entrelaçadas por diversas ligações químicas, entre carbonos e etéreas (ligações etéreas envolvendo cadeias alifáticas e anéis aromáticos β -O-4', α -O-4') e por diversos grupos funcionais tais como: hidroxilas fenólicas e alifáticas, carbonilas, metoxilas, carboxilas, etc.

Dentre os principais métodos físicos de análise, que tem sido aplicados ao estudo de ligninas, a espectrometria no infravermelho, com transformada de Fourier^{24, 31} (IVTF) e ressonância magnética nuclear protônica e de carbono treze (RMN de ^1H e RMN de ^{13}C) são as mais empregadas^{12, 21, 35-38}.

Com o advento da espectrometria no Infravermelho com Transformada de Fourier a partir dos anos oitenta, muitos estudos têm sido feito, onde se pode armazenar e manipular os dados referentes aos espectros e, é possível, com certa facilidade, determinar vários grupos funcionais presentes nas macromoléculas de ligninas^{28, 34}. Assim, pode-se obter informações acerca da razão de unidades guai-cila:siringila, relação de hidrogênios aromáticos:alifáticos, determinação de grupos metoxílicos, podendo até mesmo, quantificar diretamente a porcentagem de ligninas em madeiras.

Com a aplicação da RMN de ^1H ao estudo de ligninas tornou-se possível estimar, a partir do espectro, um grande número de subestruturas. Esses estudos tornaram-se mais proeminentes com o desenvolvimento de espectrômetros de alta resolução, operando a altas frequências (270- 400 MHz), onde se destacam os trabalhos de Lundquist e colaboradores^{35, 38}.

O avanço da RMN de ^{13}C nos últimos anos possibilitou a obtenção de informações mais detalhadas sobre a estrutura molecular de ligninas, que complementando os resultados obtidos por RMN de ^1H e aqueles provenientes de análises químicas, permitem um conhecimento mais precioso das ligações existentes entre as unidades da macromolécula de ligninas³⁹⁻⁴⁴. Atualmente, técnicas especiais possibilitam obter espectros de RMN de ^{13}C quantitativos, de ligninas o que vem contribuindo para que esta metodologia seja cada vez mais aplicada com a vantagem de não modificar a composição da lignina^{40, 42}.

Os principais métodos químicos de degradação de ligninas são: oxidação com nitrobenzeno, pirólise, oxidação com permanganato de potássio e reação com

ácido tioacético^{21, 25, 27, 45}. Os produtos formados pelas reações acima são então quantificados por cromatografia gasosa, acoplada à espectrometria de massas (CGEM)^{38, 42}.

A oxidação de ligninas com permanganato de potássio proporcionou a primeira evidência direta da natureza aromática das ligninas e permitiram diferenciar madeiras de coníferas de madeiras de folhosas. A partir de 1936, Freudenberg e colaboradores aplicaram essa reação para estudar as estruturas de várias ligninas²⁵. No período de 1967 a 1973, Miksche e colaboradores utilizaram o aperfeiçoamento e identificação de substâncias orgânicas, como a cromatografia gasosa e a espectrometria de massas, para caracterizar e quantificar, com mais eficiência, cerca de quarenta ácidos oriundos dessa reação e produzidos a partir de ligninas ou madeiras²¹. Os principais monômeros e dímeros identificados como produtos de reações de ligninas com KMnO_4 , são apresentados na (Figura 21).

A identificação dos produtos provenientes da oxidação de ligninas com permanganato de potássio indica algumas constatações importantes acerca das estruturas de ligninas. Com a identificação dos ésteres derivados pode-se caracterizar os modos como as cadeias propanóides estão ligadas ao anel aromático, isto é, identificar as ligações *Calquila-Carila*. Além disso, com análise dos dímeros ou trímeros formados é possível caracterizar os tipos de ligações existentes entre dois núcleos aromáticos, como as ligações 5-5', 4-O-5', 5-6', etc.

Dentre os vários métodos citados para o estudo dos produtos pirolíticos oriundos de ligninas a cromatografia gasosa (CG) e a combinação de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CGEM), são os mais empregados^{29, 46}. A CGEM possibilita uma rápida separação e identificação dos principais produtos obtidos. A partir desses estudos é possível verificar que os pirolisados de ligninas são compostos de diferentes produtos, sendo a maioria de natureza aromática e sua constituição será em função da lignina que lhes deu origem. A Figura 22 apresenta os principais produtos pirolíticos encontrados, para a LMM do *Eucalyptus grandis*^{28, 29}.

Portanto, os resultados encontrados para os diferentes grupos funcionais e ligações que constituem a macromolécula de lignina, permite a proposição do modelo estrutural para a lignina em estudo²⁸⁻³⁰.

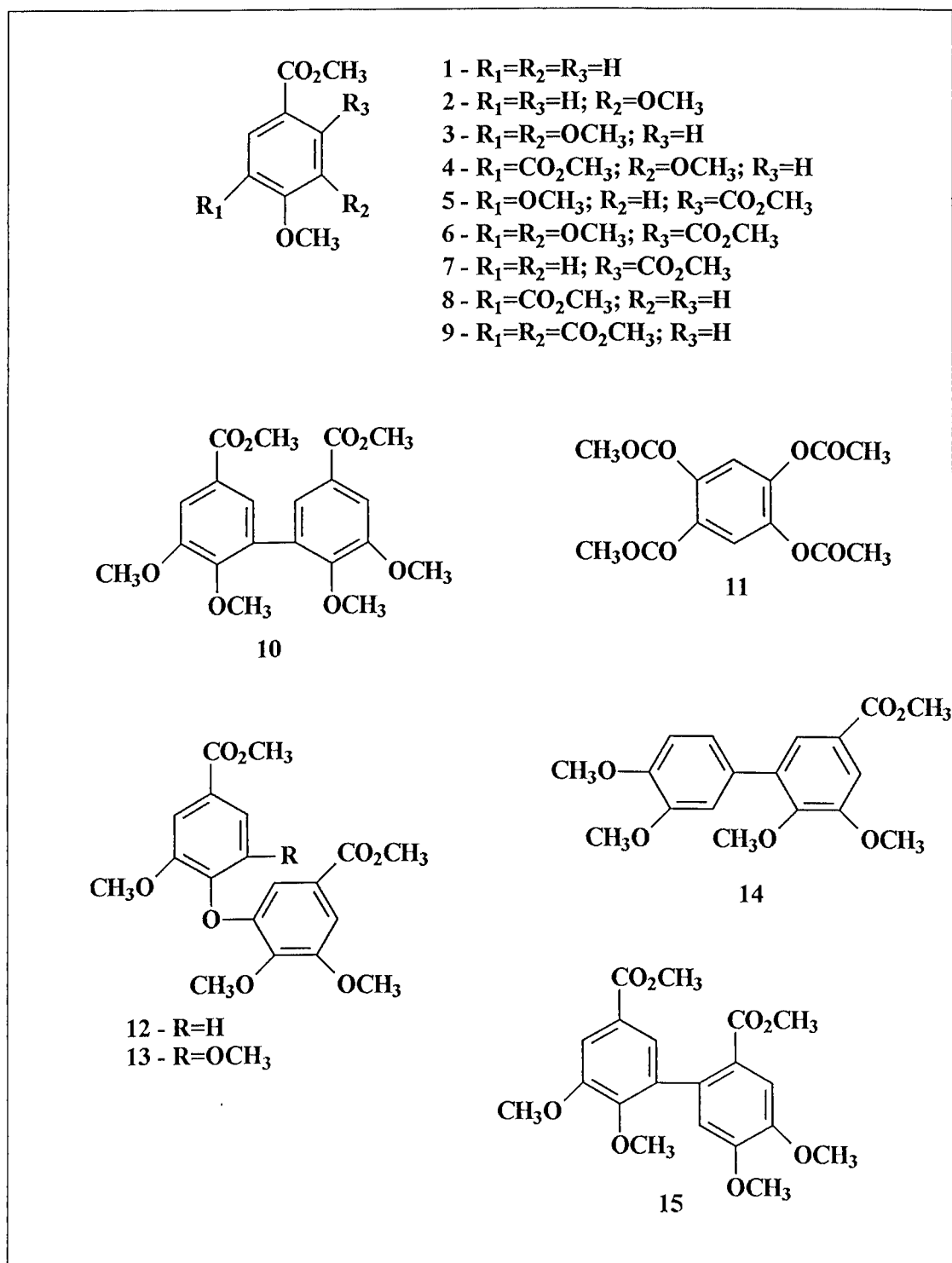


Figura 21. Principais monômeros e dímeros identificados por meio da reação de oxidação de ligninas, com $KMnO_4$ ^{28, 30}.

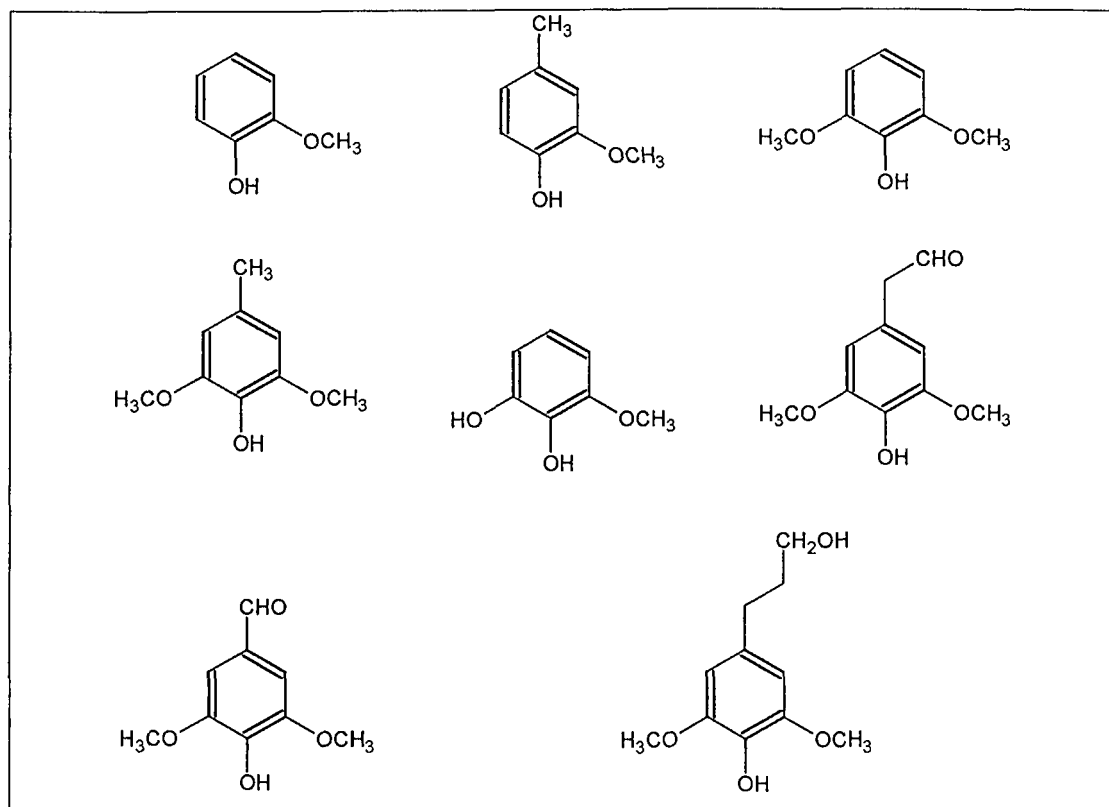


Figura 22. Principais produtos identificados na reação de pirólise da LMM do *Eucalyptus Grandis*^{28, 29}.

Portanto, define-se a lignina como um polímero vegetal, constituído de unidades arilpropanóides, denominadas unidades C_9 , que segundo a literatura poderia se restringir a três fórmulas características com variação específica no teor de grupos metoxílicos, sendo: para gramíneas em torno de $1,25 \text{ OCH}_3/C_9$, coníferas até $1,00 \text{ OCH}_3/C_9$ e folhosas entre $1,40$ e $1,60 \text{ OCH}_3/C_9$ ^{28, 29}.

Capítulo 3

- COMPORTAMIENTO ALELOPÁTICO

3.1 DEFINIÇÃO

O termo "alelopatia" foi criado em 1937, pelo pesquisador alemão Hans Molisch⁴⁷, com a reunião das palavras gregas "*allélon*" e "*pathos*" que significam respectivamente, *mútuo* e *prejuízo*. Segundo Molisch, alelopatia é "a capacidade de as plantas superiores ou inferiores produzirem substâncias químicas que, liberadas no ambiente de outras influenciam de forma favorável ou desfavorável o seu desenvolvimento". O conceito engloba atualmente o reino animal, com o reconhecimento de que a alelopatia se processa entre eles e entre plantas e animais. As interferências alelopáticas raramente são provocadas por uma única substância, são provocadas por várias e mesmo por associação destas. A forma de atuação dos compostos alelopáticos também não é específica. As funções prejudicadas "alteradas" com maior frequência são a assimilação de nutrientes, o crescimento, a fotossíntese, a respiração, a síntese de proteínas, a permeabilidade da membrana celular e a atividade enzimática^{47, 48}.

Presentes em todos os seres vivos, as substâncias alelopáticas são encontradas em maior quantidade e diversidade nas plantas. Distribuem-se por todos os seus órgãos de maneira não-uniforme, mas geralmente a concentração é maior na epiderme das folhas e nas raízes^{47, 48}.

Na natureza, a alelopatia confunde-se com outras interferências existentes entre as plantas, como a competição e, por isso, alguns autores colocam sua existência em dúvida⁴⁸. Os dois conceitos, porém, são bastante distintos: enquanto a competição se dá pela retirada ou redução de fatores do meio ambiente, como água, nutrientes e luz, a alelopatia se caracteriza pela introdução de novos fatores "os compostos químicos" no ambiente, que provocam alterações em outros seres⁴⁸.

De fato, os cientistas têm observado uma interferência causada por algumas plantas sobre o desenvolvimento de outras. Um grupo de pesquisadores da ESALQ (Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz), Universidade de São Paulo, demonstrou que a erva daninha *Cyperus rotundus*, a conhecida tiririca, reduz drasticamente a produção e o peso dos frutos da abobrinha *Cucurbita moschata*⁴⁷.

Desde a época de Plínio (23-79 d.C.) é conhecido o efeito de algumas espécies de noqueira (*Juglans* spp.), inclusive a espécie produtora das conhecidas

nozes, sobre outras plantas que crescem próximas. Segundo os relatos, seus efeitos adversos atingem pinheiros, macieiras, batatas e cereais⁴⁷.

Em 1925, pela primeira vez a ciência começou a explicar as causas do fenômeno quando A.B. Massey⁴⁸ observou que morriam todos os tomatinhos plantados a uma distância de até 16 metros do tronco da nogueira, enquanto os pezi-nhos de tomate plantados além dessa distância se desenvolviam bem. Como essa distância coincidia com a extensão das raízes da nogueira, ele supôs que as raízes liberassem no solo uma substância tóxica para outras plantas. Depois descobriu-se que a área da copa da árvore também influía no fenômeno e demonstrou-se que as folhas da nogueira produziam uma substância que era extraída pela umidade e, ao penetrar no solo, sofria hidrólise e oxidação, transformando-se em uma naftoquinona, toxina que recebeu o nome juglona. A substância produzida era inofensiva para a própria nogueira, porém, uma vez no solo, passava a ser extremamente tóxica para outras plantas, levando-as à morte e, inclusive, inibindo a germinação de sementes⁴⁹.

3.2 FUNÇÃO PROTETORA

A função principal das substâncias alelopáticas é a proteção dos organismos que as produzem. A condição natural dos seres vivos é a de serem saudáveis, o que é propiciado em grande parte pela presença de produtos secundários que os defendem dos inimigos. A identificação dessas substâncias, em diversas culturas, auxilia os especialistas em melhoramento genético na criação de genótipos mais resistentes a bactérias, fungos e insetos⁵⁰.

O emprego prático da alelopatia pode não levar ao controle total das espécies prejudiciais, sejam elas fungos, insetos ou ervas. A ação dos produtos secundários é essencialmente inibidora reduzindo populações ou afetando o desenvolvimento e o vigor dos organismos atingidos⁵⁰. No entanto, se esta inibição “alteração”, ajudar a manter o equilíbrio biológico das espécies sem causar dano às culturas ou ao meio ambiente estará sendo atingido o almejado objetivo ecológico, de melhorar a produtividade do vegetal em questão⁵⁰.

3.3 APLICABILIDADE PARA A EMBAÚBA (*cecropia adenopus*)

O comportamento alelopático de algumas plantas tem permitido o estudo de metabolitos secundários com propriedades biocidas e farmacológicas.

Sabe-se que as plantas possuem o seu próprio mecanismo de defesa e os aleloquímicos são, de fato, herbicidas naturais⁵¹.

Como a embaúba (*Cecropia adenopus*) é usada no tratamento de diabetes, tosse, bronquite e apresenta poderoso efeito diurético e como estas plantas são nativas em nossa região, ocorrem com abundância as margens de florestas nativas ou em recomposição e sendo uma espécie muito utilizada em reflorestamento ou recuperação de área⁵²⁻⁵⁵, estas devem então, competir diretamente com ervas daninhas em função de germinação e desenvolvimento, devendo assim ter um grande poder alelopático. Para verificação do comportamento alelopático da embaúba, neste trabalho usou-se para teste o *Panicum maximum* (capim-colonião), sendo que os resultados deste teste são apresentados no capítulo 5, item 5.2.

Capítulo 4

- METODOLOGIA

Para este trabalho foram utilizadas, todas as partes de uma planta de embaúba, com aproximadamente 5 anos, cultivada na região de Uberaba, MG.

A metodologia empregada nesse trabalho consiste de análise química por via úmida, métodos cromatográficos e espectroscópicos.

4.1 AMOSTRAGEM MOAGEM E CLASSIFICAÇÃO DA MADEIRA⁵⁶

Separou-se as partes de uma árvore de embaúba, a ser analisada, transformando-as em pedaços (cavacos), por meio de um picador laboratorial. Coletando uma amostra representativa dos cavacos de tamanho suficiente para a realização das análises a serem efetuadas, aproximadamente 500,00 gramas de cada parte (peso seco).

Moeu-se os cavacos em moinho de bolas. Para moagem, foi utilizado um moinho de bolas de porcelana, do Laboratório de Química da Madeira do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia (IQUFU). Separou-se a madeira com granulometria inferior a 40 e superior a 60 mesh, descartando-se a fração que não passou pela peneira de 40 mesh e a que passou pela peneira de 60 mesh. A amostra da madeira após a secagem foi então armazenada em frasco de boca larga com tampa de vedação.

4.2 ALELOPATIA^{55,57}

Este estudo consistiu em criar um ambiente estéril com luminosidade e temperatura constantes, onde as sementes da espécie escolhida foram colocadas para se verificar o índice de germinação e o desenvolvimento das plantas germinadas, por conseguinte, o poder de interferência na germinação e desenvolvimento (alelopatia) das substâncias químicas extrativas da espécie em estudo (embaúba), sobre as sementes em análise, no que se refere à germinação e desenvolvimento.

Utilizou-se de placas de petri como sendo mini estufas estéreis, nas quais se pode controlar a temperatura, umidade e a luminosidade. Todo o material necessário vidraria, reagentes, capela de fluxo laminar, e outros foram esterilizados. 400,00 g de cada material (tronco, raiz e casca) foram triturados para granulometria menor de 40 mesh e, em seguida, colocados em imersão em 2,00 L de metanol PA e deixados em repouso para extração durante 48 horas. Após este período, cada material foi filtrado e o solvente recuperado em um evaporador rotativo.

Os extratos então obtidos foram diluídos em água deionizada e estéril, para as concentrações de: 50, 75, 100 e 150 ppm, perfazendo um volume de 5 mL.

Em cada unidade experimental, placa de petri esterilizada, adicionou-se os extratos em seguida 60 sementes, com quebra de dormência. Este procedimento foi realizado sempre com três repetições (triplicata) e mantido com fotoperíodo de 8 horas e temperatura constante de 25°C, em ambiente estéril durante 18 dias, em condições de igualdade para todas as placas. Sendo cada placa envolvida, por um filme plástico transparente, para manter a integridade do ambiente estéril, concentração de umidade e valores homogêneos de temperatura.

Os resultados obtidos, referentes ao número de sementes germinadas e tamanho da parte aérea das plantas germinadas (desenvolvidas), foram comparados com o branco “controle”, este preparado nas mesmas condições, porém isento de extratos.

4.3 DETERMINAÇÃO DE UMIDADE

Para determinação da umidade existente na madeira, utilizou-se uma balança de luz infravermelha da marca Kett, modelo FD-600. Uma amostra de madeira 40/60 mesh, de aproximadamente 1,000 g, foi deixada a uma temperatura de 105°C por 15 minutos ou até que o teor de umidade permanecesse constante.

4.4 DETERMINAÇÃO DE CINZAS⁵⁸

Cadinhos com tampas e resistentes a altas temperaturas, foram colocados em uma mufla e aquecidos a $575 \pm 25^\circ\text{C}$ por uma hora. Após este período, os mesmos foram resfriados em dessecador até peso constante e tarados com precisão de 0,1 mg. Em seguida, 5,000 g das amostras de madeira secas foram colocadas nos cadinhos e incineradas, então os cadinhos foram tampados e levados à mufla até $575 \pm 25^\circ\text{C}$ durante uma hora. Retirou-se as tampas dos cadinhos e continuou-se a incineração por mais 3 horas. Em seguida colocou-se em um dessecador até temperatura constante e determinou-se a diferença em relação à massa inicial da amostra⁵⁸.

4.5 PREPARAÇÃO DA MADEIRA PARA DETERMINAÇÃO DA LIGNINA KLASON, HEMICELULOSE-A, HEMICELULOSE-B, α -CELULOSE E HOLOCELULOSE^{56, 59, 60}

Pesou-se 20,000 g da madeira a.s. 40/60 mesh e adicionou-se no cartucho de papel, que foi ajustado ao extrator do Soxhlet. Adicionou-se 150,00 mL de etanol 95% no balão de 500,00 mL, conectando-se em seguida o condensador e iniciando o fluxo de água. Ajustou-se o aquecimento, de modo a obter de 15 a 20 sifonadas por horas. Depois de completada a extração removeu-se o cartucho de papel do extrator Soxhlet e secou-se à temperatura ambiente até peso constante.

Determinou-se o rendimento do extrato E_1 . Repetiu-se o procedimento, usando o mesmo cartucho, sucessivamente com água quente e etanol:benzeno (1:2,v/v), obtendo-se os extratos E_2 e E_3 respectivamente.

4.5.1 DETERMINAÇÃO DA LIGNINA INSOLÚVEL EM ÁCIDO (LIGNINA KLASON)^{38,56, 59, 60}

Pesou-se 1,000 g de madeira livre de extrativos (40/60 mesh) e transferiu-se para um béquer, adicionou-se 15,00 mL de solução de ácido sulfúrico 72% (em massa), lentamente, e sob constante agitação. A mistura ficou em repouso por duas horas à temperatura ambiente sob agitação freqüente. Em seguida, adicionou-se 560,00 mL de água, de modo a obter-se a porcentagem de ácido sulfúrico igual a 3% (em massa). Colocou-se a solução em refluxo sob agitação por quatro horas para manter o volume constante. Depois disso, deixou-se a solução esfriar, filtrou-se e lavou-se o resíduo até pH neutro. Secou-se o resíduo em estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$, até peso constante. Determinou-se o rendimento.

4.6 DETERMINAÇÃO DE HOLOCELULOSE^{38, 45, 61}

Pesou-se 5,000 g de madeira livre de extrativos (40/60 mesh) em um frasco de erlenmeyer de 250,00 mL. Adicionou-se 110,00 mL de água destilada, 3,00 mL de ácido acético glacial, 22,00 mL de solução de acetato de sódio a 20% e 9,00 mL de solução de clorito de sódio a 40%, respectivamente. Homogeneizou-se a mistura com agitação tampando com um frasco erlenmeyer de 100,00 mL invertido (para evitar a saída prematura de gases) e colocou-se em banho-maria a 75°C por 1 hora para que a reação se complete agitando freqüentemente. Esta rea-

ção foi em capela, com o máximo de cuidado, pois, poderia haver formação de dióxido de cloro, que é um gás tóxico e muito explosivo. Repetiu-se a adição dos reagentes até se obter uma celulose de coloração branca.

Ao fim da cloritação, o frasco foi colocado em banho de gelo até que o conteúdo tivesse abaixo de 10°C em seguida filtrou-se em um cadinho de vidro sinterizado de 60,00 mL de capacidade, porosidade grossa, previamente tarado, usando vácuo. Lavou-se o filtrado com cerca de 1000 mL de água destilada a 5°C, ou até que o resíduo fibroso apresentasse uma coloração esbranquiçada, em seguida lavou-se com duas porções pequenas de acetona (cerca de 10,00 mL em cada uma) e aspirou-se até a holocelulose ficar relativamente seca. Secou-se em estufa a 70°C até peso constante. Calculou-se o rendimento.

4.7 DETERMINAÇÃO DE HEMICELULOSES E α -CELULOSE^{45, 62}

4.7.1 HEMICELULOSE-A^{45, 62}

Pesou-se 3,000 g de holocelulose e transferiu-se para um frasco de erlenmeyer de 250,00 mL. Em seguida adicionou-se 100,00 mL de hidróxido de potássio a 5%, faz-se uma atmosfera inerte pela passagem de gás nitrogênio, durante 10 minutos iniciais da extração. O frasco vedado com uma rolha foi então colocado em banho-maria a uma temperatura de 25°C homogeneizou-se bem por um tempo total de extração de duas horas agitando-se o frasco a cada 10 minutos. Filtrou-se a mistura em cadinho de vidro sinterizado de porosidade média, previamente tarado, recolhendo-se o filtrado em quitasato de 500,00 mL.

Em seguida, lavou-se o resíduo fibroso com 50,00 mL de KOH 5%, e a seguir com 150,00 mL de água destilada. Transferiu-se o filtrado, inclusive as lavagens, para um frasco erlenmeyer de 1,00L lavou-se o quitasato com uma solução de partes iguais de ácido acético e etanol 95%. Completou-se o volume do erlenmeyer com essa solução e misturou-se bem. Deixou-se o precipitado assentar, filtrou-se em um cadinho filtrante, lavou-se o resíduo com água destilada até a água de lavagem ficar neutra. Em seguida, secou-se o precipitado até peso constante. A diferença entre o precipitado obtido e a massa inicial é denominada Hemicelulose-A. Calculou-se o rendimento.

4.7.2 HEMICELULOSE-B^{45, 62}

Transferiu-se o resíduo fibroso, retido no cadinho filtrante e obtido no procedimento de determinação da Hemicelulose-A, para um erlenmeyer de 250,00 mL e repetiu a operação de extração, do mesmo modo que o de Hemicelulose-A mas, usando-se dessa vez, solução de KOH a 24%. Após a extração, filtrou-se a mistura no mesmo cadinho filtrante, usado anteriormente, utilizando um quitasato de 500,00 mL. Lavou-se sucessivamente com 25,00 mL de ácido acético e 100,00 mL de água destilada. Transferiu-se o filtrado, inclusive as lavagens, para um erlenmeyer de 1,00 L lavando-se o quitasato com uma solução de partes iguais de ácido acético e etanol a 95% e completando-se o volume do erlenmeyer com essa solução. Deixou-se o precipitado assentar, filtrou-se em um cadinho filtrante e lavou-se o resíduo com água destilada até a água de lavagem ficar neutra. Em seguida, secou-se o precipitado em um liofilizador a 25°C, até peso constante. A diferença entre o precipitado obtido é a massa inicial é denominada Hemicelulose-B. Calculou-se o rendimento.

4.7.3 α - CELULOSE

Lavou-se o resíduo insolúvel retido no cadinho filtrante do procedimento de determinação da Hemicelulose-B com água destilada, até a água de lavagem ficar neutra. Lavou-se a seguir com 50,00 mL de acetona e secou-se até peso constante, obtendo-se então a α -Celulose, como resíduo final. Calculou-se o rendimento.

4.8 ANÁLISE DOS EXTRATIVOS VOLÁTEIS⁴⁴

Foram analisados os extratos da casca, tronco, raízes e folhas de embaúba de região de Uberaba-MG, por CGEM, com o intuito de analisar os compostos voláteis, como ácidos graxos e outros. Para obtenção destes extratos, com a finalidade de se preservar os compostos voláteis, foram realizadas as seguintes extrações:

4.8.1 EXTRAÇÃO COM DICLOROMETANO EM APARELHO SOXHLET⁶³

Pesou-se o equivalente a 30,000 g da madeira 40/60 mesh e adicionou-se no cartucho de papel, que posteriormente foi ajustado ao extrator Soxhlet. Adicionou-se 150,00 mL de diclorometano no balão de 500,00 mL, conectando-se, em seguida o condensador e iniciando o fluxo de água. Ajustou-se o aquecimento de modo a obter de 4 a 6 sifonadas por horas durante 5 horas. Depois de completada a extração, removeu-se o balão e recuperou-se o solvente em um evaporador rotativo até um volume de 50,00 mL. Transferiu-se a metade desse volume para uma cápsula de porcelana previamente tarada e secou-se seu conteúdo em estufa a 105°C por 1 hora, resfriou-se em dessecador e pesou-se com precisão de 0,0005 g, calculando-se o rendimento, e submeteu-se o extrato à análise por CGEM, onde os resultados obtidos serão apresentados no item 5.9.

4.8.2 EXTRAÇÃO COM APARELHO DE CLEVINGER⁶³

Pesou-se 50,000 g de madeira 40/60 mesh, e colocou-se num balão de 1000,00 mL, juntamente com 350,00 mL de água bidestilada, ajustando-se o balão ao aparelho de Clevenger e submeteu-se à destilação durante 5 horas (Figura 23). Separou-se o óleo por decantação. Em seguida diluiu-se o óleo em 5,00 mL de diclorometano, e submeteu-se o extrato à análise por CGEM, onde os resultados obtidos serão apresentados no item 5.9.

4.8.3 EXTRAÇÃO COM SOLVENTE EM CONTRACORRENTE (CLEVINGER MODIFICADO)⁶⁴

Trata-se de um método para análise quantitativa de óleo essencial, que usa destilação e extração simultâneas com vapor de água ⁶⁴. O aparelho é mostrado na Figura 23. A vantagem principal, é que nenhuma evaporação adicional é requerida. O método permitiu a análise quantitativa do conteúdo de óleo de essencial total e da porcentagem das combinações individuais em menos de 4 h, inclusive preparação de amostra, destilação e extração simultaneamente. Submeteu-se o extrato à análise por CGEM, onde os resultados obtidos serão apresentados no item 5.9.

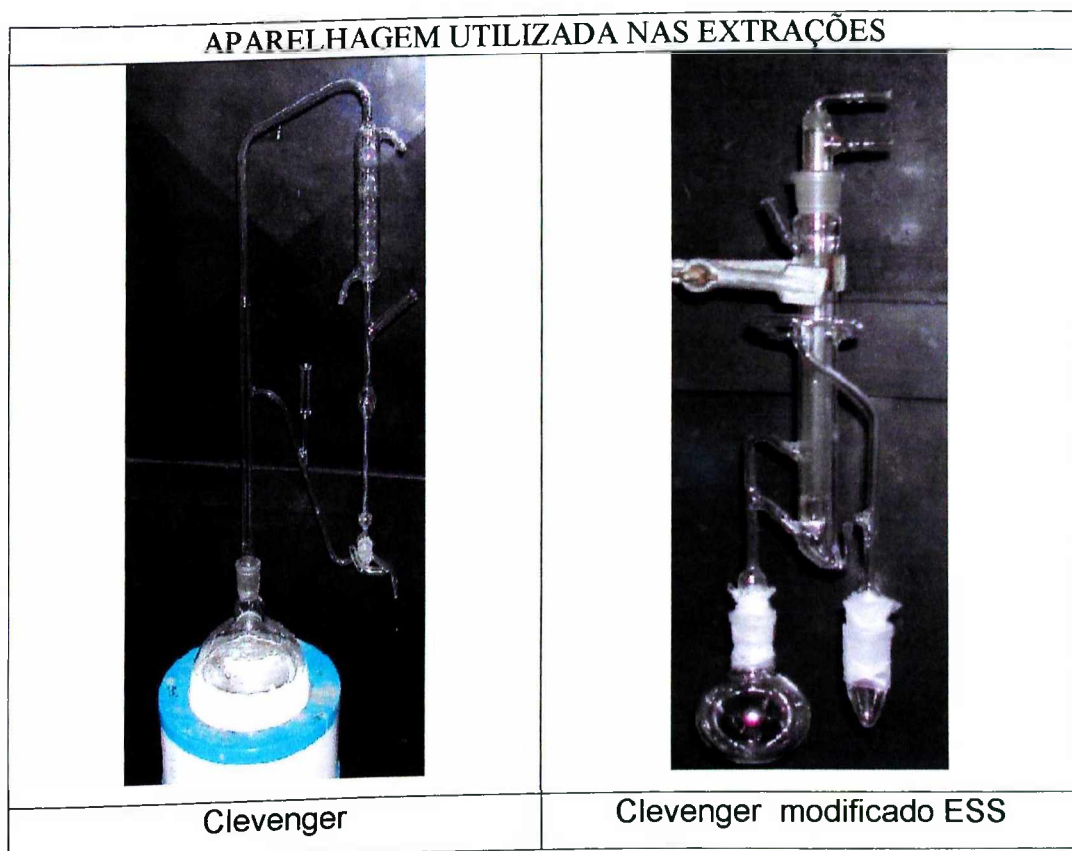


Figura 23. Aparelhos extratores de compostos voláteis. Fonte: GERALDO B. LONDE/2003.

4.8.4 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS^{63, 66}

As análises de CGEM, foram realizadas em um aparelho da Shimadzu modelo QP 5000 a 70 eV e uma coluna DB1 de 30 m e 0,25 de DI, com o seguinte programa de aquecimento: 50°C (5 min); 250°C (16°C/min); 250°C (30 min). As identificações dos compostos foram feitas por comparação com os dados espectrais da biblioteca de espectros Wiley do aparelho e comparados com índice de retenção de Kovat⁶⁶.

4.9 ISOLAMENTO DA LMM DE EMBAÚBA^{28, 38}

Após moagem e separação dos extrativos, a lignina foi obtida por meio de extração em Soxhlet conforme esquema descrito a seguir (Figura 24).

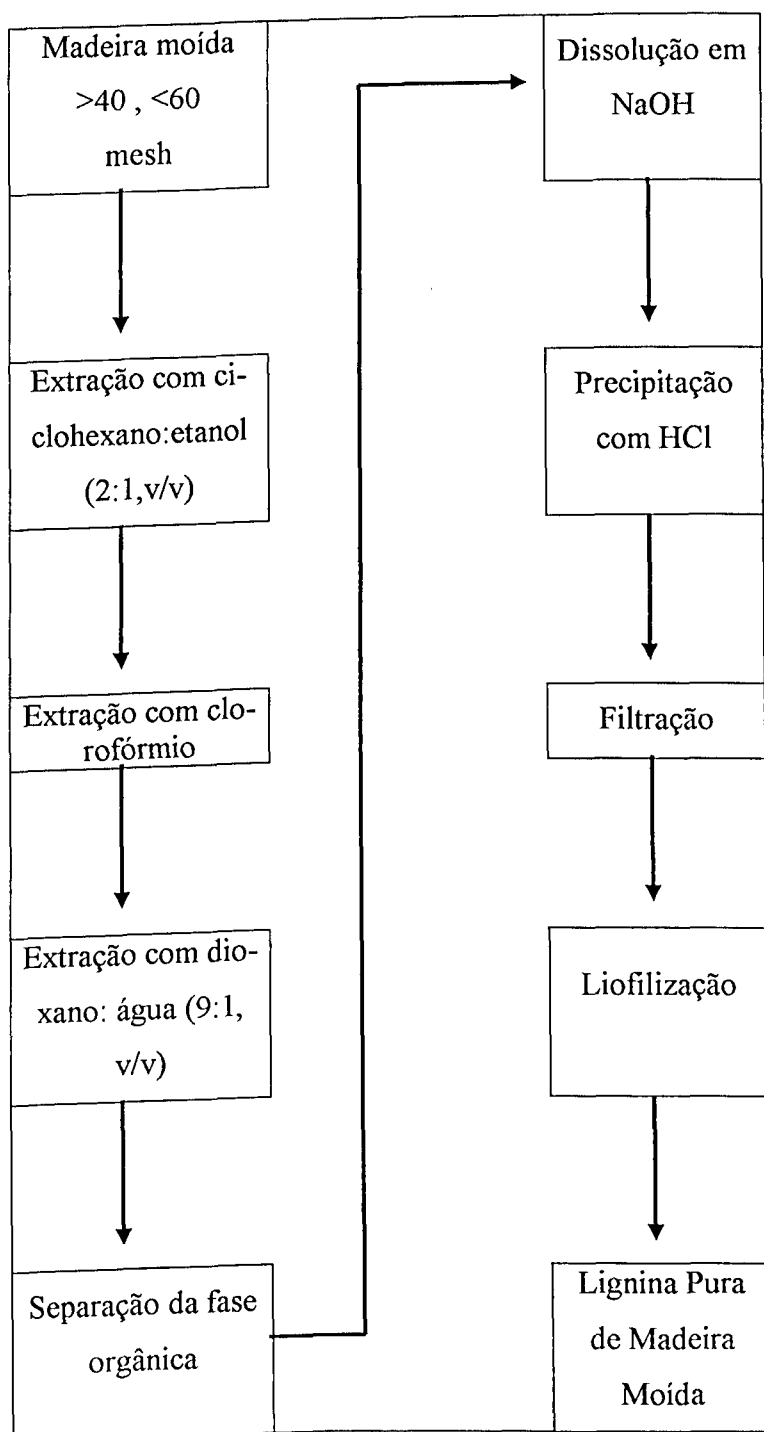


Figura 24. Roteiro para extração de LMM.

140,000g de madeira de embaúba moída (40/60 mesh) foi extraída em um aparelho soxhlet com dioxano:água (96:4, v/v) durante 24 horas. Centrifugou-se o extrato. Extraíu-se novamente a madeira com dioxano:água (96:4, v/v) durante 24 horas e centrifugou-se o extrato obtido. Repetiu-se esse procedimento mais uma

vez. Combinou-se os três extratos recuperando-se o solvente. Prosseguiu-se como no esquema 1 (Figura 24).

4.10 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA LIGNINA DE MADEIRA MOÍDA DE EMBAÚBA

4.10.1 DETERMINAÇÃO DE GRUPOS METOXÍLICOS, UNIDADES SÍRINGÍLICAS, GUAÍACÍLICAS E P-HIDROXIFENÍLICAS POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (IVTF)^{28, 67-73}

O presente estudo restringiu-se à análise dos espectros da LMM registrados no IVTF para a determinação de grupos metoxílicos, segundo o método sugerido por Sarkanen e colaboradores, segundo Schultz e Glasser e também pelo método sugerido por Faix e colaboradores; e para o estudo das porcentagens de unidades síringílicas, guaiacílicas e *p*-hidroxifenílicas da lignina, pelo método proposto por Faix e colaboradores²⁸.

4.10.2 MICROANÁLISE

As análises elementares foram realizadas pelo Serviço de Microanálise da USP, São Paulo, determinando-se os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio.

4.10.3 DETERMINAÇÃO DA FÓRMULA MÍNIMA^{25, 28}

Conhecendo-se as porcentagens de C, H, O e OCH₃, foi possível estabelecer uma fórmula mínima para lignina da embaúba, fundamentada na sua unidade fenil-propanóide (C₉).

4.10.4 HIDROXILAS FENÓLICAS

Esta determinação foi realizada para verificação da presença deste grupo funcional.

Vários métodos podem ser empregados, na determinação de hidroxilas fenólicas e grupos carboxílicos²⁸. Nesse trabalho empregou-se a titulação condutivimétrica²⁸. Em que, para isto: solubilizou-se 29,000 mg em 30,00 mL da mistura

acetona:etanol:água (5:10:15, v/v/v). Antes de cada leitura no condutivímetro, a solução foi agitada. Após a adição de cada gota de hidróxido de sódio 0.49 M, registrou-se os valores das respectivas condutâncias. Essas titulações foram realizadas em um condutivímetro, do Laboratório de Química da Madeira.

Assim, a porcentagem de hidroxilas fenólicas e a sua quantidade molar por fórmula mínima, foram calculadas pelas fórmulas:

Determinação de %OH fenólicas (Equação 1).

$$\% \text{ OH fenólicas totais} = \frac{M.V.1700}{m}$$

Determinação de OH fenólicas totais/C₉ (Equação 2).

$$\text{OH fenólicas totais/C}_9 = \frac{M.V. \text{ MM/C}_9}{m}$$

Em que:

M: molaridade da solução de hidróxido de sódio;

V: volume, em mL, de hidróxido de sódio gasto na titulação;

m: massa da amostra, mg;

MM/C₉: massa molecular da lignina por unidade C₉, segundo Sarkanen^{28, 67}

4.10.5 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER^{37, 67}

Os espectros de infravermelho foram registrados em um espectrômetro Shimadzu, modelo FTIR 8101 do IQUFU, em pastilhas contendo 1% de amostra em KBr, trituras por um período de 20 minutos²⁸.

4.10.6 ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

Os espectros de ressonância (RMN de ¹H, RMN de ¹³C, fase líquida) foram registrados em um espectrômetro Bruker de 400 MHz.

Devido à dificuldade de solubilização de ligninas nos solventes usualmente empregados para obtenção de espectros em RMN, realiza-se primeiro sua acetilação, uma vez que a lignina acetilada é bastante solúvel em solventes orgânicos.

Para acetilação, foram colocadas em um balão de boca esmerilhada, 100,00 mg de lignina seca e 10,00 mL de mistura anidrido acético:piridina (1:1, v/v). Em seguida deixou-se a solução resultante sob refluxo a 50°C por 24 horas. Ao final deste tempo a solução foi diluída com água até que houvesse a formação de precipitado. A mistura foi então filtrada, e o precipitado obtido foi lavado seguidamente com água, solução de ácido clorídrico diluída (10%) e novamente com água. O precipitado foi liofilizado até peso constante²⁸.

Assim, após a acetilação da lignina, procedeu-se os experimentos para RMN.

4.10.7 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS⁴⁵

A determinação de proteínas foi calculada, pela relação entre a porcentagem de Nitrogênio, determinada na microanálise (item 4.10.2), multiplicado por 6,25%.

Capítulo 5

- RESULTADOS E DISCUSSÕES

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 AMOSTRAGEM DA MADEIRA^{1-4,56}

Observou-se que as árvores com idades inferiores a 3 (três) anos não são adequada para as análises por apresentarem muito tecido jovem, com grande quantidade de umidade, sem representatividade na obtenção de extrativos, baixa resistência ao corte, elevado grau de umidade e por não serem indicadas para uso em medicina popular. Árvores sadias com idade próxima de 5 (cinco) anos foram as que se mostraram adequadas para as análises propostas no trabalho.

5.2 ALELOPATIA^{47-51, 54}

Neste trabalho usou-se para teste o *Panicum maximum* (capim-colonião) por já se conhecer bem as técnicas de quebra de dormência e cuidados para a germinação. Os resultados dos testes são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Efeito alelopático dos extratos metanólicos de embaúba sobre o crescimento e germinação do capim-colonião

EXTRATOS / ATIVIDADES	CRESCIMENTO MÉDIO /			GERMINAÇÃO		
	CRESC. cm	% CRESC.	% INIB.	quant GERM.	% GERM.	% INIB. GERM.
CONTROLE	2,22	100,00	0,00	44,00	100	0
CASCA 50 ppm	2,03	91,54	8,46	37,33	84,85	15,15
CASCA 75 ppm	1,80	81,20	18,80	33,67	76,52	23,48
CASCA 100 ppm	1,72	77,63	22,37	34,67	78,79	21,21
CASCA 150 ppm	1,40	63,10	36,90	34,67	78,79	21,21
TRONCO 50 ppm	2,22	99,80	0,20	42,33	96,21	3,79
TRONCO 75 ppm	1,93	86,73	13,27	41,67	94,70	5,30
TRONCO 100 ppm	1,76	79,09	20,91	36,33	82,58	17,42
TRONCO 150 ppm	1,64	73,76	26,24	34,00	77,27	22,73
RAIZ 50 ppm	1,65	74,12	25,88	32,33	73,48	26,52
RAIZ 75 ppm	1,20	54,02	45,98	25,67	58,33	41,67
RAIZ 100 ppm	1,04	46,81	53,19	20,00	45,45	54,55
RAIZ 150 ppm	0,81	36,46	63,54	18,00	40,91	59,09

O potencial fitotóxico destes extratos foi verificado por meio de bioensaios de germinação e desenvolvimento da parte aérea.

Os resultados demonstraram que os extratos metanólicos influenciaram significativamente nos fenômenos fisiológicos do *P. maximum*, observando-se modificações no processo germinativo e também de crescimento, da parte aérea em relação ao branco (controle).

Na germinação usando-se extrato de tronco, raiz e casca, as inibições foram de 23%, 59% e 21%, respectivamente, numa concentração de 150 ppm. Nesta mesma concentração, os valores correspondentes de interferência no desenvolvimento da parte aérea das plantas, foram de 26%, 64% e 37%, respectivamente, conforme mostrado nas Figuras 25, 26, 27 e 28 e demonstrado nos gráficos (Figuras 29 e 30).

Portanto, observou-se que o extrato da raiz provocou maior inibição no número de sementes germinadas, em todas as concentrações do teste tendo o seu efeito elevado proporcionalmente ao aumento da concentração, até 100 ppm. 'Acima desta concentração, observou-se que seu efeito é pouco afetado com a elevação da concentração deste extrato'. Ao contrário do extrato do tronco, que apresentou um efeito sobre a germinação das sementes até 75 ppm. Acima desta concentração não se constatou mais influência sobre a germinação das sementes do *P. maximum*.

O extrato da casca apresentou um efeito insignificante sobre a germinação das sementes do *P. maximum*, até 75 ppm. Entre 75 e 100 ppm, apresentou sua maior influência sobre a germinação das sementes e acima disto passou a ter um efeito semelhante ao extrato do tronco. Portanto, o extrato da raiz, apresentou o maior efeito alelopático sobre a germinação do *P. maximum*.

O efeito dos extratos de embaúba sobre o desenvolvimento das sementes de *P. maximum*, germinadas ocorreu de forma análoga ao efeito sobre a germinação de sementes. O maior efeito foi apresentado pelo extrato da raiz e este apresentou um ápice, para a concentração igual a 100 ppm. Acima disto, seu efeito pouco se alterou com a elevação da concentração do extrato.

Os extratos do tronco e casca apresentaram um discreto efeito sobre o desenvolvimento das sementes até 75 ppm, acima disto seu efeito foi muito pequeno, considerando-se, a proporção da elevação da concentração dos extratos.

Aparentemente foram idênticos os efeitos sobre germinação e desenvolvimento das sementes do *P. maximum* provocados pelos extratos da embaúba, suge-

rindo se tratar talvez, das mesmas substancias química ou composição atuante nestes processos e que se concentrariam mais nas raízes deste vegetal.

Estampas quadriculadas em 1x1 cm

CONTROLE ou BRANCO.



Figura 25. Sementes germinadas livres de extratos (controle ou branco).

Fonte: GERALDO B. LONDE/2003.

Tronco

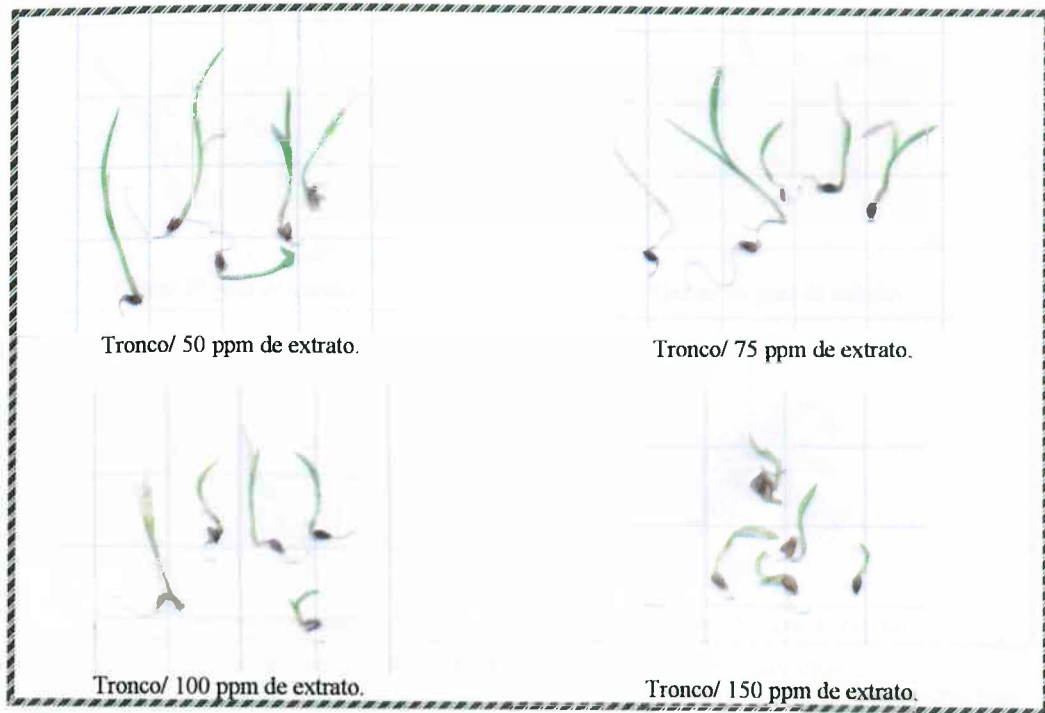
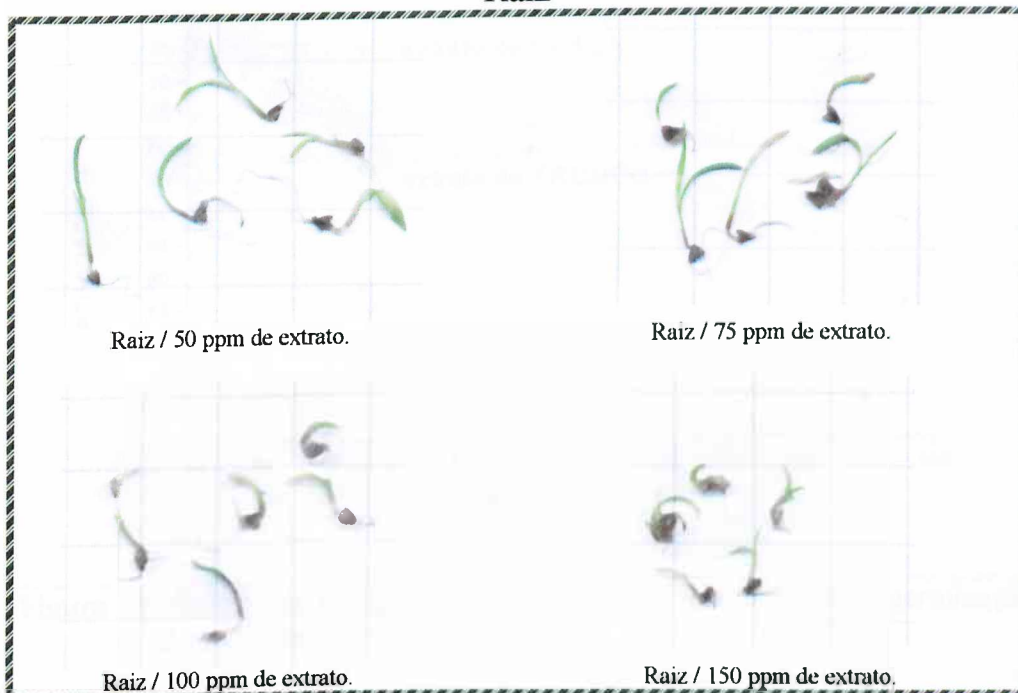


Figura 26. Sementes germinadas sob efeito dos extratos do tronco.

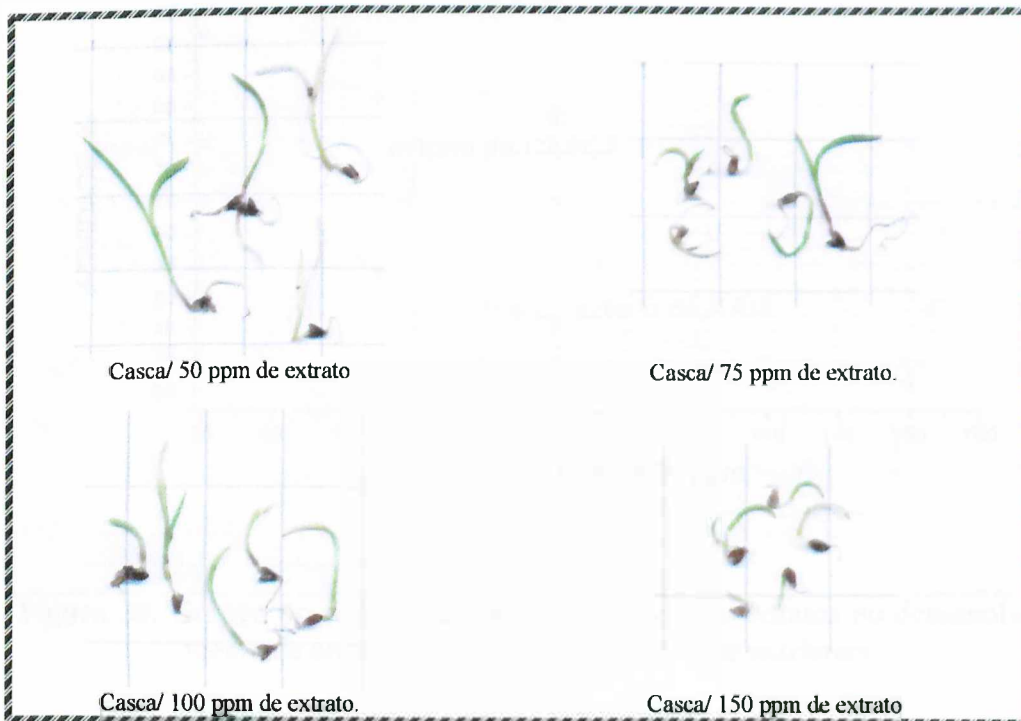
Fonte: GERALDO B. LONDE/2003.

Raiz

**Figura 27.** Sementes germinadas sob efeito dos extratos das raízes.

Fonte: GERALDO B. LONDE/2003.

CASCA

**Figura 28.** Sementes germinadas sob efeito dos extratos das cascas.

Fonte: GERALDO B. LONDE/2003.

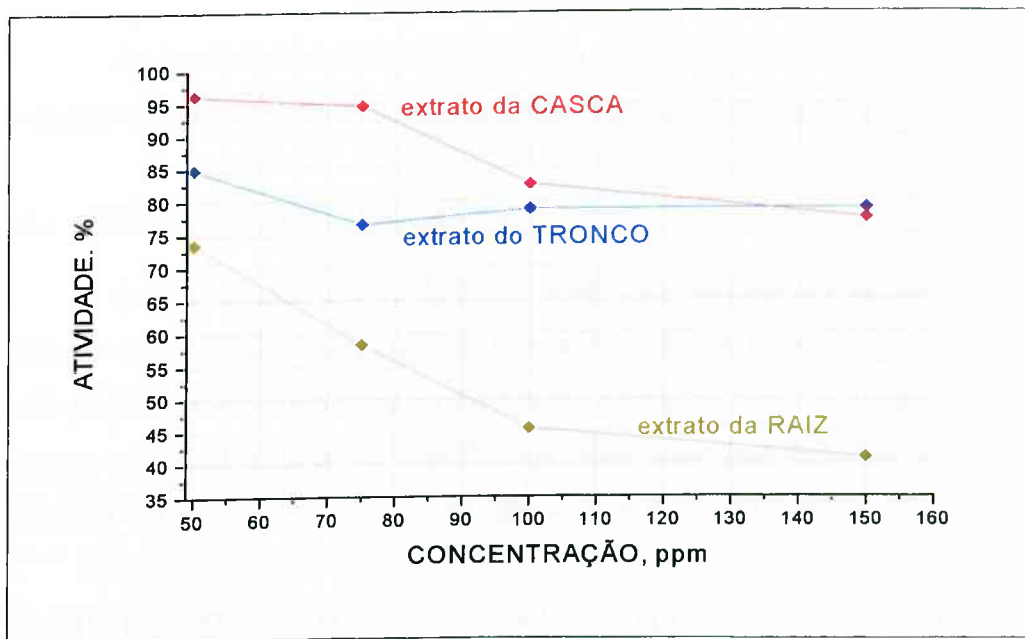


Figura 29. Gráfico do comportamento alelopático dos extratos na germinação de sementes de *Panicum maximum*.

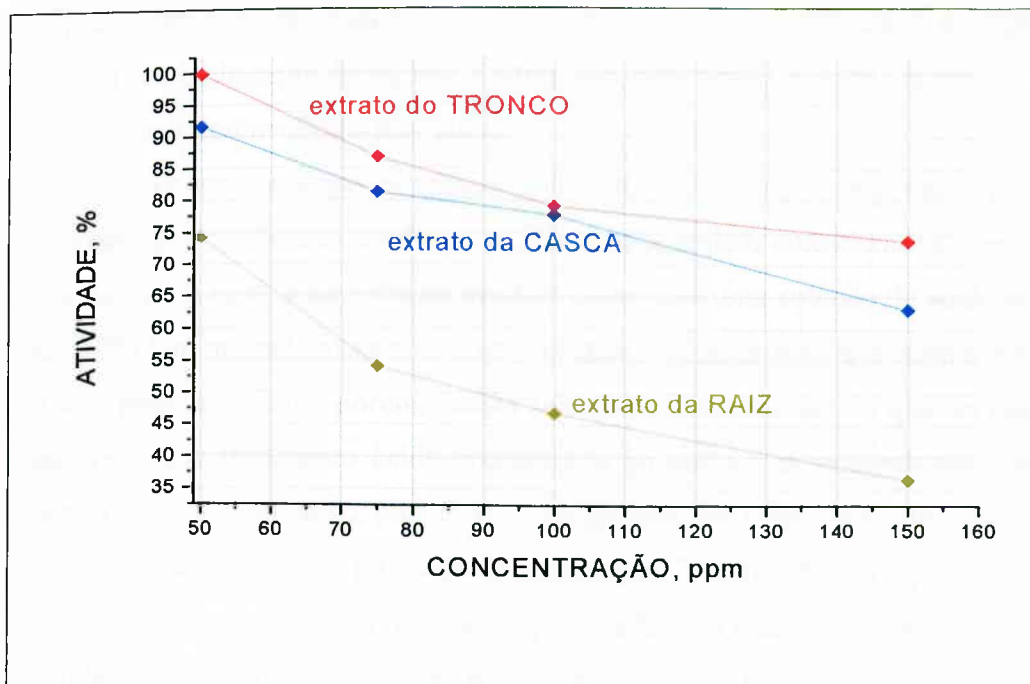


Figura 30. Gráfico do comportamento alelopático dos extratos no desenvolvimento de sementes germinadas de *Panicum maximum*.

5.3 DETERMINAÇÃO DE UMIDADE

As amostras apresentaram em média 8,5% de umidade. Valor este que foi considerado nos cálculos referentes à composição geral da madeira.

5.4 DETERMINAÇÃO DE CINZAS⁵⁸

O valor encontrado foi de 0,3%, sendo esta, provavelmente, composta por óxidos de metais alcalinos, alcalinos terrosos e silicatos, uma vez que estas cinzas são freqüentemente utilizadas na fabricação de sabões caseiros e mesmo por tornarem rosa uma solução de fenolftaleína. Este valor está próximo ao da media descrita em literatura para madeiras, que seria de 0,5% em média^{12, 28}.

5.5 DETERMINAÇÃO DA LIGNINA INSOLÚVEL EM ÁCIDO (LIGNINA KLASON)^{38, 59, 60}

Esse procedimento consistiu em quantificar, por método gravimétrico, o teor de lignina insolúvel em ácido por meio da dissolução dos carboidratos em que os polissacarídeos são hidrolisados, liberando as “macromoléculas” de lignina. Lignina total, chamada de lignina Klason, por estar sendo isolada segundo o método original desenvolvido pelo autor.

Após a retirada dos extrativos, pois estes poderiam provocar um erro nesta determinação por formar produtos insolúveis que seriam considerados como lignina na massa final, a amostra de madeira reage com uma solução de ácido sulfúrico 72% (em massa) lentamente e sob constante agitação para que ocorra hidrólise dos polissacarídeos, porém, outras substâncias insolúveis, ou que se tornem insolúveis sob tratamento ácido concentrado ou ainda que se combinem com a lignina durante o processo, podem aparecer gerando um erro nesta determinação.

Pode-se destacar produtos da degradação de carboidratos e proteínas, alguns constituintes minerais, extrativos polifenólicos e outros. Isto reforça a recomendação, para que sejam feitas sucessivas extrações para remoção dos extrativos²¹. Segundo a literatura a composição média de lignina em madeiras é; coníferas de 25 – 30% e folhosas de 20 – 25%¹⁰.

Encontrou-se nestas determinações o valor médio para lignina Klason, igual a 25,1%, correspondendo ao teor total. A madeira em estudo não apresentou lignina solúvel na água de lavagem em quantidade significativa. Portanto, a ligni-

na de embaúba se encontra dentro do esperado, tratando-se, provavelmente de uma conífera, porém bem próximo do valor máximo esperado para folhosas (Tabela 1, página 29).

5.6 DETERMINAÇÃO DE HOLOCELULOSE^{38, 45, 61}

A fração da madeira constituída de polissacarídeos é denominada de holo-celulose (polissacarídeos de fácil e de difícil hidrólise). Eles existem associados com a lignina e por oxidação podem ser liberados.

Vale ressaltar, que o método utilizado pode reter uma porção ainda que pequena de lignina residual ou produtos de sua degradação, bem como, degradar uma pequena fração de carboidratos durante o procedimento⁴⁵.

O valor médio para holocelulose foi igual a 71,8% , observa-se estar dentro do esperado para uma espécie de madeira coníferas em que os valores normalmente variam de 70 a 75%⁴⁵.

5.7 DETERMINAÇÃO DE HEMICELULOSES E α -CELULOSE^{45, 62}

As hemiceluloses são diferenciadas da celulose pelas suas relativas facilidades de hidrólise em ácido diluído e pelas solubilidades em soluções aquosas.

Encontrou-se nestas determinações o valor médio para Hemicelulose-A igual a 4,5%, Hemicelulose-B igual a 8,2% e α -celulose igual a 59,2%.

5.8 EXTRATIVOS⁴⁴

O teor de extrativos na madeira seca é em torno de 3 a 10%, sendo que o valor para as madeiras de coníferas oscila em torno de 5 a 8%²⁸.

Os extrativos da madeira solubilizados por solventes orgânicos (dicloro-metano, etanol, cicloexano, etc.) são as graxas, gorduras, resinas, fitosteróis e hidrocarbonetos não-voláteis. Os teores destas substâncias são muito variáveis e são influenciados pela secagem da madeira e estação do ano em que a madeira foi colhida⁷³.

Obteve-se nestas determinações o valor médio de extrativos igual a 3,86%. Embora possa parecer um baixo valor percentual, são de grande utilidade, pois, estes contêm compostos, que podem conter os princípios ativos para muitos medicamentos, uma vez que este vegetal é largamente utilizado na medicina popular.

Para melhor conhecimento a cerca destes extrativos realizou-se análises em CGEM, que serão descritas no item 5.9.

A Tabela 4 apresenta os resultados encontrados para os teores de extrativos e outros constituintes determinados para a embaúba.

Tabela 4. Resumo dos constituinte da madeira de embaúba

CONSTITUINTES		%
CINZAS		0,30
LIGNINA KLASON		25,10
HOLOCELULOSES	HEMICELULOSE-A	4,50
	HEMICELULOSE-B	8,20
	α-CELULOSE	59,20
EXTRATIVOS		3,86
TOTAL		101,16

Embora o valor total dos constituintes da madeira tenha ultrapassado os 100%, está de acordo com citado na literatura utilizada^{28, 45}, uma vez que na determinação de lignina Klason, os extrativos poderiam provocar um erro nesta determinação, pois, poderiam formar durante o procedimento, produtos insolúveis que seriam considerados como lignina na massa final e na determinação de Holo-celulose. Vale ressaltar que o método utilizado pode reter uma porção ainda que pequena de lignina residual ou produtos de sua degradação, bem como liberar uma parte também, ainda que pequena de carboidratos, que possam ser degradados durante o procedimento do método^{28, 45}.

5.9 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS^{63, 65, 66}

Para os cromatogramas a seguir foram dados destaques aos compostos que se apresentam em maior quantidade, porém deve-se salientar, que isto não significa que estes sejam os mais importantes, pois, a importância é relativa à necessidade e um importante composto pode às vezes se encontrar em baixa percentagem na composição do extrato. Assim como na alelopatia um composto pode estar em pequenas concentrações e mesmo assim ser o responsável pelo efeito alelopático. E alem disso, o efeito desejado, muitas vezes, é produzido pela união de vários compostos em sinergia.

Alguns compostos, não foram identificados (n.i.), por estarem em uma percentagem ínfima na composição do extrato não pode ser caracterizada pela

sensibilidade do aparelho ou mesmo por não constar nos dados espectrais da biblioteca de espectros Wiley do aparelho em confronto com índice de retenção de Kovat⁶⁶.

A figura 31 apresenta o cromatograma do extrato da casca em diclorometano, obtido por meio de extração com o aparelho Clevenger (Figura 23, página 63), observa-se a presença de um tipo de cetona de cadeia longa e uma variedade de ácidos graxos, sendo predominante os ácidos graxos, principalmente o ácido hexadecanóico (Tabela 5).

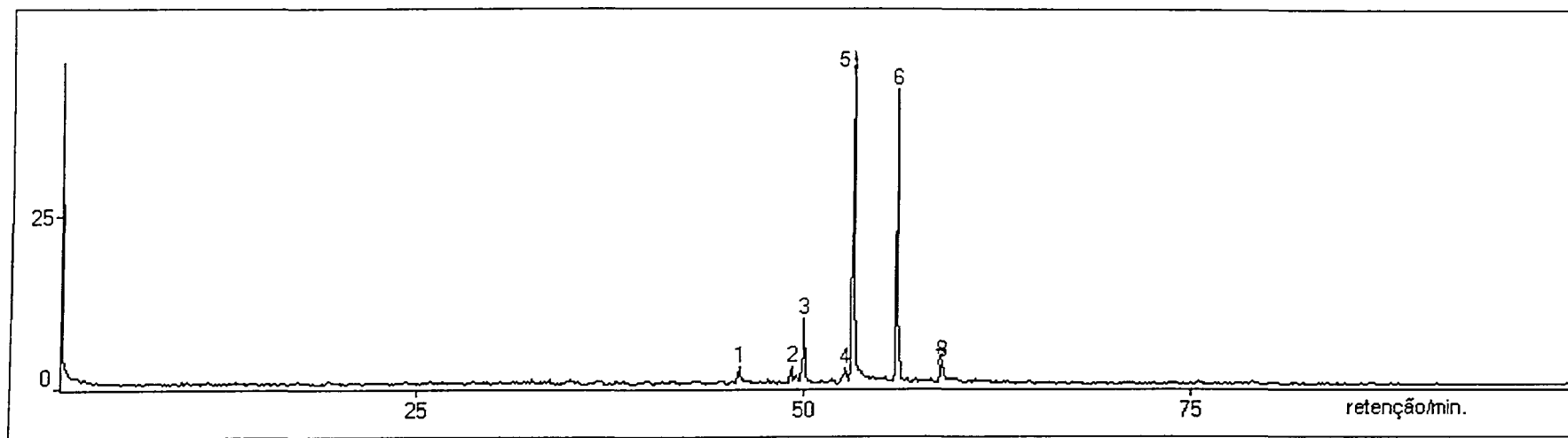


Figura 31. Cromatograma do óleo essencial da casca, obtido por extração no aparelho de Clevenger.

Tabela 5. Compostos identificados por CGEM no óleo essencial da casca de embaúba extraído no aparelho de Cleavenger.

PICOS	TEMPO RETENÇÃO	%	COMPOSTOS
1	45.877	1.41	ácido dodecanóico (ácido láurico)
2	49.236	1.42	cetona de cadeia longa
3	50.047	4.94	contaminante
C	52.686	1.35	ácido pentadecanóico
5	53.251	63.51	ácido hexadecanóico (ácido palmítico)
6	56.026	23.04	ácido hexadecanóico sililado
7	58.855	1.54	2-ciclopenteno-1-undecanóico
8	59.006	2.78	ácido cis-9-octadecenóico (ácido oléico)

A figura 32 apresenta o cromatograma para o óleo essencial do extrato da casca pela extração por diclorometano em contracorrente (Clevenger modificado). Observa-se a presença de álcoois (1-octen-3-ol), terpenos (*trans*-bergamoteno), cetonas (geranil acetona), alcanos e, em maior percentagem, os ácidos graxos como o ácido palmítico. Na Tabela 6 se encontram os rendimentos calculados em função da área do cromatograma.

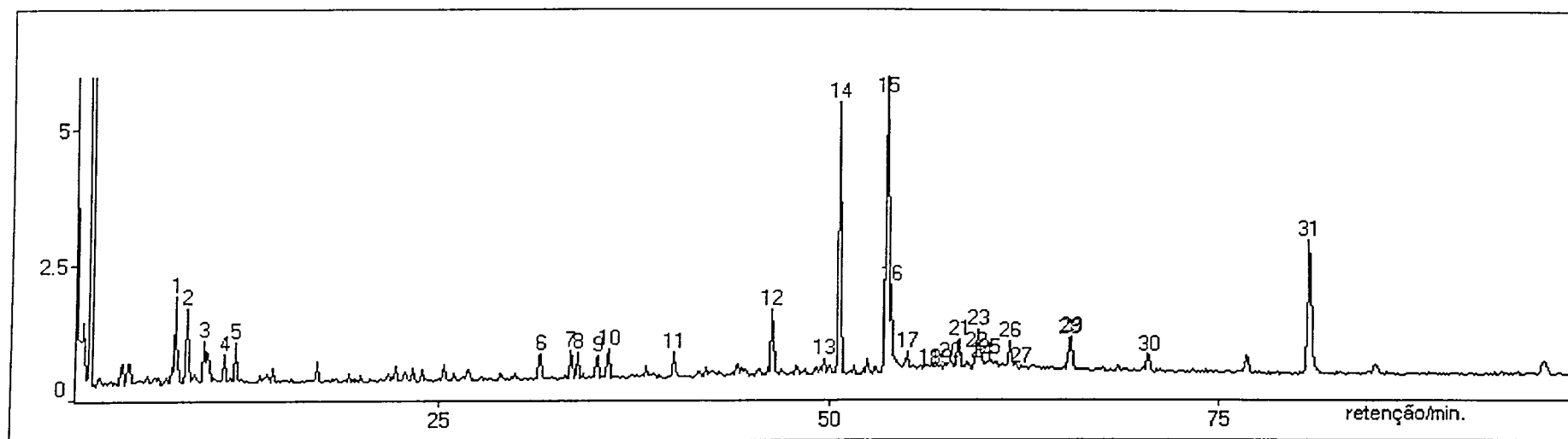


Figura 32. Cromatograma do óleo essencial da casca, obtido por extração com diclorometano em contracorrente (Clevenger modificado).

Tabela 6. Compostos identificados por CGEM no óleo essencial da casca de embaúba obtido por extração com diclorometano em contracorrente (Clevenger modificado)

PICOS	TEMPO RETENÇÃO	%	COMPOSTOS
1	8.388	2.48	contaminante
2	9.037	2.26	etilpentanal
3	10.176	1.42	3-etil-1-octeno
4	11.436	1.18	1-octen-3-ol
5	12.152	1.58	1-octen-2-ol
6	31.601	1.24	tetradecano
7	33.595	1.36	biciclo[3.1.1]-2,6-dimetil-6-(4-metil-3-pentenil)- <i>trans</i> -hept-2-eno (<i>trans</i> -bergamoteno)
8	33.999	1.47	6,10-dimetil- <i>trans</i> -5- <i>trans</i> -9-undecadien-2-ona (geranil acetona)
9	35.285	1.28	lactona do ácido 5-hidroxidecen-2-óico
10	36.018	2.37	pentadecano
11	40.210	1.19	hexadecano
12	46.418	3.18	ácido dodecanóico (ácido láurico)
13	49.697	1.17	cetona de "cadeia longa"
14	50.667	15.75	phitalato "contaminante"
15	53.744	18.53	ácido hexadecanóico (ácido palmítico)
16	53.978	4.90	phitalato "contaminante"
17	55.045	1.49	nonadecano
18	56.442	1.18	n.i.
19	57.222	1.17	icosano
20	57.850	1.32	n.i.
21	58.335	2.13	henicosano
22	59.421	1.42	ácido 11-ciclopentano-undecanóico
23	59.575	2.95	ácido <i>cis</i> -9-octadecenóico (ácido oléico)
24	59.766	1.53	n.i.
25	60.233	2.62	ácido octadecanóico (ácido esteárico)
26	61.583	1.87	docosano
27	62.363	1.26	n.i.
28	65.364	1.90	nonadecanol
29	65.496	2.22	tricosano
30	70.479	2.15	tetracosano
31	80.869	13.46	contaminante

n.i.= não identificado.

A extração da casca com diclorometano em Soxhlet, não apresentou rendimento significativo em compostos voláteis.

A figura 33 apresenta o cromatograma obtido para o óleo essencial das folhas obtido pela extração com aparelho de Clevenger. Observa-se a presença de álcoois (*cis*-nerolidol e farnesol Z/E), cetonas (geranil acetona e farnesil acetona),

aldeídos (heptadecanal), alcanos e em maior percentagem os ácidos graxos como o ácido palmítico (relatados na Tabela 7).

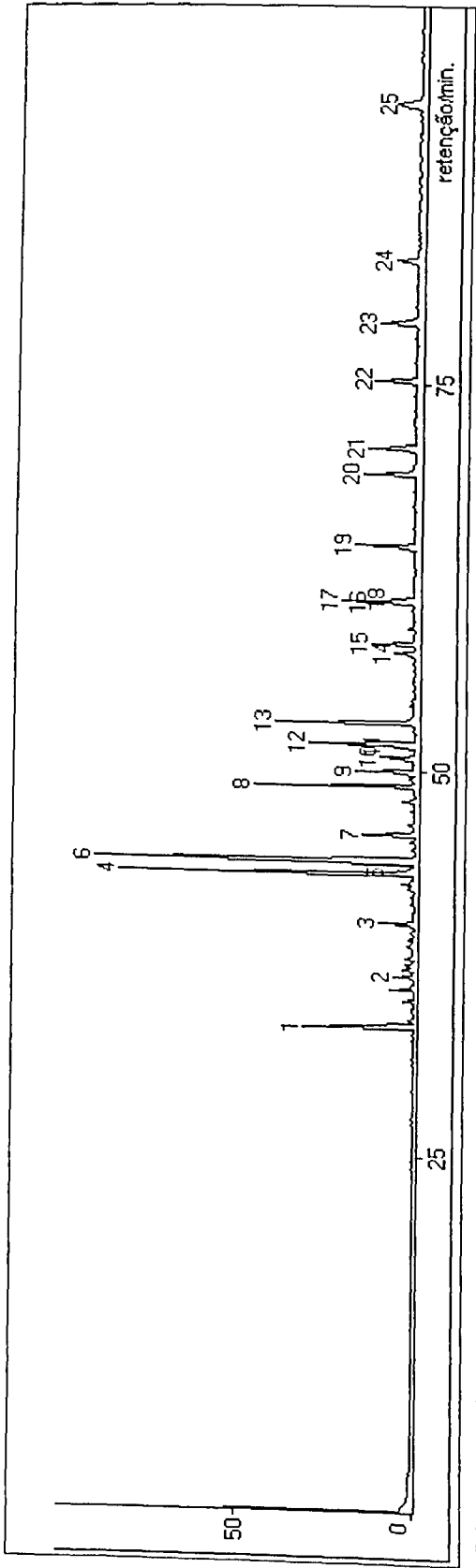


Figura 33. Cromatograma do óleo essencial das folhas obtido por extração no aparelho de Clevenger.

Tabela 7. Compostos identificados por CGEM no óleo essencial das folhas obtido por extração no aparelho de Clevenger

PICOS	TEMPO RETENÇÃO	%	COMPOSTOS
1	33.442	4.18	6,10-dimetil- <i>trans</i> -5- <i>trans</i> -9-undecadien-2-ona (geranil acetona)
2	36.757	1.10	3,7,11-trimetil- <i>cis</i> -1,6,10-dodecatrien-3-ol (<i>cis</i> -nerolidol)
3	40.170	1.96	tetradecanal
4	43.381	12.02	3,7,11-trimetil- <i>cis</i> -2- <i>trans</i> -6,10-dodecatrien-1-ol (farnesol Z/E)
5	43.546	1.19	n.i.
6	44.224	12.45	pentadecanal
7	45.908	3.22	ácido tetradecanóico (ácido mirístico)
8	49.091	6.91	2-hexanona
9	50.050	2.62	contaminante
10	50.933	2.16	acetato de 3,7,11-trimetil- <i>trans</i> -2- <i>trans</i> -6,10- dodecatrienila (farnesil acetato E/E)
11	51.704	1.21	heptadecanal
12	51.815	4.99	6,10,14-trimetil- <i>trans</i> -5- <i>trans</i> -9,13-pentadecatrien- 2-ona (farnesil acetona)
13	53.160	11.62	ácido hexadecanóico (ácido palmítico)
14	57.648	1.18	icosano
15	58.267	2.43	3,7,11,15-tetrametil- <i>trans</i> -2-hexadecen-1-ol (fitol)
16	60.859	2.13	henicosano
17	60.981	3.31	n.i.
18	61.128	1.52	2-octadecenoato de metila
19	64.586	3.48	docosano
20	69.282	3.97	tricosano
21	70.913	3.78	contaminante
22	75.344	4.25	2-metilundecano
23	79.068	4.26	contaminante
24	83.167	1.27	alcanos com mais de 25 carbonos
25	93.349	2.77	alcanos com mais de 30 carbonos

n.i.= não identificado.

A extração das folhas, por diclorometano contra corrente apresentou resultados semelhantes ao Clevenger e a extração com diclorometano, em Soxhlet foi pouco significativa.

A figura 34 apresenta o cromatograma para o óleo essencial do extrato das raízes em diclorometano, obtido por meio de extração com o aparelho Soxhlet. Observa-se a presença de alcenos (octenodimetilado), alcanos e, também em concentração semelhante aos alcenos, os ácidos graxos (Tabela 8).

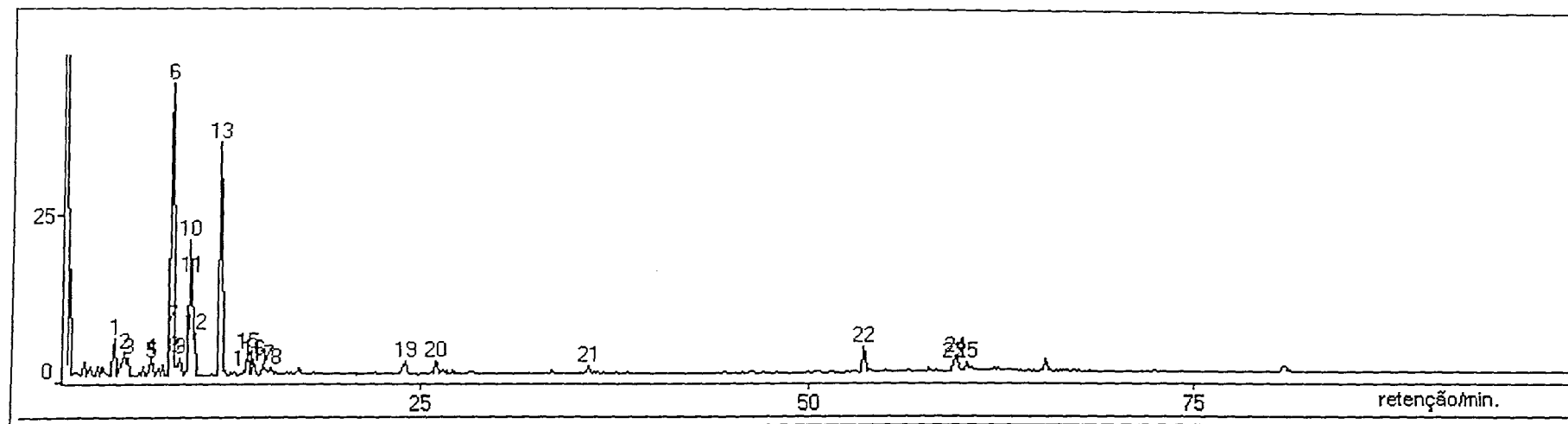


Figura 34. Cromatograma do extrato das raízes, obtido por extração no aparelho Soxhlet.

Tabela 8. Compostos identificados por CGEM no extrato das raízes obtido por extração no aparelho Soxhlet

PICOS	TEMPO RETENÇÃO	%	COMPOSTOS
1	5.391	2.81	1-hexeno
2	6.006	2.08	3,5,5-dimetilhexeno
3	6.236	1.41	4,4,5-trimetil-2-hexeno
4	7.699	1.61	n.i.
5	7.777	1.17	n.i.
6	9.022	22.57	octeno dimetilado
7	9.134	4.02	octeno dimetilado
8	9.221	1.67	octeno dimetilado
9	9.521	1.65	3-etilocteno
10	10.154	10.17	octeno etilado
11	10.311	7.70	octeno dimetilado
12	10.489	3.51	octeno etilado (isômero)
13	12.139	18.82	2,2,4,6,6-pentametileptano
14	13.700	1.11	4-metiloctano
15	13.900	2.34	3,5-dimetileptano
16	14.310	1.98	2,2,3,3-tetrametileptano
17	14.923	1.18	2,3,6-trimetileptano
18	15.370	2.03	aldeído (n.i.)
19	24.043	1.60	n.i.
20	26.046	1.47	n.i.
21	35.910	1.39	pentadecano
22	53.627	3.43	ácido hexadecanóico (ácido palmítico)
23	59.396	1.01	ácido cis-9-cis-12-octadienóico (ácido linoléico)
24	59.561	2.05	ácido cis-9-octadecenóico (ácido oléico)
25	60.231	1.20	ácido octadecanóico (ácido esteárico)

n.i.= não identificado.

A figura 35 apresenta o cromatograma para o óleo essencial das raízes, obtido pela extração por diclorometano em contracorrente (Clevenger modificado). O observa-se a presença de álcoois (farnesol Z/E), cetonas (geranil acetona e farnesil acetona), aldeídos (pentadecanal), e em maior percentagem, os ácidos graxos como o ácido palmítico. Apresentando certa semelhança com o extrato das folhas de embaúba (Tabela 9).

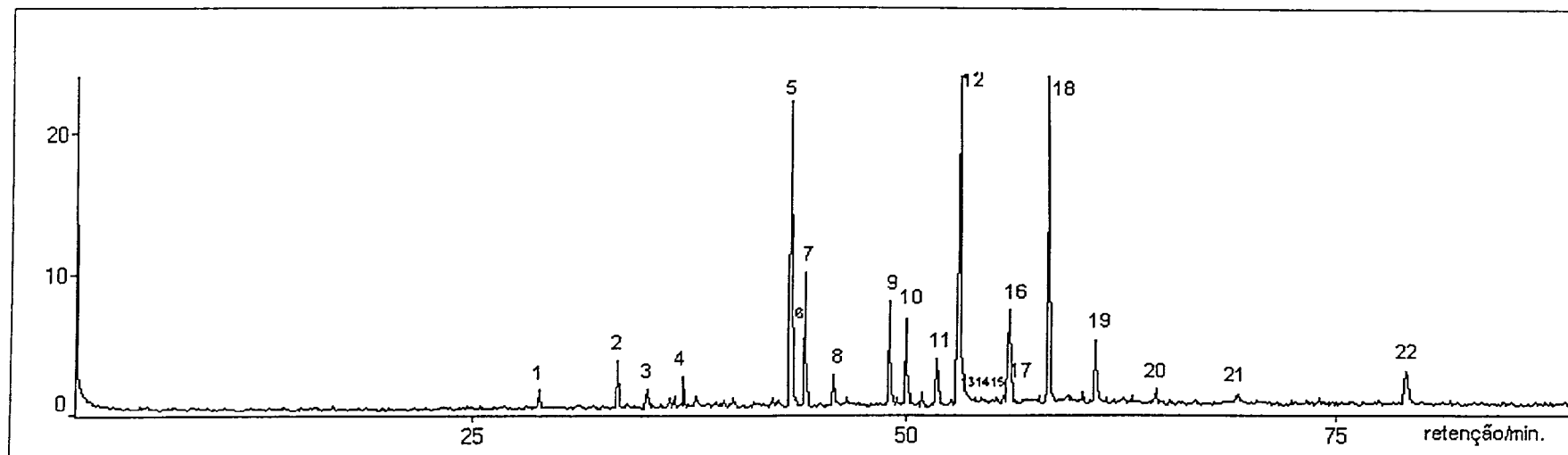


Figura 35. Cromatograma do óleo essencial das raízes, obtido por extração com diclorometano em contracorrente (Clevenger modificado).

Tabela 9. Compostos identificados por CGEM no óleo essencial das raízes de embaúba obtido por extração com diclorometano em contracorrente (Clevenger modificado)

PICOS	TEMPO RETENÇÃO	%	COMPOSTOS
1	28,893	0,84	3,7-dimetil-2,6-octadienoato de metila (metil-geranato)
2	33.447	1,99	6,10-dimetil- <i>trans</i> -5- <i>trans</i> -9-undecadien-2-ona (geranil acetona)
3	35,1	0,95	4-(2,6,6-trimetil-cicloexen-1-il)- <i>trans</i> -3-buten-2-ona (betaionone)
4	37.289	1,5	n.i.
5	43.378	12,03	3,7,11-trimetil- <i>cis</i> -2- <i>trans</i> -6,10-dodecatrien-1-ol (farnesol Z/E)
6	43.562	1,53	n.i.
7	44.219	6,66	pentadecanal
8	45.879	1,89	tetradecanoato de isopropila
9	49.096	4,69	2-hexanona
10	50.060	4,01	contaminante
11	51.816	2,28	6,10,14-trimetil- <i>trans</i> -5- <i>trans</i> -9,13-pentadecatrien- 2-ona (farnesil-acetona)
12	53.169	17,49	ácido hexadecanóico (ácido palmítico)
13	53.347	3,9	n.i.
14	54.446	1,18	n.i.
15	55.747	1,16	n.i.
16	56.024	4,32	ácido hexadecanóico sililado
17	57.696	1,09	n.i.
18	58.279	22,97	ácido <i>cis</i> -9-octadecenóico (ácido oléico)
19	60.989	3,44	n.i.
20	64.549	1,69	n.i.
21	69.174	1,1	n.i.
22	79.088	3,28	contaminante

n.i.= não identificado.

Confirmando a sabedoria popular que não emprega o tronco para fins medicinais, o extrato desta parte da embaúba em diclorometano, obtido por meio de extração com o aparelho Soxhlet, Clevenger e Clevenger modificado não apresentaram compostos voláteis em quantidade significativa (Figura 36).

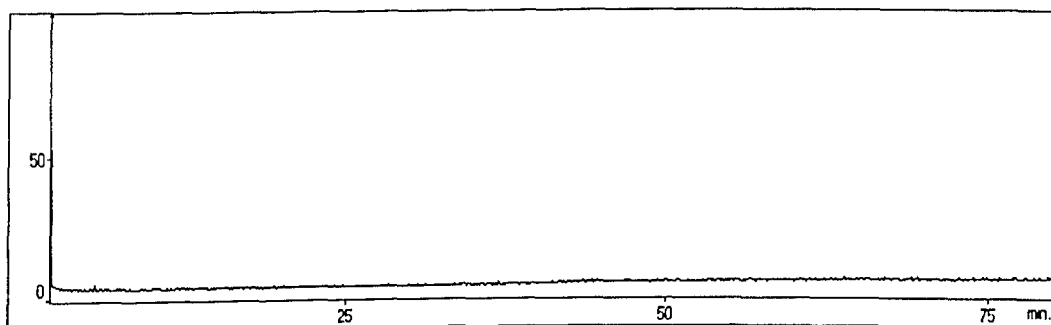


Figura 36. Cromatograma do extrato do tronco obtido por extração com diclorometano em aparelho Soxhlet.

Observou-se uma correlação entre os extratos da casca da embaúba obtidos por parelho de Clevenger e Clevenger modificado (Figuras 31 e 32). Ambos apresentam: ácido láurico, cetona de cadeia longa e ácido hexadecanóico.

Observou-se também, que o extrato da casca de embaúba, obtido por extração de Clevenger modificado, se mostrou mais eficiente e, portanto, mais preciso na obtenção dos compostos que o extrato realizado por meio de Clevenger. Portanto, o extrato com aparelho de Clevenger levou a uma perda de compostos voláteis durante a extração.

Esta comparação não pode ser feita da mesma forma, para os extratos da raiz, em que o extrato obtido por meio de Soxhlet (Figura 34), e aquele obtido por meio de Clevenger modificado (Figura 33), são bem distintos e não apresentam compostos comuns. Já o extrato obtido no aparelho de Cleavenger apresentou resultados semelhantes ao Cleavenger modificado.

Pode-se observar que em geral este vegetal apresenta uma grande variedade de compostos em seus extratos (Tabela 10) e também uma concentração diversificada destes compostos nos extratos de cada parte deste vegetal.

Tabela 10. Compostos identificados por CGEM no óleo essencial em diclorometano, obtidos por extração com aparelho Clevenger, Clevenger modificado e Soxhlet, para os extratos da embaúba

Compostos identificados nos extratos de embaúba	
1.	1-hexeno
2.	1-octen-2-ol
3.	1-octen-3-ol
4.	2,2,3,3-tetrametileptano
5.	2,2,4,6,6-pentametileptano
6.	2,3,6-trimetileptano
7.	2-ciclopenteno-1-undecanóico
8.	2-hexanona
9.	2-metilundecano
10.	2-octadecenoato de metila
11.	3,5,5-dimetilexeno
12.	3,5-dimetileptano
13.	3,7,11,15-tetrametil- <i>trans</i> -2-hexadecen-1-ol (fitol)
14.	3,7,11-trimetil- <i>cis</i> -1,6,10-dodecatrien-3-ol (<i>cis</i> -nerolidol)
15.	3,7,11-trimetil- <i>cis</i> -2- <i>trans</i> -6,10-dodecatrien-1-ol (farnesol Z/E)
16.	3,7-dimetil-2,6-octadienoato de metila (metil-geranato)
17.	3-etilocteno
18.	4-(2,6,6-trimetil-cicloexen-1-il)- <i>trans</i> -3-buten-2-ona (betaionone)
19.	4,4,5-trimetil-2-hexeno
20.	4-metiloctano
21.	6,10,14-trimetil- <i>trans</i> -5- <i>trans</i> -9,13-pentadecatrien-2-ona (farnesil-acetona)
22.	6,10-dimetil- <i>trans</i> -5- <i>trans</i> -9-undecadien-2-ona (geranil acetona)
23.	acetato de 3,7,11-trimetil- <i>trans</i> -2- <i>trans</i> -6,10-dodecatrienila (farnesil acetato E/E)
24.	ácido 11-ciclopentano-undecanóico
25.	ácido <i>cis</i> -9- <i>cis</i> -12-octadienóico (ácido linoléico)
26.	ácido <i>cis</i> -9-octadecenóico (ácido oléico)
27.	ácido dodecanóico (ácido láurico)
28.	ácido hexadecanóico (ácido palmítico)
29.	ácido octadecanóico (ácido esteárico)
30.	ácido pentadecanóico
31.	ácido tetradecanóico (ácido mirístico)
32.	aldeído (n.i.)
33.	biciclo[3.1.1]-2,6-dimetil-6-(4-metil-3-pentenil)- <i>trans</i> -hept-2-eno (<i>trans</i> -bergamoteno)
34.	docosano
35.	etilpentanal
36.	henicosano
37.	heptadecanal
38.	hexadecano
39.	icosano
40.	lactona do ácido 5-hidroxidecen-2-óico
41.	nonadecano
42.	nonadecanol
43.	octeno dimetilado
44.	octeno etilado
45.	octeno etilado (isômero)
46.	pentadecanal
47.	pentadecano
48.	tetracosano
49.	tetradecanal
50.	tetradecano
51.	tetradecanoato de isopropila
52.	tricosano

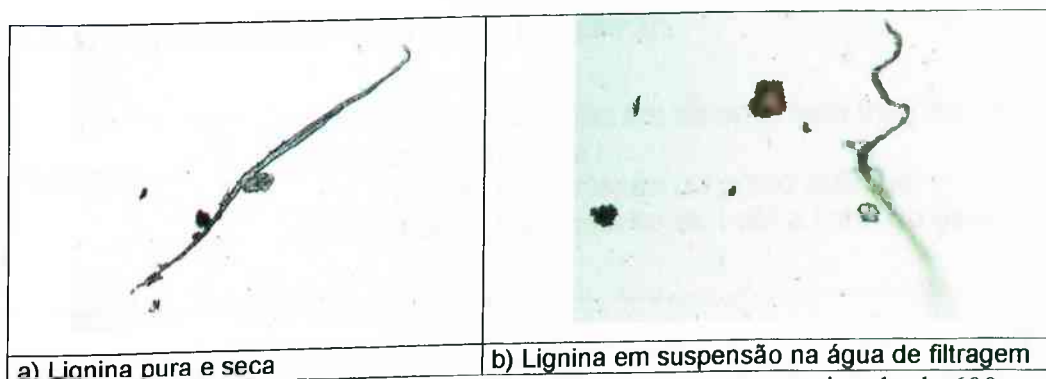
Observou-se também, que os extratos em diclorometano da raiz e casca da embaúba são ricos em constituintes, mas apresentam diferentes composições. O extrato da raiz é rico em alcenos e alcanos leves e o da casca se distingue pelos alcanos de cadeia longa e terpenóides, ambos possuem ácidos graxos. O extrato da madeira não apresentou componente volátil. O extrato das folhas foi o que apresentou maior variedade de compostos, contendo alcanos, álcoois, aldeídos, cetonas de cadeias complexas e principalmente ácidos graxos, sendo que este último, foi também, encontrado *Cecropia peltata*⁷⁴ e também encontrado para *Cecropia adenopus*⁷⁵⁻⁷⁷.

5.10 ISOLAMENTO DA LIGNINA DE MADEIRA MOIDA²⁸

O processo de obtenção da lignina de madeira moída (LMM) da embaúba se constituiu basicamente de: moagem da madeira, remoção dos extrativos (constituintes secundários da madeira) por extração com solventes orgânicos neutros, dissolução da lignina por uma base forte, filtração para retirada de impurezas, neutralização do meio por adição de ácido e liofilização da lignina pura²⁸. Obteve-se um percentual de LMM pura em relação à madeira totalmente seca e livre de extrativos igual a 0,92%.

Embora não se tenha observado falhas no procedimento, o teor extraído parece baixo comparando-se com o teor estimado de lignina na madeira que seria de 25 a 30% em relação à madeira²⁸.

Como observado na Figura 37, houve perda de lignina durante a filtração, para retirada de impurezas, porém, esta massa perdida foi tão pequena que não pode ser mensurada, o que justifica em apenas em parte, o baixo teor de lignina extraída. A Figura 37 foi obtida na FMTM utilizando-se de um microscópio ocular comum, acoplado a uma câmera digital, com ampliação de imagem por 600 vezes em relação ao tamanho real do objeto, e mostra os aglomerados de LMM seca e em suspensão.



a) Lignina pura e seca b) Lignina em suspensão na água de filtragem

Figura 37. Fotos de aglomerados de lignina com aumento aproximado de 600 vezes.

Fonte: GERALDO B. LONDE/2003.

5.11 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA LIGNINA MOÍDA

5.11.1 DETERMINAÇÃO DE GRUPOS METOXÍLICOS, UNIDADES SÍ-RINGÍLICAS, GUAÍACÍLICAS E *P*-HIDROXIFENÍLICAS POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (IVTF)^{28, 67-72}

A determinação de grupos metoxílicos por via úmida não apresentou resultados reproduzíveis, provavelmente, houve vazamentos na aparelhagem. A determinação da porcentagem de grupos metoxílicos foi então feita por vários métodos, baseados no IVTF, conforme descrito abaixo:

De acordo com Sarkanen e colaboradores, usando como padrão de referência a absorção em 1508 cm^{-1} , pode se calcular as razões das absorvâncias das bandas de absorções principais em relação à esta $(A_i/A\ 1508\text{ cm}^{-1})^{67, 72}$. Pode-se estabelecer relações empíricas que determinam graficamente a razão OCH_3/C_9 .

Dessa forma, utilizando a lei de Beer Lambert (Equação 3) e calculando-se a relação $(A_i/A\ 1508\text{ cm}^{-1})$ a partir das transmitâncias registradas no espectro de IVTF da LMM (Figura 38) e grafando os resultados nos gráficos estabelecidos experimentalmente por Sarkanen e colaboradores (Figuras 39 e 40), determinou-se a relação OCH_3/C_9 para a lignina da embaúba. Os resultados apresentando os cálculos para as diversas bandas de absorção analisadas são mostrados na Tabela 11.

Lei de Beer Lambert: $A_i = \log (I_0 / I)$; (Equação 3).

Em que:

- i = Pico de absorção em determinada frequência.
- A_i = Absorvância de i
- I = Valor de transmissão no ponto máximo
- I_0 = Valor de transmissão de I até a linha de base

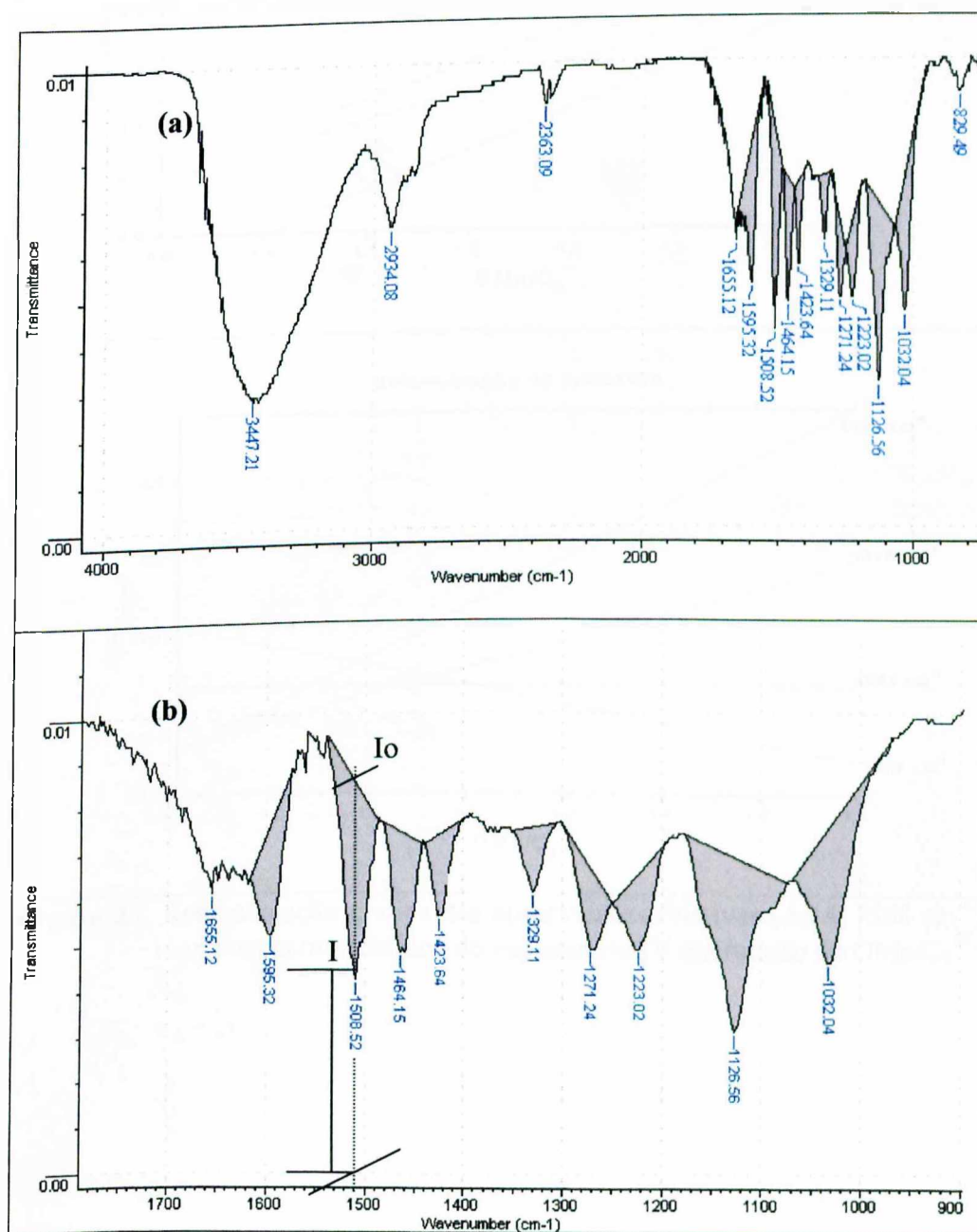


Figura 38. Espectros de absorção no IVTF com as linhas de base traçadas (a) e com ampliação da região de 1800 a 900 cm^{-1} (b).

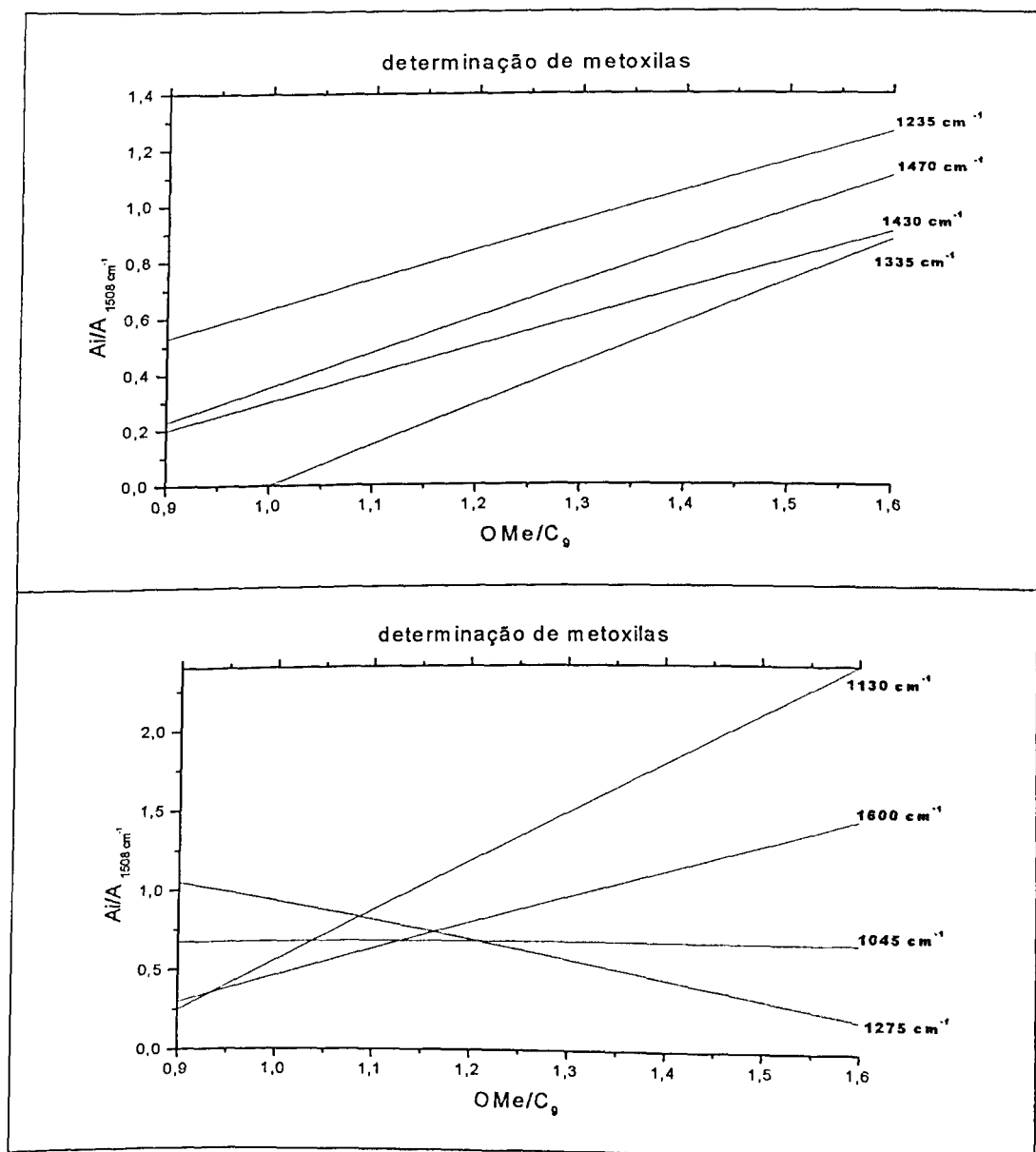


Figura 39. Representação gráfica das absorvâncias relativas ($A_i/A_{1508 \text{ cm}^{-1}}$) de máximos característicos do espectro no IV em função de OMe/C_9 ^{67, 72}.

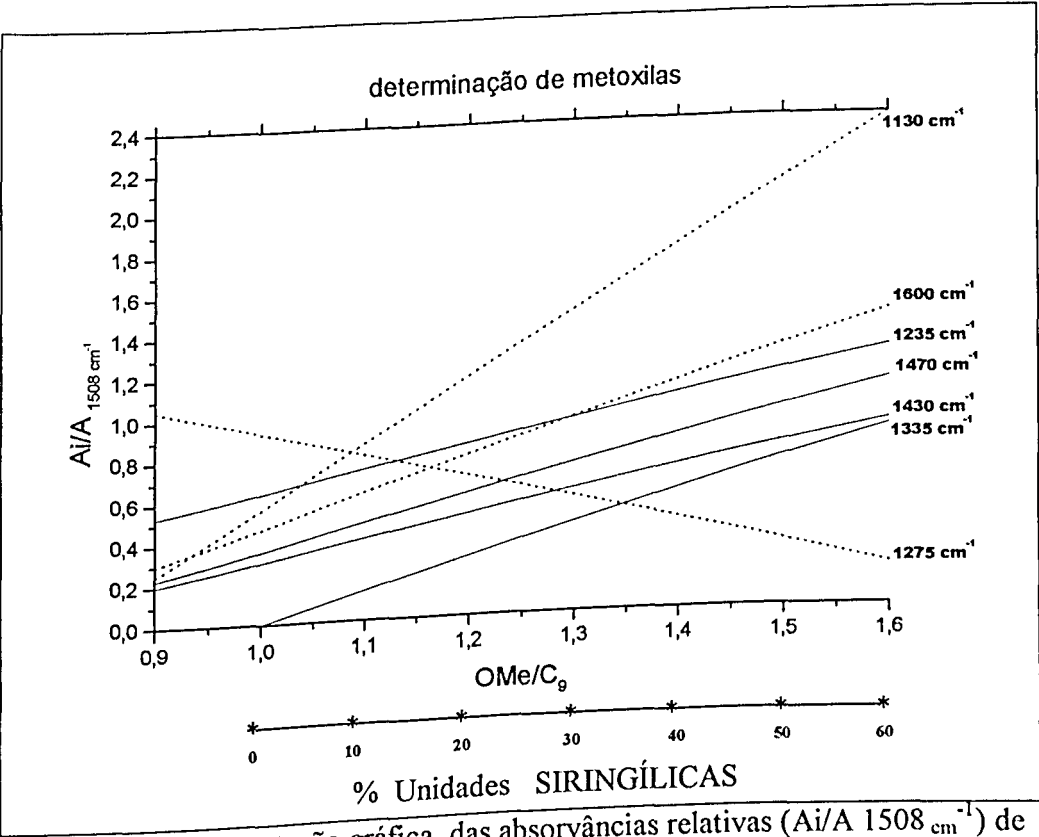


Figura 40. Representação gráfica, das absorvâncias relativas ($A_i/A_{1508\text{ cm}^{-1}}$) de máximos característicos do espectro no IV em função de OMe/C_9 e da porcentagem de unidades Siringílicas^{34, 67, 72}.

Tabela 11. Dados espectrais no IVTF da lignina de embaúba aplicando o método sugerido por Sarkanen^{67,72}

cm^{-1}	I_o	I	A_i	$A_i/1508\text{ cm}^{-1}$	OMe/C_9
1595	82,5	52,5	0,196	0,630	1,100
1508	87,0	42,5	0,311	1,000	
1464	74,5	48,5	0,186	0,599	1,22
1423	72,0	57,0	0,101	0,326	0,97
1329	71,0	56,5	0,099	0,318	1,22
1271	68,0	49,0	0,142	0,457	1,40
1223	67,0	49,0	0,136	0,436	1,30
1126	69,0	31,0	0,347	1,116	1,18
1032	77,0	46,	0,223	0,719	1,05
				Média =	1,18

Segundo Schultz e Glasser³⁴, usando como padrão de referência absorção em 1600 cm^{-1} ($A_i/A_{1600\text{ cm}^{-1}}$) e as mesmas linhas de bases da Figura 38, pode se estimar o teor de OCH_3/C_9 aplicando a fórmula apresentada na Equação 4.

Teor de OCH_3/C_9 , segundo Schultz e Glasser³⁴ (Equação 4).

$$\text{OCH}_3/\text{C}_9 = -0,342 + 2,188(A) - 4,106(B) + 3,017(C)$$

Em que: $\begin{cases} A = \text{absorvância de } 1328 \text{ cm}^{-1} / \text{absorvância de } 1600 \text{ cm}^{-1} \\ B = \text{absorvância de } 1156 \text{ cm}^{-1} / \text{absorvância de } 1600 \text{ cm}^{-1} \\ C = \text{absorvância de } 1140 \text{ cm}^{-1} / \text{absorvância de } 1600 \text{ cm}^{-1} \end{cases}$

Na Tabela 12 encontram-se os dados espectrais calculados e que foram usados no cálculo aplicando a fórmula de Schultz e Glasser³⁴.

Tabela 12. Dados espectrais no IVTF da lignina de embaúba³⁴

cm^{-1}	I_0	I	A_i
1140	72,5	34,0	0,355
1156	72,5	40,0	0,284
1328	72,5	45,0	0,233
1600	72,5	39,5	0,289

Obteve-se 1,12 OCH_3/C_9 . Enquanto que, pelo método de Sarkanen foi calculado um valor médio de 1,18 OCH_3/C_9 .

Faix e Schwes⁷¹ também desenvolveram um método para calcular as porcentagens de unidadesiringílicas, guaiacílicas e *p*-hidroxifenílicas, a partir do teor de OCH_3 . A relação é apresentada na Figura 41. Neste cálculo dos teores de grupos metoxílicos, utilizam-se relações de diferença de transmitância (ΔT), em função da percentagem de grupos metoxílicos determinados por estes autores e descritas na Figura 42.

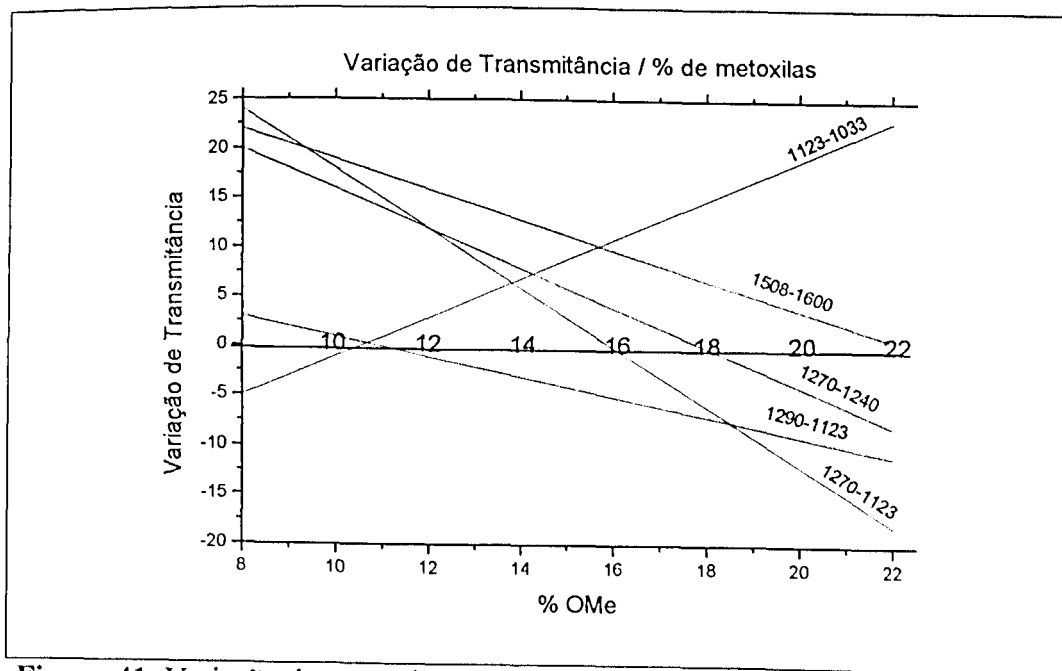


Figura 41. Variação de transmitância em função da % de OCH_3 segundo Faix e Schwes⁷¹

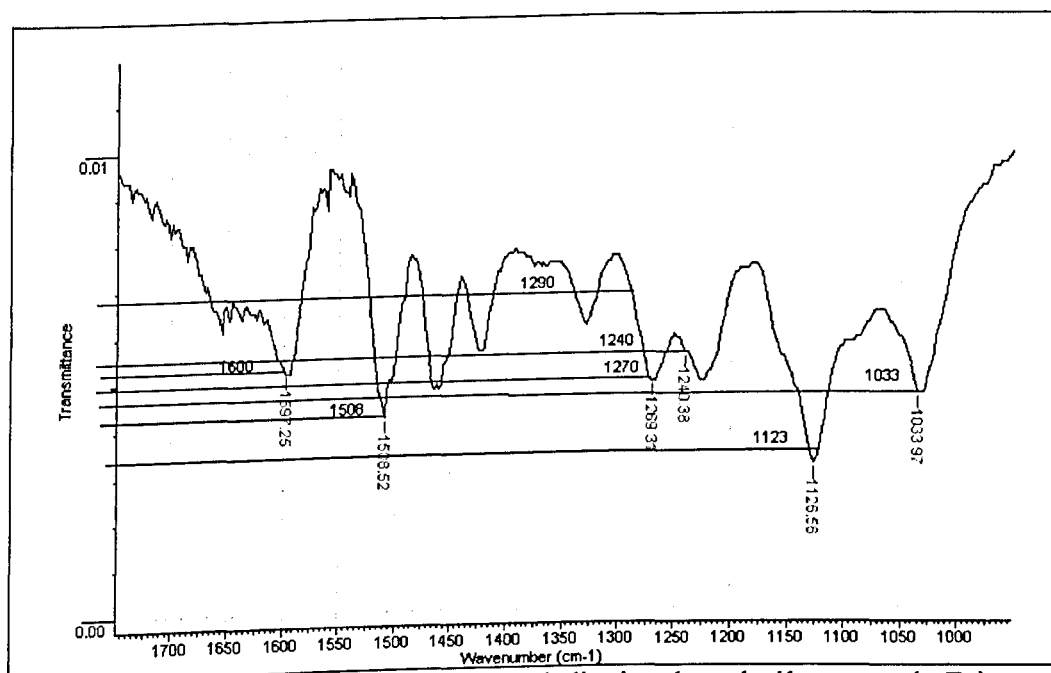


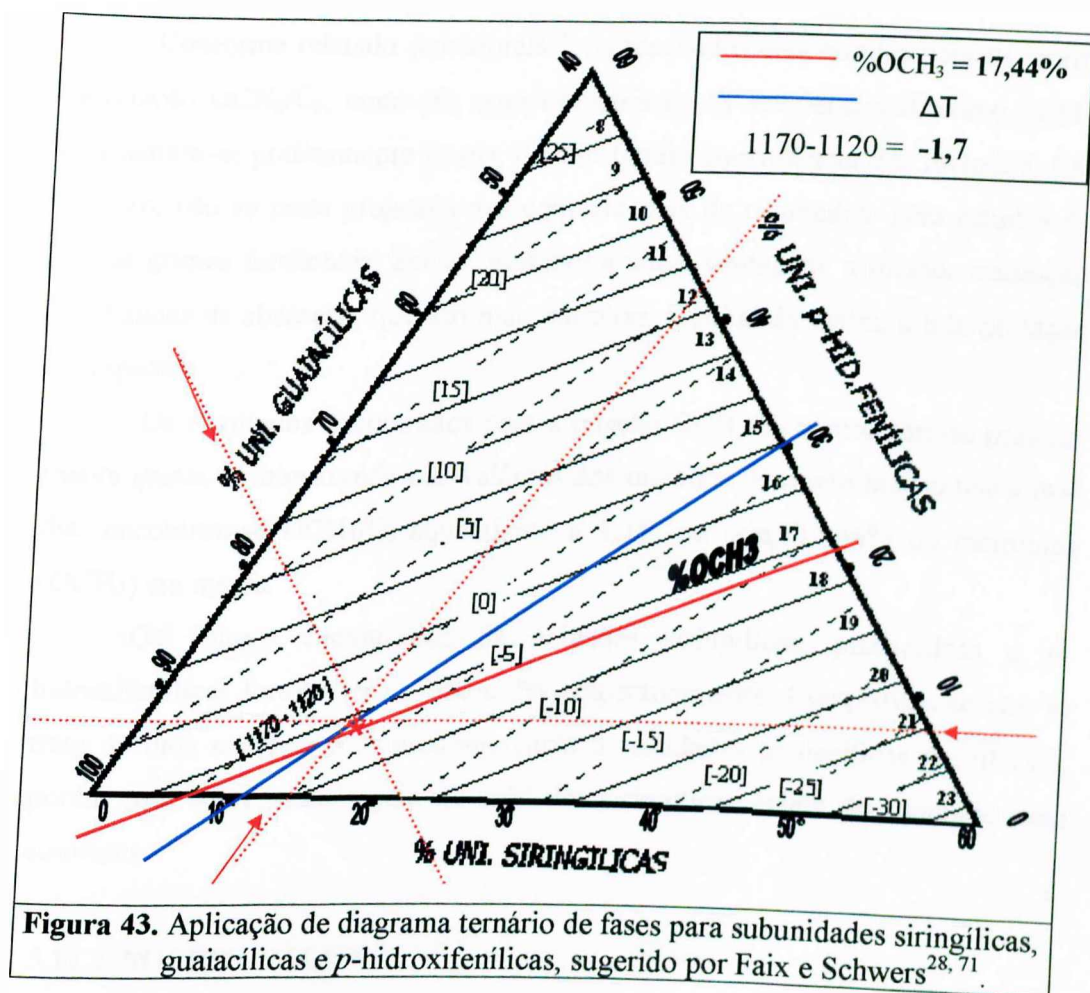
Figura 42. ΔT de transmitância no IVTF da lignina de embaúba, segundo Faix e Schwerts⁷¹.

Com o auxílio do diagrama ternário grafado por estes autores (Figura 43) calculou-se os teores de unidades siringílicas, guaiacílicas e *p*-araidroxifenílicas, da LMM da embaúba. Onde o asterisco marca a interseção das duas variáveis que são utilizadas: OCH_3/C_9 e $\Delta T = 1170 - 1120$.

Os valores calculados são apresentados na Tabela 13, para a LMM da embaúba. Na Figura 42 são apresentados os valores de ΔT utilizados nestes cálculos.

Tabela 13. % OCH_3 , calculado pelo método sugerido por Faix e Schwerts⁷¹

cm^{-1}	mm	Relação cm^{-1}	Δt	% OCH_3
1508	36,0	1508-1600	-9,5	25,0
1033	40,0	1123-1033	1,0	10,5
1123	41,0	1270-1240	-5,0	18,5
1270	42,0	1290-1123	22,5	0,0
1600	45,5	1270-1123	1	15,8
1240	47,0			17,45
1290	63,5			
Média = 17,45%				



Para este diagrama, foi traçada uma linha referente ao teor de metoxilas (linha vermelha), e uma outra linha, referente à variação de transmitância entre as bandas de absorção $1170-1120\text{ cm}^{-1}$ (linha azul); do ponto resultante desta interseção, foi traçado três retas paralelas às faces do triângulo (linhas pontilhadas vermelhas), de modo a se obter as respectivas concentrações de unidades siringílicas, guaiacílicas e *para*-hidroxifenólicas.

Encontrou-se 17,45% de metoxilas o que equivale a 1,15 OCH_3/C_9 segundo a equação proposta por Freudenberg²⁵ (Equação 5).

Determinação de $\%OCH_3$ (Equação 5).

$$\% OCH_3 = \frac{M \cdot 2,584 \cdot \%C}{M + 9}$$

Em que: $\left\{ \begin{array}{l} M = \text{média do valor } OCH_3/C_9 \text{ determinado acima.} \\ \%C = \text{determinado na microanálise, a seguir, item 5.11.2.} \\ 2,584 = \text{relação entre as massas molares de } OCH_3/C_9. \end{array} \right.$

Conforme relatado por Morais²⁸, os resultados encontrados para os teores da relação OCH_3/C_9 , tanto por espectrometria no IV convencional, como IVTF, apresentam-se praticamente iguais, demonstrando equivalência dos métodos. Entretanto, não se pode projetar estas equivalências de resultados, para estudos de outros grupos funcionais. Sendo, portanto a única vantagem, a melhor resolução das bandas de absorção, que são mais estreitas, facilitando assim, a interpretação do espectro.

Os resultados encontrados para a relação OCH_3/C_9 apresentam-se praticamente iguais, demonstrando equivalência dos métodos. Portanto fazendo-se a média, encontrou-se OCH_3/C_9 equivalente a 1,15, ou seja, 17,44% de metoxilas (OCH_3) em massa.

Os valores encontrados de unidades siringílicas, guaiacílicas e *p*-hidroxifenílicas foram: 15%, 78% e 7% respectivamente. Comprovou-se que se trata de uma madeira com predominância de unidades guaiacílicas (coníferas), porém com certa porcentagem de unidades siringílicas acima do esperado para coníferas.

5.11.2 MICROANÁLISE

As análises elementares foram realizadas pelo Serviço de Microanálise da USP, São Paulo, determinando-se os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio (Tabela 14).

Tabela 14. Microanálise da lignina

Amostra	%C	%H	%N	%O
Lignina de Embaúba G.B.L.	59,39	5,78	0,18	
Lignina de Embaúba G.B.L.	59,45	5,63	0,20	
Media	59,42	5,70	0,19	34,68
Corrigindo para o nitrogênio	59,53	5,72		34,75

5.11.3 DETERMINAÇÃO DA FÓRMULA MÍNIMA²⁵

Conhecendo-se as porcentagens de C, H, O e OCH_3 e aplicando as fórmulas abaixo, em que as fórmulas de ligninas são representadas pela equação geral: $\text{C}_3\text{H}_a\text{O}_b(\text{OCH}_3)_d$

Em que os valores de a, b, e d, são determinados a partir das porcentagens dos elementos mencionados no item 4.10.3 (página 65), utilizando-se as equações a seguir:

Determinação da fórmula mínima²⁵ (Equação 6).

$$a = \frac{\%H - \%OCH_3}{\%C - \%OCH_3} ; \quad b = \frac{\%O - \%OCH_3}{\%C - \%OCH_3} ; \quad d = \frac{\%OCH_3}{\%C - \%OCH_3}$$

A partir dos dados da microanálise e do teor de OCH₃ calculou-se a fórmula mínima para a LMM da embaúba (Tabela 15).

Tabela 15. Determinação da fórmula mínima

%C	%H	%N	%O	% OCH ₃
59,53	5,72	0,00	34,75	17,44
Perfazendo um total de:				
H	8,08			
O	3,28			
OCH ₃	1,15			
Fórmula mínima = C₉H_{6,86}O₂(H₂O)_{1,3} (OCH₃)_{1,15}				
Massa molar igual a: 204,71 g/Mol				

A partir de sua fórmula mínima, que é uma característica para cada espécie de vegetal, foi avaliado o seu teor de pureza, bem como se a mesma tratava-se de uma lignina genuína ou não²⁵. Comprovou-se que se trata de uma madeira com predominância de unidades guaiacílicas (coníferas), porém com certa porcentagem de unidades siringílicas acima do esperado para coníferas. O que resultou em uma fórmula mínima, atípica (para coníferas) a LMM da embaúba [C₉H_{6,86}O₂(H₂O)_{1,3} (OCH₃)_{1,15}].

5.11.4 HIDROXILAS FENÓLICAS^{28, 61}

Nesse trabalho empregou-se titulação condutivimétrica. O gráfico abaixo obtido com a titulação das hidroxilas fenólicas mostra o ponto de interseção entre as duas retas, indicando o ponto de equivalência na neutralização e as respectivas condutividades, produzidas na adição de cada gota de hidróxido de sódio, conforme preconizado no método^{28, 61}. Assim, a percentagem de hidroxilas fenólicas e a

sua quantidade molar por fórmula mínima, foram respectivamente: 1,89% e 0,23 OH/C₉.

A Figura 44 apresenta o gráfico para esta titulação.

Os valores obtidos estão dentro dos valores esperados, para uma lignina característica de coníferas²⁸.

Vários autores afirmam que a quantidade de hidroxilas fenólicas na proto-lignina “in situ” é de aproximadamente 0,1 mol/C₉ e que percentagem mais alta seria provocada pelo processo de moagem que resultaria na hidrólise de ligações α -O-4 e β -O-4²⁸.

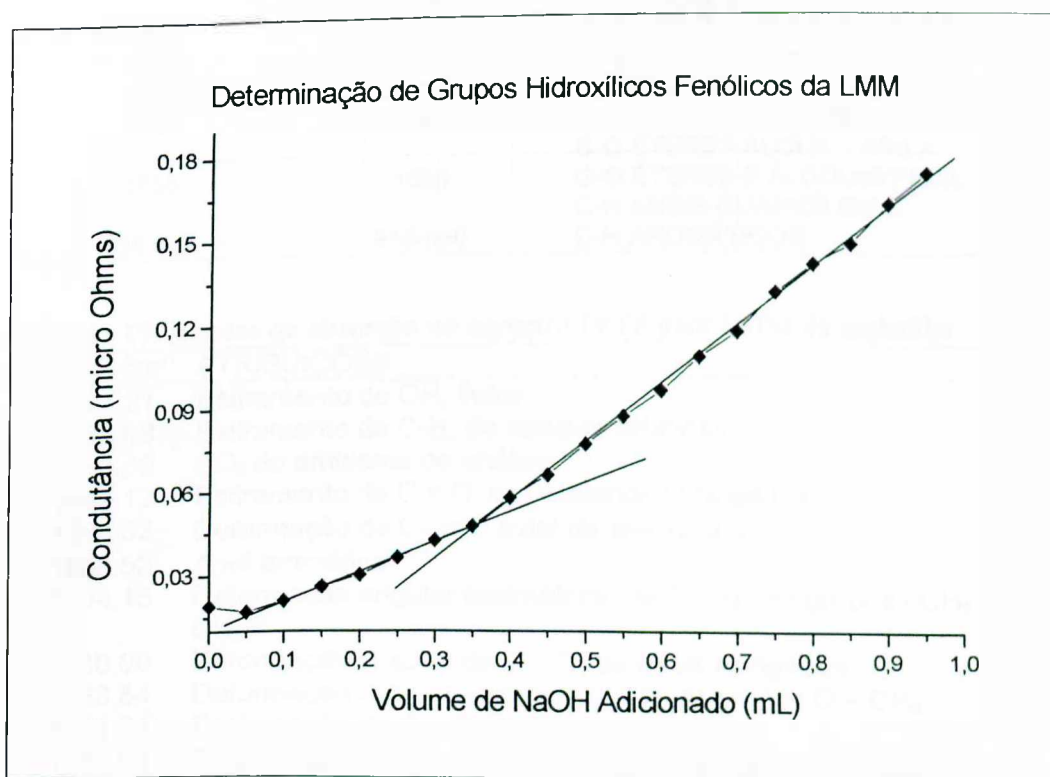


Figura 44. Gráfico de volume de NaOH versus condutância.

5.11.5 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO^{37, 67}

Na Tabela 16 se encontram as principais atribuições de ligninas de madeiras folhosas e coníferas, registradas no IVTF^{28, 37, 68}, e a Tabela 17 mostra as principais bandas de absorção no espectro IVTF para lignina de embúba.

A Tabela 17 apresenta as principais bandas de absorção características encontradas na LMM de embaúba e a Figura 45 apresenta o espectro de absorção no IVTF desta lignina.

Tabela 16. Absorções em IVTF para lignina³⁴

COMPRIMENTO DE ONDA /cm ⁻¹		ATRIBUIÇÕES
FOLHOSAS (Gimnospermas)	CONÍFERAS (Angiospermas)	
3400	3400	GRUPOS HIDROXILICOS
1715	1715-1710	C=O NÃO CONJUGADA
1675-1660	1660	C=O CONJUGADAS
1605	1595	ANÉIS AROMÁTICOS
1515-1510	1505	ANÉIS AROMÁTICOS
1470-1460	1470-1460	C-H GRUPOS METÍLICOS
1430	1425	C- AROMÁTICO C-H DE OCH ₃
1370	1370-1365	C-H METIL
-	1330-1325	C-O ANÉIS SIRINGÍLICOS
		OH ÁLCOOIS PRIM. E SEC.
1270	1275	C-O ANÉIS GUAIACÍLICOS.
1140	1140-1120	C-H ANÉIS GUAIAE SIRING.
	1235-1230	C-H ANÉIS GUAIACÍLICOS.
1230		C-O ANÉIS GUAIACÍLICOS.
1140	1145	C-H ANÉIS E SIRING.
	1130	C-H SINRIGIL
1085	1085	C-O ÁLCOOIS SECUND.
		C-O ÉTERES ALQUIL - ARILA
1035	1030	C-O ÉTERES E ÁLCOOIS PRIM.
		C-H ANÉIS GUAIACÍLICOS
855-815	915-860	C-H AROMÁTICOS

Tabela 17. Bandas de absorção no espectro IVTF para LMM da embaúba

Banda/cm ⁻¹	ATRIBUIÇÕES:
3447,21	Estiramento de OH, livres
2934,08	Estiramento de C-H, de cadeias alifáticas
2363,09	CO ₂ do ambiente de análise
1655,12	Estiramento de C = O, em sistemas conjugados
1595,32	Deformação de C \equiv C axial de aromáticos
1508,52	Anel aromático
1464,15	Deformação angular assimétrica, de C – H, em grupos –CH ₂ e –CH ₃
1330,00	Deformação angular de C – O, de anéis siringílicos
1423,64	Deformação C de aromáticos, C – H, de grupos O – CH ₃
1271,24	Deformação de C – O, de anéis guaiacílicos
1223,02	Deformação de C – O, de anéis guaiacílicos e siringílicos
1126,56	Estiramento de C – H, de anéis guaiacílicos e siringílicos
1032,04	Estiramento de C – H, de anéis guaiacílicos ou C – O de álcoois primário
835,28	Estiramento de C-H, de cadeias aromáticas

Observa-se pelos espectros, bandas de absorção referente a compostos característicos da composição de madeiras de folhosas, como por exemplo, a absorção 1330 cm⁻¹ (deformação angular de C – O, de anéis siringílicos) o que não é evidente nos espectros de madeiras de coníferas e a absorção 1593,52 cm⁻¹ (deformação axial C \equiv C, de aromáticos) que para madeiras de coníferas, se situa aproximadamente em 1605 cm⁻¹.

Contudo, a presença de bandas como 1271,24 cm^{-1} (deformação de C – O, de anéis guaiacílicos) bem como a baixa resistência mecânica citada no (Quadro 1, página 27)⁶, e a própria “relativa” facilidade com esta madeira pode ser tritura-da, possibilita afirmar que se trata de uma madeira de coníferas porém com certa porcentagem de unidades siringílicas acima do esperado para esta.

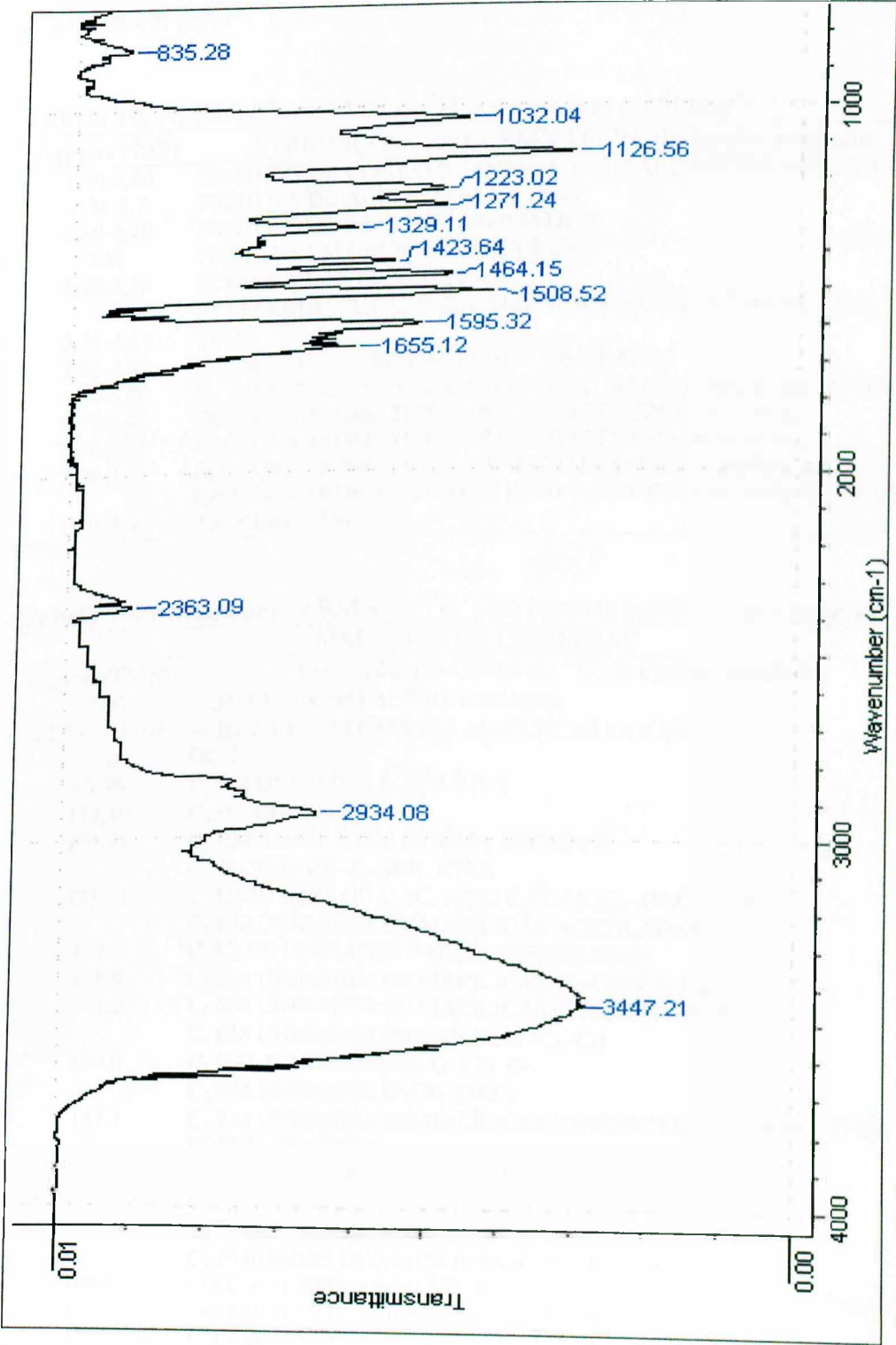


Figura 45. Espectro da LMM de embaúba no IVTF.

5.11.6 ESPECTROMETRIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

As tabelas 18, 19 e 20 apresentam os valores referencias para os deslocamentos de ^1H e de ^{13}C respectivamente, para as análises de lignina acetilada de madeiras em geral¹⁰.

Tabela 18. Atribuições de RMN de ^1H , para ligninas acetiladas²⁸

δ (ppm/TMS)	ATRIBUIÇÕES PARA RMN DE ^1H , de lignina acetilada.
1,70-0,80	PRÓTONS DE CONTAMINANTES HIDROCARBONETOS ALIFÁTICOS
2,28-1,7	PRÓTONS DE ACETATO ALIFÁTICO
2,60-2,28	PRÓTONS DE ACETATO AROMÁTICO
3,81	PRÓTONS EM GRUPOS METOXÍLICOS
4,43-4,15	H_γ EM VÁRIAS ESTRUTURAS H_β EM ESTRUTURAS β -O-4, SIRINGORRESINOL, XILANAS E OUTROS.
5,25-4,43	H_α EM ESTRUTURAS β -5 FENIL CUMARANAS
5,90-5,30	H_α EM ESTRUT. β -O-4 (H_α EM ESTRUTURAS β -1) PROT. VINÍLICOS
6,20-5,90	PRÓTONS AROMÁTICOS (DE UNIDADES SIRINGÍLICAS)
6,75-6,40	PRÓTONS AROMÁTICOS (DE UNIDADES GUAIACÍLICAS)
7,20-6,75	PRÓTONS AROMÁTICOS (DE UNIDADES BENZALDEÍDICAS)
7,70-7,53	PRÓTONS AROMÁTICOS (DE UNIDADES CINAMALDEÍDICAS E BENZALDEÍDICAS)
10,0-9,60	

Tabela 19. Atribuições de RMN de ^{13}C , para ligninas acetiladas de coníferas²⁸

MADEIRAS DE CONÍFERAS	
δ (ppm/TMS)	Atribuições para RMN do ^{13}C , de ligninas acetiladas
20,96	$-\text{CH}_3$ EM GRUPO ACETIL (OCOCH_3)
21,33 A 30,02	$-\text{CH}_3$ E CH_2 EM CADEIAS ALIFÁTICAS SATURADAS
56,36	OCH_3
63,38	C_γ EM UNIDADES β -O-4 E β -5
112,16	C_2 (G-CH(OAC))
120,19	C_5 EM β -ARIL ÉTER (FORMA <i>ERYTHRO</i>) C_6 G-CH(OAC)- β -ARIL ÉTER
123,21	C_5 UNIDADES GUAIAC. ACETILADAS (C_α -OAC E -OR) C_β EM UNIDADES GUAIACÍLICAS ACETILADAS
127,5	C_2/C_6 DE UNIDADES P-HIDROXIFENÍLICAS
128,0	C_β EM UNIDADES GUAIACÍLICAS (G-CH=CH-CHO)
131,5	C_1 EM UNIDADES GUAIACÍLICAS (ETERIFICADAS) C_5 EM UNIDADES DIFENÍLICAS (C_5 - C_5)
140,0	C_1 E C_4 EM UNIDADES G-CH-O- C_4 EM UNIDADES G-CH (OAC)
147,1	C_4 EM UNIDADES GUAIACÍLICAS ETERIFICADAS (β -ARIL-ÉTER, FORMA <i>ERYTRO</i>)
152,4	C_3 EM UNIDADES GUAIACÍLICAS ETERIFICADAS C_α EM UNIDADES GUAIACÍLICAS
151,39	C_3 UNIDADES GUAIACÍLICAS ACETILADAS (C_α -OAC) C_4 UNIDADES GUAIACÍLICAS (C_α -OR E -OAC)
169,13	CO EM ACETIL AROMÁTICO
170,05	CO EM ACETIL ALIFÁTICO SECUNDÁRIO
171,05	CO EM ACETIL ALIFÁTICO PRIMÁRIO

G = UNIDADE GUAIACÍLICA; AC = ACETIL (COCH_3).

Tabela 20- Atribuições de RMN de ^{13}C , para ligninas acetiladas de folhosas²⁸
MADEIRAS DE FOLHOSAS

$\delta^{13}\text{C}$	Atribuições para RMN do ^{13}C , de ligninas acetiladas
195,1 – 193,9	$\alpha\text{-C=O}$ E $\gamma\text{-CHO}$
192,5 – 191,9	$\alpha\text{-CHO}$
171,4 – 170,4	C=O DE GRUPOS ACETILA DE ÁLCOOIS PRIMÁRIOS
170,3 – 169,9	C=O DE GRUPOS ACETILA DE ÁLCOOIS SECUNDÁRIOS
169,6 – 168,1	C=O DE GRUPOS ACETILA DE FENÓIS
153,8 – 152,6	C-3 DE Ga ($\alpha\text{-O-R}$), C-3/C-5 DE Sa ($\alpha\text{-OAc}$), C-3/C-5 DE Sa ($\alpha\text{-O-R}$). C-3/C-5 DE Se ($\alpha\text{-OAc}$), C- α DE Ar-CH=CH-CHO
151,9 – 151,3	C-3 DE Ga ($\alpha\text{-OAc}$), C-4 DE Ge ($\alpha\text{-O-R}$ E OAc)
151,0 – 150,1	C-3 DE Ge ($\alpha\text{-O-R}$)
148,8 – 148,6	C-3 DE Ge ($\alpha\text{-OAc}$)
145,1 – 144,7	C-4' DE Ge DE SUBESTRUTURAS FENILCUMARÂNICAS
140,6 – 140,3	C-4 DE Ga ($\alpha\text{-OAc}$), C-1/C-4 DE Ga ($\alpha\text{-O-R}$), C-1 DE Sa ($\alpha\text{-O-R}$)
138,7 – 137,4	C-1 DE Ga ($\alpha\text{-OAc}$), C-4 DE Se ($\alpha\text{-O-R}$)
136,9 – 135,2	C-4 DE Se ($\alpha\text{-OAc}$), C-1 DE Sa ($\alpha\text{-OAc}$), C-1 DE Se ($\alpha\text{-O-R}$), E C- α DE Ar-CH=CH ₂ -OAc
134,1 – 133,3	C-1 DE Ge ($\alpha\text{-O-R}$), C-1 DE Se ($\alpha\text{-OAc}$), C-1 DE Ge ($\alpha\text{-OAc}$), E C- β DE Ar-CH=CH-CHO
130,4 – 128,1	C-4 DE As ($\alpha\text{-OAc}$), C-4 DE As ($\alpha\text{-O-R}$)
125,0 – 123,1	C-5 DE Ga ($\alpha\text{-OAc}$ E $\alpha\text{-O-R}$)
120,5 – 120,1	C-6 DE Ge ($\alpha\text{-OAc}$ E $\alpha\text{-O-R}$)
118,6 – 118,4	C-5 DE Ge ($\alpha\text{-OAc}$), C-6 DE Ga ($\alpha\text{-OAc}$), C-6 DE Ga ($\alpha\text{-O-R}$)
117,6 – 116,6	C-5 DE Ge ($\alpha\text{-O-R}$)
112,6 – 112,4	C-2 DE Ge E C-2 DE Ga, AMBOS ($\alpha\text{-OAc}$)
112,0 – 111,0	C-2 DE Ge E C-2 DE Ga, AMBOS ($\alpha\text{-O-R}$)
106,8 – 106,6	C-2/C-6 DE Sa ($\alpha\text{-OAc}$ E $\alpha\text{-O-R}$)
105,5 – 104,0	C-2/C-6 DE Se ($\alpha\text{-O-4}$ E $\alpha\text{-O-R}$)
90,0 – 88,5	C- α DE SUBESTRUTURAS FENILCUMARÂNICAS
86,6 – 86,4	C- α DE $\beta\text{-}\beta$ (PINO E SIRINGORESINOL)
81,4 – 81,2	C- β DE $\beta\text{-O-4}$, C- α / C- β DE Ar-CHOAr-CHOAr-CH ₂ OAc
77,1 – 76,7	C- α DE $\beta\text{-1}$
75,5 – 74,3	C- α DE $\beta\text{-O-4}$
73,3 – 72,9	C- γ EM SUBESTRUTURAS BIFENÍLICAS TETRAHIDROFURANO
72,5 – 72,1	C- γ DE $\beta\text{-}\beta$ (PINO E SIRINGORESINOL)
67,9 – 67,1	C- γ DE SUBESTRUTURAS FENILCUMARÂNICAS
64,0 – 63,3	C- γ DE $\beta\text{-1}$, C- γ DE $\alpha\text{-O-4}$ + $\beta\text{-O-4}$, C- γ DE $\beta\text{-O-4}$
56,4 – 56,0	OCH ₃
55,3 – 55,1	C- β DE $\beta\text{-}\beta$ (PINO E SIRINGORESINOL)
51,6 – 51,2	C- β DE $\beta\text{-1}$ e SUBESTRUTURAS FENILCUMARÂNICAS
20,6 – 20,4	-CH ₃ DE GRUPOS ACETÍLAS

Em que: Sa, Ga = UNIDADES SIRINGÍLICAS E GUAIACÍLICAS ACETILADAS.
 Se, Ge = UNIDADES SIRINGÍLICAS E GUAIACÍLICAS ETÉRICADAS.

Observou-se pelo espectro de RMN de ^1H (Figura 46), que em ordem crescente de deslocamento tem-se sinais em: 1,38 δ de prótons de contaminantes de hidrocarbonetos alifáticos em pequena quantidade; em 2,2 e 1,87 δ , sinais de prótons de acetato alifático, em 3,81 δ , sinais de prótons em grupos metoxílicos, em 4,3 δ , H $_{\gamma}$ de várias subestruturas de lignina, em 6,06 δ , sinais de H $_{\alpha}$ em subestruturas $\beta\text{-O-4}$ (H $_{\alpha}$ em subestruturas $\beta\text{-1}$) ou prótons vinílicos, em 6,76 δ , sinais de

prótons aromáticos (de unidades siringílicas) e em 7,00 δ , sinais de prótons aromáticos (de unidades guaiacílicas); ressalta-se, que o sinal 1,38 δ , referente aos prótons contaminantes de hidrocarbonetos alifáticos, é bem pequeno; o que demonstrou o grau pureza da amostra em análise e, também, que o espectro mostra que o sinal referente a unidades guaiacílicas (7,00 δ), é bem maior que o de unidades siringílicas (6,76 δ). Concluindo-se que se trata de uma conífera (gimnospermas), mas com características químicas também, de madeiras folhosas.

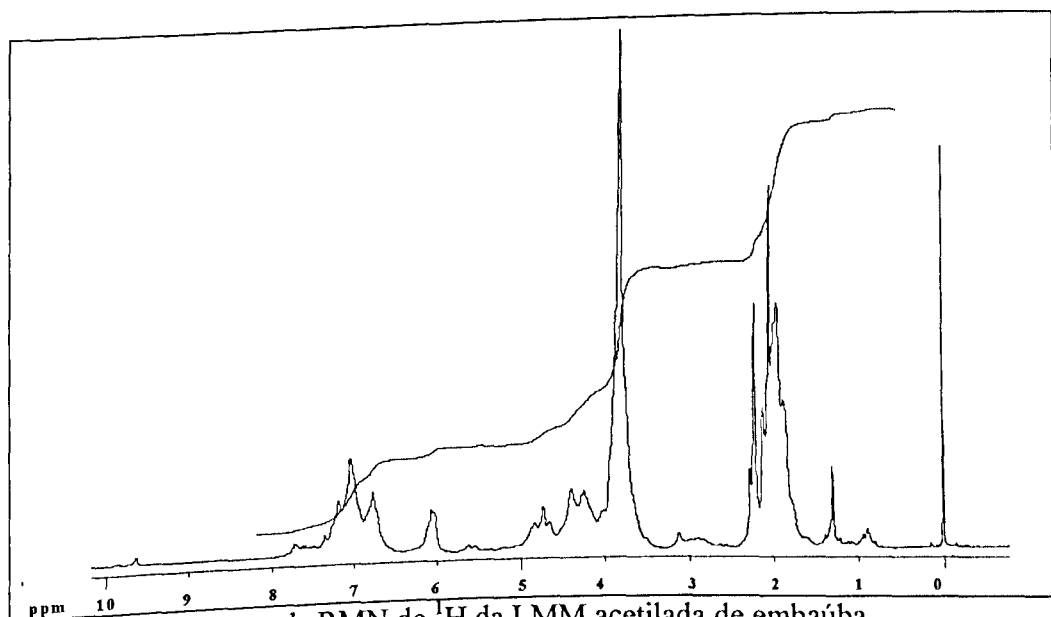


Figura 46. Espectro de RMN de ^1H da LMM acetilada de embaúba.

A figura 47 apresenta o espectro de RMN de ^{13}C para lignina acetilada de embaúba, em que observa-se: de 20,9 a 20,3 δ , sinais de carbonos de $-\text{CH}_3$ de grupo acetil (OCOCH_3), proveniente da acetilação da amostra; de 32,5 a 29,2 δ , sinais de carbonos de $-\text{CH}_3$ e CH_2 em cadeias alifáticas saturadas, proveniente de contaminantes alifáticos; ficando então a análise propriamente dita sobre a amostra, contida entre os deslocamentos de 55,3 a 200,0 δ .

Observa-se: em 55,3 δ , sinais de C- β de subestruturas $\beta-\beta$ siringorresinolica; de 56,4 a 56,3 δ , sinais de carbonos de OCH_3 (metoxilas), de unidades guaiacílicas e siringílicas, o que demonstra o elevado teor de metoxilas encontrado nas análises de metoxilas, o que não seria esperado para uma madeira mole. De 63,2 a 65,7 δ tem-se C_γ em subunidades $\beta\text{-O-4}$ e $\beta\text{-5}$; em 72,5 δ tem-se sinais de C_α em $\beta\text{-O-4}$ de unidades guaiacílicas e siringílicas; em 105 δ , tem-se sinais de

C – 2 / C – 6 de unidades siringílicas; em 112,1 δ tem-se sinais de C₂ (Guaiacílicas –CH-OAC); em 123,2 δ tem-se sinais de C₅ de unidades guaiacílicas acetiladas (C _{α} -OAC e –OR); em 152,1 δ tem-se C – 3 / C – 5 de em β -O-4 em unidades siringílicas . De 152,0 a 154,0 δ , tem-se sinais de C₃/C₅ de unidades siringílicas eterificadas; de 170,9-168,9 δ , tem-se sinais de C=O em acetil proveniente da acetilação e, por último o sinal em 192,0 δ , sinais de carbonos de α -CHO de unidades benzaldeídicas.

Também neste experimento, como no anterior, não se observou uma grande quantidade de contaminantes, tratando-se então, de uma lignina com elevado grau de pureza.

Observando-se os vários sinais referentes a unidades siringílicas, conclui-se também por RMN de ¹H e por RMN de ¹³C da LMM acetilada, que se trata de uma madeira com predominância de unidades guaiacílicas (coníferas), porém, com grande porcentagem de unidades siringílicas, acima do esperado para esta.

Aliando-se este elevado teor de unidades siringílicas, o que facilitaria a dissolução da LMM para o isolamento da celulose, com as propriedades físicas e mecânicas (quadro 1, página 27) que a qualifica como coníferas e, sabendo-se que as coníferas apresentam fibras longas o que confere melhor qualidade ao papel; acredita-se que este vegetal possa então ser empregado para a produção de pasta de celulose, com economia de solventes para o seu isolamento e com vantagens sobre o eucalipto, pois esta ainda pode ser utilizada como fonte de alimentos para a fauna.

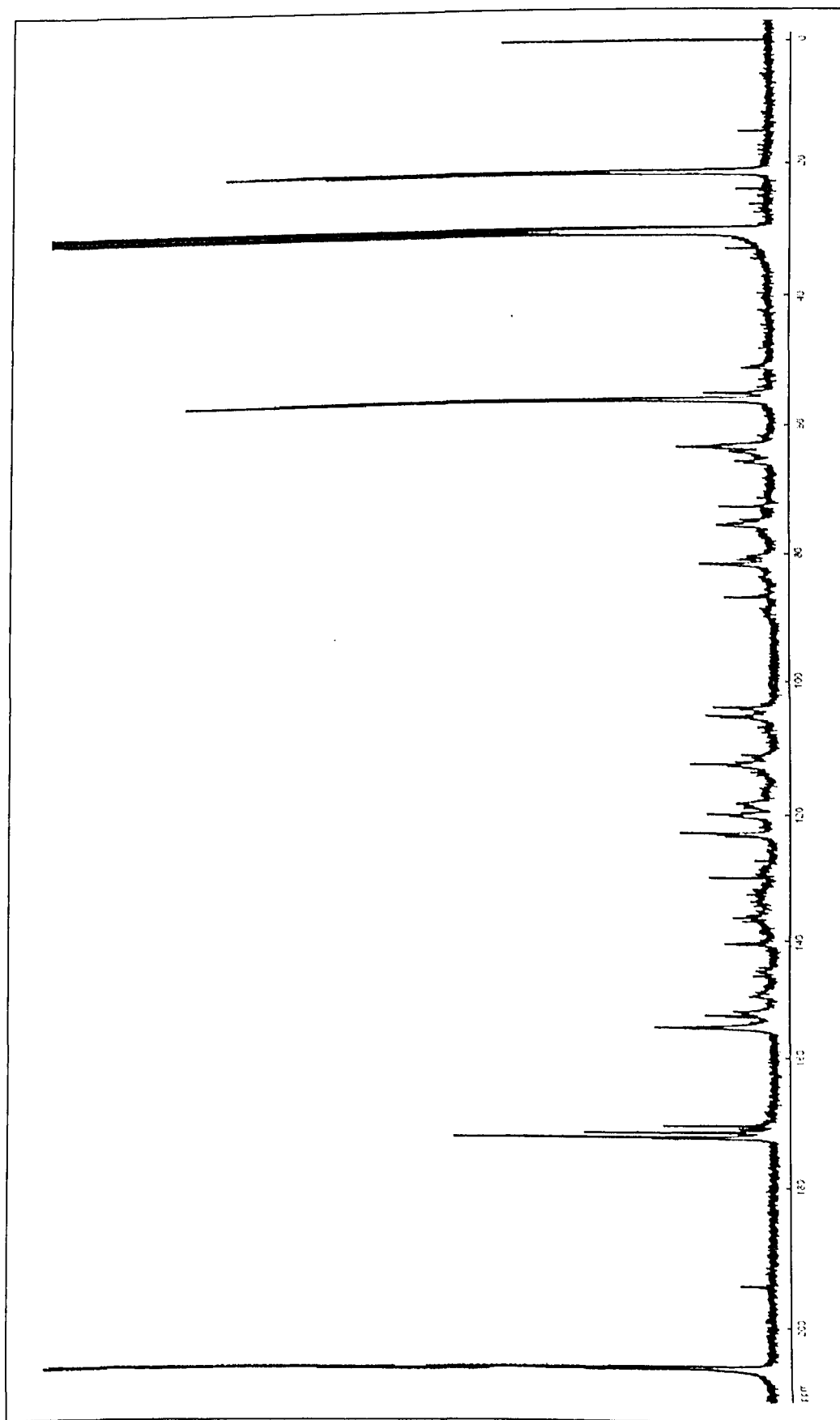


Figura 47. Espectro de RMN de ^{13}C da LMM acetilada de embaúba.

5.11.7 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS⁴⁵

A determinação de proteínas se dá pela multiplicação entre a porcentagem de nitrogênio na análise elementar (microanálise) por 6,25% que é média deste em uma proteína total. Assim foram obtidos: 1,18% de proteínas em relação à massa total de lignina.

O teor de nitrogênio foi subtraído da análise elemental no cálculo da fórmula mínima da lignina.

Capítulo 6

- CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

Observa-se que, este vegetal é bastante rico em extrativos voláteis, tanto em quantidade, como em variedade de componentes, em que se pode identificar 52 (página 89) compostos diferentes em todo o vegetal e estes ainda se encontram em concentrações variadas em cada parte da planta. Há uma predominância quantitativa de ácidos carboxílicos. Provavelmente, outras substâncias mesmo em menor concentração, possa ter igual ou maior interesse dependendo de sua atividade.

Comprovou-se o potencial fitotóxico dos extratos por meio de bioensaios de germinação e desenvolvimento da parte aérea capim-colônia (*P. maximum*), o que confere mais uma grande utilidade para este vegetal, tanto para recuperação de áreas de reflorestamentos, quanto para produção de herbicidas naturais, o que pode ser muito útil na agricultura. Espera-se que em trabalhos futuros, possam ser caracterizados quais compostos apresentam este efeito alelopático, ou mesmo, qual a combinação destes produz tal efeito. O que possibilitaria uma maior aplicabilidade para este vegetal da flora brasileira.

A embaúba é uma madeira mole, mas a LMM desta planta, embora apresente uma predominância de unidades guaiacílicas (coníferas), porém, possui uma porcentagem significativamente elevada de unidades siringílicas, características de folhosas, o que resultou em uma fórmula mínima atípica para esta lignina $[C_9H_{6,86}O_2(H_2O)_{1,3} (OCH_3)_{1,15}]$; pois o esperado para coníferas seria abaixo de 1,00 de unidades metoxílicas por unidades C_9 .

Esta caracterização e as semelhanças anatômicas e morfológicas entre a árvore de embaúba, o mamoeiro e mesmo o bambuzal, sugere que este vegetal se enquadraria melhor na classificação, como sendo pertencente ao grupo basal e, não nos grupos de monocotiledôneas ou eudicotiledôneas como é normalmente classificada nas literaturas embora, apenas 3% das angiospermas, estejam classificadas neste grupo⁷⁸.

No geral, comprovou-se o potencial desta planta como fonte de vários compostos químicos. Comprovou-se, também, o poder alelopático o que a qualifica como útil em reflorestamentos com a grande vantagem, de ser também, fonte de alimento para nossa fauna.

Ao final deste, estamos certos de que contribuímos para um melhor conhecimento da flora brasileira, sua importância e utilidade.

Capítulo 7

- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Catálogo de las plantas vasculares de la Argentina. Disponível em: <<http://www.darwin.edu.ar/Catalogo/cecropiaceae.pdf>> Acesso em: 02 maio 2001.
2. JUAN H.V.; SAAD, J.R.; PELZER, L.; GUARDIA, T.; GIORDANO, O.S. **Antiinflammatory activity of natural compounds isolated from *Cecropia pachystachya***: Anales Asociación Química. Argentina. 1997.
3. BALBACHAS, A. *et al.* **Plantas que curam**: 9. ed. Editora missionária; São Paulo, Brasil, 1959, p.342.
4. Herbotecnia.com.ar. Disponível em: <<http://www.herbotecnia.com.ar/aut-ambai.html>>. Acesso em: 02 maio 2001.
5. **The New York botanical**, GARDEM. Disponível em: <http://scisun.nybg.org:8890/searchdb/owa/wwwspecimen.search_list?taxon=Cecropia&projcode=VASC>. Acesso em: 05 maio 2002.
6. LORENZI, H. **Arvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas; 2. ed.; Editora Plantarum; Nova Odessa; São Paulo, Brasil, 1998, v.1, 373p.
7. HASHIMOTO, G. **Plantas brasileiras**. Disponível em: <www.brazilian-plants.com/br/embauba.html>. Acesso em: 05 maio 2002.
8. **Screening micro-fármaco-toxicológico de plantas medicinales utilizadas en la medicina popular**. Argentina. Disponível em: <<http://www.kennedy.edu.ar/Givt/biolo00.htm>>. Acesso em: 10 agosto 2002.
9. PANIZZA, S. **Plantas que curam**: cheiro de mato. São Paulo, IBRASA, 1997.
10. D'AMEIDA, M. L. O. **Composição química dos materiais lignocelulósicos em celulose e papel**: Tecnologia de Fabricação da Pasta Celulósica; 2. ed.; São Paulo, 1988, p.45.
11. Ervas feiticeiras da Amazônia. Disponível em: <<http://www.geocities.com/RainForest/4766/ervas.htm>>. Acesso em: 04 maio 2002.
12. FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood chemistry, ultra structure, reactions**; Walter de Gruyter & Co; Berlin, 1984.
13. IPEF on line. INSTITUTO DE PESQUISAS E ESTUDOS FLORESTAIS. Disponível em: <<http://www.ipef.br>>. Acesso em: 01 março 2002.
14. MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A.; QUEIROZ, C. R. A. A. **Studies on polyphenols and lignin of *Astronium urundeuva* wood**. *Journal of Brazilian Chemistry Society* 1999, 10(6), 447.
15. GUADAYOL, J. M.; CAIXACH, J.; RIBÉ, J.; CABAÑAS, J.; RIVERA, J. **Extraction, separation and identification of volatile organic compounds from paprika oleoresin (Spanish Type)**. *Journal of Agriculture, Food and Chemistry* 1997, 45, 1868.
16. HAFÝZODLU, H.; REUNANEN, M. **Composition of oleoresins from bark and cones of *Abies normanniana* and *Picea orientalis***. *Holzforschung* 1994, 48(1), 7.

17. ONAYADE, O. A.; LOOMAN, M. G.; SCHEFFER, J. J. C.; GBILE, Z. O. **Lavender lactone and other volatile constituents of the oleoresin from seeds of *Garcinia kola* Heckel.** *Flavour and Fragrance J.* 1998, 13 (6), 409.
18. ZINKEL, D. F.; MAGEE, T. V. **Resin acids of *Pinus ponderosa* needles.** *Phytochemistry* 1991, 30(3), 845.
19. GRAHAM, H. M.; KURTH, E. F. **Constituents of extractives from Douglas-fir.** *Ind. Eng. Chem* 1949, 41, 409.
20. WISE, L.E.; MURPH, M.; D'ADDIECO, A. A. **Chlorate holocellulose, its fractionation and bearing on summative wood analysis and studies on the hemicelluloses.** *Paper Trade Journal* 1946, 122(2), 35.
21. SARKANEN, K. V.; LUDWIG, C. H. **Lignins, occurrence, formation, structure and reactions;** Wiley-Interscience; New York, 1971.
22. SOLTES, E.J.; ELDER, T. J. **Pyrolysis.** In: I.S. Goldstein (editor), **organic chemicals from biomass.** CRC Press, Boca Raton, FL, 1981, p. 63-99.
23. GOHEEN, D.W. **Chemicals from lignin: in Organic chemicals from biomass,** Goldstein, I.S., Ed, CRC Press, Boca Raton, FL, 1981, Chapter 8, p.143 -162.
24. WEGENER, G., FENGEL, D. **Lignin-macromolecule, cell-wall component, raw-material.** *Papier* 1983, 37(10A): V22.
25. FREUDENBERG, K. **In constitution and biosynthesis of lignin.** edited by Freudenberg, K. & Neish, A.C. Berlin, Heidelberg, New York: Springer. 1968, p. 45-122.
26. CRAMER, A. B.; HUNTER, R. D.; HIBBERT, H. **Studies on lignin and related compounds.** XXXV. The ethanolsis of spruce wood. *Journal American Chemistry Society* 1939, 61(2), 509.
27. ADLER, E. **Lignin-past, present and future.** *Wood Science Technology* 1977, 11, 169.
28. MORAIS, S. A. L. **Contribuição ao estudo químico e espectroscópico da lignina de madeira moída do *Eucalyptus grandis*: Isolamento, quantificação e análise estrutural;** Tese (Doutorado)- UFMG, Brasil, 1992. 275 p.
29. MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A.; VELOSO, D. P. **Isolamento e análise estrutural de ligninas.** *Química Nova* 1993, 16(5), 435.
30. NIMZ, H.; ANGEW. **Beech lignin-proposal of a constitutional scheme.** *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1994, 74, 313.
31. SJÖSTRÖM, E. **Wood chemistry, fundamentals and applications;** and ed.; Academic Press; California, 1993.
32. BLAND, D.E.; MENSUN, M. **Composition and reactive groups of lignin of *Eucalyptus regnans*.** *Appita* 1970, 23 (6), 427.
33. LANDUCCI, L. L.; DEKA, G. C.; ROY, D. N. A. **¹³C NMR study of milled wood lignins from hybrid *Salix* Clones.** *Holzforschung* 1992, 46, 505.
34. SCHULTZ, T. P.; GLASSER, W. G. **Quantitative structural analysis of lignin by diffuse reflectance Fourier transform infrared spectrometry.** *Holzfor-schung* 1986, 40, 37.
35. LUNDQUIST, K. *Acta Chemistry Scandinavian* 1979, 33(1), 27; 1979, 33(6), 418; 1980, 34(1), 21; 1981, 35(7), 3; 1983, 37(8), 743.

36. HAW, J. F.; MACIEL, G.E.; BIERMANN, C. J. **C-13 nuclear magnetic-resonance study of the rapid steam hydrolysis of red oak.** *Holzforschung* 1984, 38(6): 327.
37. GARDNER, D.J.; SCHULTZ, T.P. and MCGINNIS, G.D. **The pyrolytic behavior of selected lignin preparations.** *Journal Wood Chemistry Technology* 1985, 5 (1), 85.
38. LUNDQUIST, K. **Methods in lignin chemistry**; Eds. S. Y. Lin and C. W. Dence, Springer; Heideberg, 1992.
39. GLASSER, G. W.; SARKANEN, S. **Lignin-properties and materials**; ACS Symposium Series, 1989, 397 p.
40. LUDERMANN, H. D.; NIMZ, H. **C-13 nuclear magnetic-resonance spectra of lignins.** *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1973, 52(4), 1162.
41. LUDERMANN, H. D.; NIMZ, H. **C-13 NMR spectra of lignins .1. chemical-shifts of monomeric and dimeric model substances.** *Makromol Chemistry* 1974, 175, 2393.
42. OBST, J. R.; LANDUCCI, L. L. **The syringyl content of softwood lignin.** *J Wood Chemistry Technology* 1986, 6, 311.
43. KRINGSTAD, K. P.; MORCK, R. **C-13 NMR spectra of kraft lignins.** *Holzforschung* 1983, 37, 237 and 1985, 39, 109.
44. STACCIOLI, G.; STURANO, A.; PARVOLI, G. **GC/MS investigation on the dichloromethane extract from a subfossil larch.** *Holzforschung* 1997, 51, 107.
45. BROWING, B. L. **Methods of wood chemistry**; Vol. II, Interscience Publishers; 1967.
46. CHEN C-L: **Lignin:occurrence in woody tissues, isolation, reactions, and structure**: In wood structure and composition. Edited by LEWIN M, GOLDSTEIN IS. New York: Marcel Dekker, 1991, p.183-261.
47. CHOU, C. **Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. critical review in plants sciences.** *Critical Review in Plants Sciences* 1999,18(5), 609.
48. INSTITUTO BIOLÓGICO SABIO. **Alelopatia.** Disponível em: <www.geocities.com/~esabio/interacao/alelopatia.htm>. Acesso em: 08 fevereiro 2002.
49. ERNST G. **Alelopatia entre espécies.** São Joaquim da Barra/SP em Set/2001. Disponível em: <www.agrofloresta.net/audio/alelopatia.htm>. Acesso em: 08 fevereiro 2002.
50. **Alelopatia: A defesa natural das plantas.** Disponível em: <www.jardimdeflores.com.br/ESPECIAIS/A09alelopatia.html>. Acesso em: 08 fevereiro 2002.
51. MIZUTANI, J. **Selected allelochemicals.** *Critical reviews in plants sciences* 1999, 18(5), 653.
52. Embaúba. Disponível em: <www.esalq.usp.br/trilhas/medicina/am26.htm>. Acesso em: 04 fevereiro 2002.

53. Planeta Orgânico. Disponível em: <www.planetaorganico.com/native2.htm> Acesso em: 12 abril 2003.
54. Base de dados tropical. Disponível em: <www.bdt.org.br/iScan?39+mata.ciliar.recomp+1+0+index> Acesso em: 05 janeiro 2003.
55. HERNANDEZ-TERRONES, M.G.; AGUILAR, I.; KING D., B.; LOTINA-H. B. **Inhibition of photophosphorylation in spinach chloroplasts by the trachyloban-19-oic acid.** *Pest. Bioch. and Phys.* 2003, 77,12.
56. TECHNICAL ASSOCIATION OF THE PULP AND PAPER INDUSTRY (TAPPI). **Acid insoluble lignin in wood and pulp.** Atlanta, 2000. 2p. (T 222 om-88).
57. STEPHEN, O.; DUKE, F. D.; AGNES, R. **Natural products as tools for weed management: recent topics of weed science and weed technology**, Tokyo, Japan, 1998, p.1-11.
58. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Farmacopéia brasileira**, método geral 03, 3. ed. Andrei, 1976, p.915.
59. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA TÉCNICA DE CELULOSE E PAPEL (ABTCP). **Normas técnicas ABCP.** São Paulo, ABTCP, 1974, n.p.
60. TECHNICAL ASSOCIATION OF THE PULP AND PAPER INDUSTRY (TAPPI). **Sampling and preparing wood for analysis.** Atlanta, 2000. 3p. (T 257 om-88).
61. BERI, R. M.; KARNIK, M. G.; DHARASI, S. C. Note on Dowga bamboo wax. *Indian Forester* 1967,93, 188.
62. BRASILEIRO, L. B. **Branqueamento fotoquímico da polpa organossolve do *Eucalyptus grandis***; Dissertação (Mestrado) - UFMG; Belo Horizonte, 1993.
63. NASCIMENTO, E. A.; MORAIS, S. A. L.; VALLEJO, M. C. G.; FERNANDEZ-VEJA, I.; VARELA, P. N. **The composition of wood extracts from spanish *pinus-pinaster* and brazilian *pinus-caribaea*.** *J. Journal of the Brazilian Chemistry Society* 1995, 6(4), 331.
64. GODEFROOT, M.; SANDRA, P.; VERZELE, M. **New method for quantitative essential oil analysis.** *Journal of Chromatography* 1981, 203, 325.
65. CÉLINE, S.; JEAN-LUC L. Q.; CATHERINE, G.; RÉMY, L. **Representative-ness of coffee aroma extracts: a comparison of different extraction methods.** *Food Chemistry* 1999, 70(1), 99.
66. ADAMS, R. P. **Identification of essential oil by gas chromatography / mass spectroscopy**; Copyright, Carol Stream, Illinois, USA, 1995.
67. SARKANEN, K. V.; CHANG, H. M.; ALLAN, G. G. **Species variation in lignins.3. hardwood lignins.** *Tappi* 1967, 50(12), 587. **Species variation in lignins .2. Conifer lignins.** *Tappi* 1967, 50 (12): 583.
68. FAIX, O. **Fourier transforms infrared spectroscopy**, in: **methods in lignin chemistry**; Eds. S. Y. LIN and C. W. DENCE, SPRINGER; Heideberg, 1992.
69. FAIX, O. **Investigation of lignin polymer models (dhps) by FTIR spectroscopy.** *Holzforschung* 1986, 40 (5), 273.

70. FAIX, O. Classification of lignins from different botanical origins by FTIR spectroscopy *Holzforschung* 1991, 45 (Sup.), 21.
71. FAIX, O.; SCHWERS, W. Comparative investigations on polymer models of lignins (dhps) of different composition .3. IR-spectroscopic investigations. *Holzforschung* 1974, 28(12),50.
72. SARKANEN, K. V.; CHANG, H. M.; ERICSSON, B. Species variation in lignins. I. Infrared spectra of guaiacyl and syringyl models. *Tappi* 1967, 50 (11P1): 572.
73. ZINKEL, D. F.; MAGEE, T. V. Resin acids of pinus-ponderosa needles. *Phytochemistry* 1991, 30(3), 845.
74. CONCEPCIÓN, A. A. P.; GANZÁLES, M. E. T.; CUELLAR, A. C. *Cecropia peltata* L. Estudios farmacognósticos y de la composición de ácidos grasos libres. *Rev Cubana Farm.* 2000, 34, 129.
75. NEIDLEIN, R.; KOCH, E. Zur struktur der inhaltsstoffe von *Cecropia adenopus martius*. *Archiv der Pharmazie* 1980, 313, 193.
76. NEIDLEIN, R.; KOCH, E. Zur struktur der inhaltsstoffe von *Cecropia adenopus martius*. *Archiv der Pharmazie* 1980, 313, 199 – 207.
77. NEIDLEIN, R.; KOCH, E. Zur struktur der inhaltsstoffe von *Cecropia adenopus martius*. *Archiv der Pharmazie* 1980, 313, 498.
78. CARVALHO, D. A. Sistemática vegetal: pteridófitas, gimnospermas, angiospermas; Lavras, MG. UFLA, 2001,170.