



**CAROLINE JUNQUEIRA SARTORI**

**ESTUDOS QUÍMICOS E ANATÔMICOS DE  
CASCAS DE CLONES DE *Eucalyptus***

**LAVRAS - MG**

**2016**

**CAROLINE JUNQUEIRA SARTORI**

**ESTUDOS QUÍMICOS E ANATÔMICOS DE CASCAS DE  
CLONES DE *Eucalyptus***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia da Madeira, área de concentração: a madeira como matéria-prima, para a obtenção do título de Doutora.

Orientador

Dr. Fábio Akira Mori

**LAVRAS - MG**

**2016**

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

Sartori, Caroline Junqueira.

Estudos químicos e anatômicos de cascas de clones de  
*Eucalyptus* / Caroline Junqueira Sartori. – Lavras: UFLA, 2016.  
137 p.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2016.

Orientador(a): Fábio Akira Mori.

Bibliografia.

1. Cascas. 2. Compostos bioativos. 3. Açúcares. 4. Biorefinaria.  
5. Anatomia. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

**CAROLINE JUNQUEIRA SARTORI**

**ESTUDOS QUÍMICOS E ANATÔMICOS DE CASCAS DE  
CLONES DE *Eucalyptus***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia da Madeira, área de concentração: a madeira como matéria-prima, para a obtenção do título de Doutora.

APROVADA em 19 de abril de 2016.

Dra. Maria Lúcia Bianchi	UFLA
Dra. Helena Margarida Nunes Pereira	ISA/UTL
Dra. Alessandra Oliveira Ribeiro	UFLA
Dr. André Luiz Zangiácomo	UFLA

Dr. Fábio Akira Mori  
Orientador

**LAVRAS - MG  
2016**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pelo dom da vida, pelas oportunidades, pela proteção e por ter colocado em minha vida pessoas muito especiais que direta ou indiretamente colaboraram com a realização deste trabalho.

A toda minha família, por ser o meu porto seguro. Pai, mãe, Pedro e vó, tudo é por vocês. Pola, Vanessa e Sabrina, primas e amigas, obrigada pela força e parceria.

Aos amigos e colegas de trabalho Alessandra, Marina, Maíra, Cassiana, Jeyme e Jonnys, pelos momentos de apertos e alegrias que passamos juntos. A todos os colegas do Laboratório de Ciência e Tecnologia da Madeira.

Aos amigos antigos, poucos, porém verdadeiros, Anna Gabriela, Thaísa, Juliana, Nathália e Matheus, obrigada pelo simples fato de existirem e permanecerem em minha vida.

Ao Emaús, por me tornar uma pessoa mais forte em Cristo, aos amigos do Emaús, em especial aos da Equipe de 4º dia, pelas orações e pela amizade.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Fábio Akira Mori e coorientador Prof. Dr. Lourival Marin Mendes, pela orientação, pelos ensinamentos, pelo incentivo e pela preocupação e a todos os demais professores do departamento de Ciência e Tecnologia da Madeira.

Às empresas colaboradoras Plantar e Vallourec unidade Florestal.

À CAPES, pela concessão de bolsa de estudos e bolsa para realização de Doutorado Sanduíche.

Ao Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa e seus professores e funcionários, que muito contribuíram para este trabalho, Professora Helena, Tereza, Izabel, Graça, Gominho, Joaquina, Cristiana, Joana, Duarte e Lídia.

Agradeço a Portugal, por ter me recebido de braços abertos e por tornar os 11 meses lá vividos inesquecíveis! A todos os amigos portugueses e brasileiros que lá fiz, em especial minha amiga e companheira de jornada Graciene, pelos momentos inesquecíveis e pelos cuidados comigo. Sol, Ritinha, Júnia, Sofia, Carla, Vice, Maria, Giselly, muito obrigada por cada momento.

A Katy e toda sua família, muito obrigada por nos receber e nos permitir sentir como membro da família.

A todos que de maneira direta e indireta contribuíram para a realização deste trabalho, meu sincero e eterno agradecimento.

## RESUMO GERAL

As cascas são resíduos gerados em quantidades expressivas pelas indústrias de transformação da madeira, com isso tornam-se relevantes os estudos básicos de suas propriedades anatômicas e químicas, com o intuito de um melhor aproveitamento desse material. Neste trabalho os objetivos foram realizar estudos anatômicos, químicos e de taninos das cascas de clones comerciais de *Eucalyptus*. Para isso, foram preparadas lâminas histológicas permanentes para caracterização anatômica e porcentagem de elementos celulares; os elementos celulares foram dissociados para biometria dos elementos. As análises químicas realizadas foram de extrativos, cinzas, lignina, suberina, açúcares, fenóis, taninos, flavonoides e atividade antioxidante dos extratos. Os taninos foram extraídos em água e com emprego de sulfito de sódio, e posteriormente foram avaliadas as propriedades por FT-IR. Verificou-se pela caracterização anatômica e quantificação química, a semelhança entre os clones. Com relação à biometria dos elementos celulares, não foram verificadas diferenças estatísticas significativas para os parâmetros comprimento e diâmetro do elemento de tubo crivoso, diâmetro do parênquima axial e altura dos raios. O rendimento em taninos condensados e Índice de Stiasny para os clones estudados são baixos, mostrando a inviabilidade de utilização das cascas para a extração de taninos e produção de adesivos, porém os taninos e demais compostos fenólicos bioativos podem ser utilizados nos setores de farmácia e cosméticos devido ao seu potencial antioxidante. Devido ao alto rendimento de açúcares verificado, em média de 46,68%, mostram-se promissores, com elevado rendimento em glucose 84,02%, sendo interessante para a aplicação em biorrefinaria.

Palavras-chave: Compostos bioativos. Taninos. Cascas. Açúcares. Biorrefinaria.

## GENERAL ABSTRACT

The barks generated from the wood processing industries are wastes generated in significant quantities, becoming interesting to have basic studies of their anatomical and chemical properties in order to make better use of this material. This study aimed to carry out anatomical studies, chemical and tannins from the barks of commercial clones of *Eucalyptus*. For this, permanent histological slides for anatomical characterization and percentage of cellular elements were prepared; and cellular elements were dissociated for biometry of the elements. The analyses were related to chemical extractives, ash, lignin, suberin, sugars, phenols, tannins, flavonoids and antioxidant activity of the extracts. The tannins were extracted in pure water and with water mixed with sodium sulfite, and were subsequently evaluated the properties by FT-IR. It was verified by the anatomical characterization and chemical quantification, the similarity between the clones. Regarding the biometrics of cellular elements, statistically significant differences were not observed for the following parameters: length and diameter of sieve tube, axial parenchyma diameter, and rays height. The yield of condensed tannins and Stiasny index for studied clones are low, showing the infeasibility of using bark for the extraction of tannins to produce adhesives, however tannins and other bioactive phenolic compounds can be used in the pharmaceutical and cosmetics sectors due to its antioxidant potential. The spectrum of tannins is the same as the one found the literature. Due to the high yield of verified sugar, (around 46,68%) sugars are potential products, with a high yield of glucose , it is interesting for application in biorefinery.

Keywords: Bioactive compounds. Tannins. Barks. Sugars. Biorefinery.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

<b>Figura 1</b>	Estrutura de um flavonoide.....	23
-----------------	---------------------------------	----

### CAPÍTULO 2

<b>Figura 1</b>	Mapa da localização das empresas.....	42
<b>Figura 2</b>	Seção transversal das cascas dos clones.....	52
<b>Figura 3</b>	Seção transversal das cascas dos clones na região do floema não colapsado.....	53
<b>Figura 4</b>	Seção transversal das cascas dos clones na região do floema colapsado.....	54
<b>Figura 5</b>	Macerado de Fibras e Fibroesclereídes dos clones A, B e C: híbridos de <i>E. urophylla</i> e D: híbrido de <i>E. urophylla</i> x <i>E. camaldulensis</i> .....	55
<b>Figura 6</b>	Cristais A, B e C: híbridos de <i>E. urophylla</i> e D: híbrido de <i>E. urophylla</i> x <i>E. camaldulensis</i> .....	56
<b>Figura 7</b>	Seção Longitudinal tangencial das cascas dos clones.....	57
<b>Figura 8</b>	Seção Longitudinal radial das cascas dos clones.....	58
<b>Figura 9</b>	Seção Transversal das cascas dos clones.....	59

### CAPÍTULO 4

<b>Figura 1</b>	Espectro FT-IR do clone 1 com emprego de sulfito de sódio.	121
<b>Figura 2</b>	Espectro FT-IR do clone 2 com emprego de sulfito de sódio.	122
<b>Figura 3</b>	Espectro FT-IR do clone 1 em extração em água pura.....	123
<b>Figura 4</b>	Espectro FT-IR do clone 2 em extração em água pura.....	124
<b>Figura 5</b>	Espectro FT-IR do clone 1 em extração em água pura e com emprego de sulfito de sódio.....	128
<b>Figura 6</b>	Espectro FT-IR do clone 2 em extração em água pura e com emprego de sulfito de sódio.....	129
<b>Figura 7</b>	Espectro FT-IR dos clones 1 e 2 em extração em água pura e com emprego de sulfito de sódio.....	130
<b>Figura 8</b>	Espectro FT-IR do clone 1 e 2 em extração em água pura e com emprego de sulfito de sódio.....	131

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 2

<b>Tabela 1</b>	Informações dos genótipos estudados.....	42
<b>Tabela 2</b>	Valores percentuais de floema, floema não colapsado, floema colapsado e ritidoma.....	47
<b>Tabela 3</b>	Biometria de fibras, elementos de tubo crivoso (ETC), esclereíde, parênquima axial e radial para os quatro clones estudados.....	61
<b>Tabela 4</b>	Valores médios dos parâmetros claculados das fibras.....	63
<b>Tabela 5</b>	Valores médios de porcentagem de tecido por clone.....	65

### CAPÍTULO 3

<b>Tabela 1</b>	Origem do material industrial, diâmetro médio à altura do peito, espessura de casca para os quatro clones estudados.....	77
<b>Tabela 2</b>	Valores médios de extrativos presentes nas cascas dos quatro clones comerciais de <i>Eucalyptus</i> .....	86
<b>Tabela 3</b>	Composição de monossacarídeos nas cascas dos quatro clones comerciais de <i>Eucalyptus</i> .....	88
<b>Tabela 4</b>	Componentes lipofílicos identificados nos extratos de diclorometano das cascas dos quatro clones comerciais de <i>Eucalyptus</i> .....	90
<b>Tabela 5</b>	Rendimento de extração, teor de fenóis totais, taninos e flavonoides e atividade antioxidante dos extratos da casca de quatro clones comerciais de <i>Eucalyptus</i> .....	95

### CAPÍTULO 4

<b>Tabela 1</b>	Delineamento das modificações químicas dos taninos.....	113
<b>Tabela 2</b>	Valores médios de rendimento em extração, fenóis, taninos, flavonoides e capacidade antioxidante dos extratos das cascas dos dois clones comerciais de <i>Eucalyptus</i> .....	115
<b>Tabela 3</b>	Valores médios de rendimento gravimétrico em taninos condensado (TTC%), Teor de sólidos totais (TST%), Índice de Stiasny (IS%) e Teor de compostos não tânicos (TNT%)..	117
<b>Tabela 4</b>	Grupos funcionais e atribuições de frequência para os espectros de FTIR de taninos.....	120

## SUMÁRIO

	<b>CAPÍTULO 1</b> Introdução geral.....	13
1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
2	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	17
2.1	<b>Produção de madeira de <i>Eucalyptus</i> e geração de cascas como resíduo</b> .....	17
2.2	<b>Anatomia das cascas</b> .....	18
2.3	<b>Química das cascas</b> .....	19
2.4	<b>Taninos</b> .....	21
2.5	<b>Algumas utilizações dos taninos</b> .....	23
3	<b>CONSIDERAÇÕES GERAIS</b> .....	26
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	27
	 <b>CAPÍTULO 2</b> Estudos anatômicos de cascas de clones comerciais de <i>Eucalyptus</i> .....	36
1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	39
2	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	41
2.1	<b>Descrição do material e local de coleta</b> .....	41
2.2	<b>Determinação da percentagem de cascas</b> .....	43
2.3	<b>Análise macroscópica da casca</b> .....	43
2.4	<b>Análise anatômica microscópica</b> .....	43
2.4.1	<b>Preparo das amostras</b> .....	43
2.4.2	<b>Corte, coloração e montagem de lâminas</b> .....	44
2.4.3	<b>Observação ao microscópio</b> .....	45
2.4.4	<b>Determinação da percentagem de tecidos do floema</b> .....	45
2.4.5	<b>Estatística</b> .....	45
3	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	47
3.1	<b>Porcentagem de casca e camadas</b> .....	47
3.2	<b>Caracterização microscópica das cascas</b> .....	48
3.3	<b>Anatomia quantitativa</b> .....	60
4	<b>CONCLUSÕES</b> .....	67
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	68
	 <b>CAPÍTULO 3</b> Caracterização química de cascas de clones comerciais de <i>Eucalyptus</i> .....	72
1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	75
2	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	77
2.1	<b>Descrição do material, local de coleta e preparo das amostras</b> .....	77
2.2	<b>Cinzas</b> .....	78
2.3	<b>Extrativos</b> .....	78

2.3.1	Composição lipofílica.....	78
2.4	Suberina.....	80
2.5	Lignina.....	80
2.6	Açúcares.....	81
2.7	Conteúdo fenólico no extrato da casca.....	82
2.8	A atividade antioxidante do extrato da casca.....	83
3	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	86
4	<b>CONCLUSÃO.....</b>	98
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	99
	<b>CAPÍTULO 4 Estudos de taninos das cascas de clones de Eucalyptus.....</b>	104
1	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	107
2	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	109
2.1	Descrição do material, local de coleta e preparo das amostras.....	109
2.2	Conteúdo fenólico no extrato da casca.....	109
2.3	Atividade antioxidante do extrato da casca.....	111
2.4	Rendimento gravimétrico em taninos condensados.....	112
2.5	Obtenção dos taninos em pó.....	112
2.6	Modificação química dos taninos.....	112
2.7	Análises dos taninos utilizando a técnica de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	113
3	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	115
3.1	Espectro na região de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	119
4	<b>CONCLUSÃO.....</b>	132
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	133

## **CAPÍTULO 1 - Introdução geral**

## 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Eucalyptus*, originário da Austrália, possui cerca de 700 espécies adaptadas às mais diversas condições de clima e solo (MONTAGU; KEARNEY; SMITH, 2003). A *Eucalyptus urophylla* é uma espécie que possui boa produtividade e potencialidade para diversas regiões do Brasil, e possui como grande qualidade a tolerância ao ataque do cancro (*Cryphonectria cubensis*), muito comumente encontrado em condições ambientais sob climas tropicais (MORI; KAGEYAMA; FERREIRA, 1988). A *Eucalyptus urophylla* e seus híbridos são umas das espécies mais amplamente plantadas do gênero no Brasil para fins energéticos.

A área de árvores plantadas para fins industriais, no Brasil, totalizou 7,74 milhões de hectares em 2014, o que correspondeu a um aumento de 1,8% em relação a 2013. Dessa área total de espécies plantadas, 5,56 milhões de hectares correspondem a plantios de espécies do gênero *Eucalyptus* (INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES - IBA, 2015).

Para a produção de carvão, celulose e madeira serrada, grandes quantidades de resíduos lignocelulósicos são gerados (cascas, galhos e ponteiros), e segundo Foelkel (2005) e Pereira et al. (2010) o volume de cascas corresponde a valores de 10% a 18% nas espécies comerciais de eucaliptos. A casca forma um resíduo que, normalmente, é queimado para a geração de energia ou é descartado, poluindo o meio ambiente.

As cascas de *Eucalyptus* sp. são, assim, um subproduto ou, até mesmo, um resíduo para a maioria das indústrias, trazendo problemas de descarte e de ordens ambiental e econômica (CARNEIRO et al., 2001, 2009), uma vez que milhares de toneladas de casca são produzidas anualmente pelas indústrias que utilizam madeiras de eucalipto. Surge assim a necessidade de novas aplicações, que visem à redução da quantidade de resíduos excedente e agregue valor.

As cascas diferem da madeira, em termos de composição química. Geralmente, consistem de polissacarídeos (celulose, hemiceluloses), substâncias pécnicas, incluindo polímeros fenólicos e lignina, taninos de alto peso molecular e poliésteres reticulados, tais como suberina e cutina. A holocelulose das cascas contém, geralmente, uma maior proporção de manose, além de alguns componentes de baixo peso molecular, tais como fenólicos, ácidos graxos, açúcares e resinas (HON; SHIRAISHI, 2000).

As cascas são mais complexas do ponto de vista químico, acompanhado a heterogeneidade anatômica que se verifica. As grandes quantidades de extrativos presentes nas cascas, e o seu potencial interesse químico, têm levado a um número significativo de estudos sobre a composição desses compostos, mais expressivo para *E. globulus* (PEREIRA et al., 2010).

Os trabalhos atuais salientam o potencial da casca de *Eucalyptus* spp. como fonte de compostos bioativos valiosos, tais como compostos fenólicos (LI; XU, 2012; MOTA et al., 2013), matéria-prima para tratamento de efluentes (RAJAMOCHAN et al., 2014), como antioxidantes e antibactericidas (BOULEKBACHE-MAKHLOUF; SLIMANI; MADANI, 2013) para curtimento do couro e antioxidantes (VÁZQUEZ et al., 2009), assim como para produção de bioetanol (BRAGATTO, 2010; LIMA et al., 2013) e extração de taninos para produção de adesivos (CARNEIRO et al., 2001, 2009, 2010, 2012; MORI et al., 1999, 2001, 2002; VITAL et al., 2004).

São vários os estudos anatômicos e químicos do lenho do gênero *Eucalyptus*, para fins taxonômicos, ecológicos e tecnológicos, porém com relação as suas cascas esses estudos são mais raros, por se tratar de resíduos, bem como pela demora e dificuldade das técnicas habitualmente usadas nos trabalhos de anatomia com este material. Os primeiros estudos anatômicos de cascas do gênero *Eucalyptus* foram realizados por Chattaway (1953) e mais recentemente por Alfonso (1987), Patrício (2014) e Quilhó, Pereira e Richter (1999, 2000).

A madeira de *Eucalyptus*, por se tratar da matéria-prima madeireira mais utilizada na atualidade, é largamente investigada, com relação às suas propriedades físicas, químicas, anatômicas e mecânicas, porém com relação às cascas, tais estudos são mais raros. Sobretudo, no que diz respeito a clones de *Eucalyptus* comerciais nos trópicos, estudos anatômicos e químicos podem ser considerados escassos, sendo importante o conhecimento de suas propriedades quando se objetiva o seu melhor aproveitamento.

Tendo em vista a grande quantidade de cascas de *Eucalyptus* geradas como resíduo e o interesse em agregar valor a este subproduto, o objetivo neste trabalho foi um melhor conhecimento dessa matéria-prima, no que diz respeito à determinação das propriedades anatômicas e químicas, bem como estudos dos taninos das cascas de clones comerciais da espécie visando à produção de adesivos naturais para madeira.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Produção de madeira de *Eucalyptus* e geração de cascas como resíduo

A área de árvores plantadas para fins industriais no Brasil totalizou 7,74 milhões de hectares em 2014, sendo essa área correspondente a 0,9% do território brasileiro. Os plantios de *Eucalyptus* ocuparam 5,56 milhões de hectares da área de árvores plantadas no País, o que representa 71,9% do total, e estão localizados, principalmente, nos estados de Minas Gerais (25,2%), São Paulo (17,6%) e Mato Grosso do Sul (14,5%) (IBA, 2015).

Da área total de árvores plantadas no Brasil, 34% pertencem a empresas do segmento de celulose e papel, no segundo lugar, com 26,8%, encontram-se os proprietários independentes e fomentados. Em 2014, o Brasil manteve sua liderança no *ranking* global de produtividade florestal, sendo que a média dos plantios brasileiros de eucalipto atingiu 39 m<sup>3</sup>/ha.ano. Mantendo o Brasil em quarto lugar no *ranking* de produção de celulose e como primeiro produtor mundial de celulose de eucalipto (IBA, 2015).

Em 2012, o consumo de madeira de *Eucalyptus*, segundo a Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas - ABRAF (2013) foi de 130.570.991 m<sup>3</sup>, o que representou um aumento de 11,11% com relação ao ano anterior. O setor que mais consumiu foi o de papel e celulose (42,2%), seguidos do setor de lenha industrial (28,4%), setor de carvão (17,7%), indústria madeireira (5,4%), painéis reconstituídos (4,2%), madeira tratada (1,3%) e outros (0,8%).

No Brasil, as duas principais fontes de madeira utilizadas para a produção de celulose são as árvores plantadas de pinus e de eucalipto, responsáveis por mais de 98% do volume produzido. O país ocupa o quarto lugar no *ranking* dos países produtores de celulose de todos os tipos e como primeiro produtor mundial de celulose de eucalipto (IBA, 2015).

No país, existem cerca de 125 indústrias que utilizam carvão vegetal no processo de produção de ferro-gusa, ferro-ligas e aço, sendo que 80% estão concentradas no estado de Minas Gerais. Em 2014, o consumo nacional de carvão vegetal alcançou 5,30 milhões de toneladas, com 81% de participação de madeira oriunda de árvores plantadas (4,29 milhões de toneladas) (IBA, 2015).

Segundo Foelkel (1999, 2005), as espécies comerciais de eucaliptos de reflorestamento possuem entre 10 a 18% de seu tronco comercial como sendo de casca. As árvores clonais melhoradas geneticamente para alto incremento volumétrico contêm entre 9 a 12% de casca em volume.

O momento atual privilegia a sustentabilidade florestal e um máximo aproveitamento dos recursos naturais, sendo a casca de eucalipto vista não só como um combustível para as empresas, mas possivelmente como fonte de fibras e compostos químicos para diversos segmentos industriais. Segundo Mori (1997, 2000), uma alternativa de uso para o volume de casca excedente nas fábricas seria a extração de taninos para produção de adesivos para madeira; posteriormente as cascas poderiam ser queimadas nas caldeiras ou ser utilizadas em compostagem, além de como proposto por Bragatto (2010) a utilização das cascas em biorrefinaria.

## **2.2 Anatomia das cascas**

A casca representa todos os tecidos exteriores ao câmbio vascular, independentemente de sua origem (EVERT; EICHHORN, 2006), incluindo o floema, a periderme mais recente e o ritidoma.

A casca é originada por dois meristemas, o câmbio vascular e o felogênio. Por divisões periclinais, as iniciais do câmbio vascular, originam para o seu interior o xilema e para o exterior e em menor quantidade o floema. Para acompanhar o aumento em diâmetro da árvore, as células meristemáticas do

câmbio dividem-se anticlinalmente (QUILHÓ, 1998). Como a quantidade de floema produzida pelo câmbio vascular é geralmente menor que a do xilema, o floema velho é cada vez mais comprimido para a periferia (ESAU, 1976).

Assim o floema inclui duas regiões distintas: uma mais interna situada junto ao câmbio vascular, estruturalmente organizada e funcionalmente ativa que se designa por floema não colapsado e outra mais externa, desorganizada e funcionalmente inativa para a condução denominada de floema colapsado, segundo a terminologia proposta para a casca por Richter et al. (1996) e seguida por vários autores (QUILHÓ et al., 2013; SEM; QUILHÓ; PEREIRA, 2011).

O felogênio é um meristema constituído por um único tipo de células, quando observadas em corte transversal e apresentam forma retangular (CHATTAWAY, 1952, 1953). O felogênio produz através de divisões periclinais, células de felema (tecido suberoso, súber) para o exterior e células de feloderme para o interior. A periderme é assim constituída pelo conjunto de feloderme, felogênio e felema. As camadas de tecidos mortos isolados pela última periderme formam o ritidoma. O ritidoma pode incluir uma variedade grande de tecidos e de diferente origem, inclusive incluir tecido primário (ROTH, 1981).

As cascas típicas de *Eucalyptus* spp. podem conter cerca de 25 a 45% de elementos fibrosos (fibras de floema), 40 a 60% de parênquima axial e radial e de 2 a 15% de esclereídes (ALFONSO, 1987). A autora, ao estudar cascas de 21 espécies de *Eucalyptus*, verificou que tais estudos anatômicos trouxeram informações importantes sobre a estrutura, além de evidenciar características marcantes, que auxiliam na identificação das diferentes espécies estudadas.

### **2.3 Química das cascas**

A composição química da casca é complexa, e assim como na madeira varia entre e dentro das espécies, bem como entre a casca interna e externa

(ritidoma). Análises químicas das cascas de diferentes espécies indica que os componentes químicos podem ser classificados em quatro grandes grupos: polissacarídeos (celulose, hemiceluloses e materiais pécticos); lignina e polifenóis; suberina; e extrativos (gorduras, óleos, fitoesteróis, ácidos de resinas, ceras, taninos, terpenos, flobafenos e flavonoides) (ROWELL, 2005).

As cascas, assim como as madeiras, possuem em sua composição química os componentes estruturais e os componentes acidentais orgânicos (extrativos) e inorgânicos (cinzas). Como componentes estruturais tem-se a celulose, hemiceluloses e lignina. A celulose é um polímero formado por unidades do monossacarídeo 1,4  $\beta$ -D-glucose, originando um polímero linear constituído de regiões cristalinas e amorfas (GARCÍA HORTAL, 2007).

O ritidoma, normalmente contém menos celulose do que a casca interna. A celulose da casca tem o mesmo tipo de arranjo de rede cristalina (celulose I), como na madeira, mas o grau de cristalinidade é inferior (ROWELL, 2005).

As hemiceluloses são polissacarídeos ramificados compostos por muitas pentoses e hexoses, que têm um alto número de hidroxila, apresentando maior polaridade que a celulose e essas ramificações impedem a formação de cristais, sendo um polímero amorfo (FERRAN et al., 2006 citado por BILCATI, 2015). Em quase todos os casos, as hemiceluloses encontradas nas cascas são semelhantes às encontradas na madeira, com algumas variações na composição. Em geral, xilanas e glucomanas das cascas são semelhantes às encontradas em madeira (ROWELL, 2005).

A lignina é um material polifenólico, muito ramificado, tridimensional e amorfo, que confere rigidez à parede celular, atuando, ainda, como um permanente agente de ligação entre as células (GARCÍA HORTAL, 2007).

O teor de extrativos das cascas é bastante elevado em comparação com a madeira, mas os valores relatados na literatura podem ser muito diferentes, mesmo para as mesmas espécies, pois dependem do local e do método de

extração (ROWELL, 2005). Os principais extrativos da casca são caracterizados como compostos polifenólicos poliméricos (taninos, ácidos fenólicos, e outros), incluindo também ceras, quercitinas, flavonoides e açúcares solúveis (FENGEL; WEGENER, 1989).

As cinzas também são encontradas em grande quantidade nos materiais lignocelulósicos, na forma de sais, sendo os mais significativos os compostos de silício, cálcio e magnésio (RAMOS, 2003). Nas cascas de árvores, a grande quantidade de minerais pode resultar no acúmulo de cristais de oxalato ou carbonatos de cálcio ou magnésio (FOELKEL, 2005).

O teor de cinzas pode ser tão alto como 13% e, de um modo geral, a casca interna contém mais inorgânico, em comparação com a casca externa (ritidoma). Os principais elementos inorgânicos em casca são Na, K, Ca, Mg, Mn, Zn, e P (ROWELL, 2005).

#### **2.4 Taninos**

Os taninos vegetais ou naturais são, por definição, substâncias fenólicas que apresentam a propriedade de se associar e de se combinar com proteínas e com certos polióis. Esse comportamento é a base das propriedades tanantes que eles exercem sobre o colágeno da pele dos animais ao curso de sua transformação em couro (PIZZI, 1993). São extraídos, principalmente, da casca ou do cerne de algumas espécies. Suas propriedades variam entre diferentes espécies ou dentro da mesma espécie, dependendo do tecido vegetal (MORI, 1997).

No Brasil dentre as espécies que possuem potencial tanífero, pode-se destacar a acácia-negra (*Acacia mearnsii*) com 23,3% de taninos em relação ao peso seco do material (PANSERA et al., 2003), o barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) com 40% (MORI et al., 2006), o angico vermelho (*Anadenanthera colubrina*) com 11,89% (PAES et al., 2006) e *Anadenanthera peregrina* com

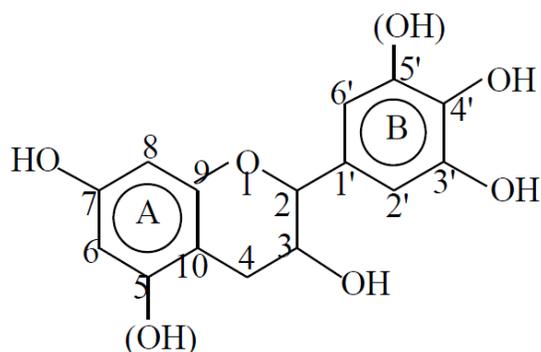
12,76% (SARTORI et al., 2014), a goiabeira (*Psidium guayava Raddi*) com 15,98% (TRUGILHO et al., 1997), eucaliptos (*Eucalyptus grandis*) com 18,6% (VITAL et al., 2004), o quebracho (*Schinopsis lorentzii*), entre outras.

Os taninos hidrolisáveis são ésteres de açúcares (usualmente glucose), com suas hidroxilas esterificadas com um ou mais ácidos fenólicos, comumente ácido gálico, digálico ou ácido elágico (FARMER, 1967). Para serem considerados taninos é necessário que pelo menos 3 grupamentos hidroxil da molécula de glicose estejam esterificados para exibir a capacidade de se ligar e precipitar proteínas (MUELLER-HARVEY, 2001). Sendo os taninos hidrolisáveis divididos em duas subclasses, de acordo com o seu produto da hidrólise, em galotaninos e elagitaninos.

Os taninos hidrolisáveis são ésteres de açúcares (usualmente glucose), com suas hidroxilas esterificadas com um ou mais ácidos. Os taninos vegetais ou naturais são, por definição, substâncias fenólicas que apresentam a propriedade de se associar e de se combinar com proteínas e com certos polióis. Esse comportamento é a base das propriedades tanantes que eles exercem sobre o colágeno da pele dos animais ao curso de sua transformação em couro (PIZZI, 1993). São extraídos principalmente da casca ou do cerne de algumas espécies e suas propriedades variam entre diferentes espécies ou dentro da mesma espécie, dependendo do tecido vegetal (MORI, 1997).

Já os taninos condensados ou proantocianidinas, largamente encontrados no reino vegetal, são polímeros formados pela policondensação de flavonoides (MONTEIRO et al., 2005). A Figura 1 representa a estrutura de um flavonoide, monômero de taninos condensados.

**Figura 1** Estrutura de um flavonoide



Fonte: Pizzi (1994).

As estruturas dos taninos condensados podem ser do tipo resorcinólico ou floroglucinólico no anel A e pirogalol ou catecol no anel B. O tipo resorcinólico é aquele que possui apenas uma hidroxila ligada ao carbono 7 no anel A, enquanto o tipo floroglucinólico possui hidroxilas nos carbonos 5 e 7. O anel B, tipo catecol, possui duas hidroxilas ligadas, respectivamente, aos carbonos 3' e 4', enquanto o anel B pirogalol possui hidroxilas ligadas aos carbonos 3', 4' e 5'. Em alguns taninos pode ocorrer o anel B fenólico, que possui apenas uma hidroxila ligada ao carbono 3' (PIZZI, 1983).

As posições C6 e/ou C8 livres do anel A das unidades flavonoides constituem os sítios reativos com formaldeído, em função de seu forte caráter nucleofílico (PIZZI; MITTAL, 2003).

## 2.5 Algumas utilizações dos taninos

As indústrias utilizam os adesivos sintéticos devido à sua excelente qualidade, mas no início da década de 70, com a crise do petróleo e aumento dos custos dos recursos de origem petrolífera, surgiu o interesse em substituir o constituinte sintético fenol, das resinas FF (fenol-formaldeído), por polifenóis

naturais (PIZZI; MITTAL, 2003). A partir dessa data, várias pesquisas foram desenvolvidas com o objetivo de substituir, parcial ou totalmente, os adesivos comerciais convencionais, e dentre as fontes naturais destacam-se os taninos vegetais, por possuírem a capacidade de reagir com o formaldeído e, também, pela facilidade de extração (CARNEIRO et al., 2010).

No estado do Rio Grande do Sul, são encontradas empresas produtoras de taninos de cascas de Acácia Negra, a espécie mais promissora. A TANAC iniciou suas atividades em 1948 e hoje é líder mundial na produção de extratos vegetais e cavacos de Acácia negra. A empresa começou com a produção de taninos destinados para o curtimento de couros e desde a década de 80 desenvolveu a linha de taninos coagulantes/floculantes para o tratamento de águas de abastecimento e efluentes industriais. Outra empresa produtora de taninos e também localizada no estado do Rio Grande do Sul é a Seta SA, a qual também produz taninos para o curtimento de couro e tratamento de água e efluentes.

Os taninos de *Eucalyptus* para a produção de adesivos foram estudados por Carneiro et al. (2001, 2009, 2010, 2012), Mori et al. (1999, 2001, 2002), Silva (2001) e Vital et al. (2004). Os autores salientaram dificuldades encontradas com a utilização dos taninos de *Eucalyptus* para a produção de adesivos recorrentes à elevada viscosidade dos adesivos. Tal fato é possivelmente devido ao elevado peso molecular dos taninos, conforme verificado por Carneiro et al. (2010) e Mori et al. (2001). Tais dificuldades podem ser contornadas com modificações químicas como hidrólise e sulfitação (CARNEIRO, 2006), mas que nem sempre é alcançado um resultado satisfatório.

Os taninos são aplicados no curtimento do couro, em função da sua capacidade de se combinar com proteínas da pele animal, ou seja, na associação dos polifenóis com a proteína do colágeno que irá inibir o processo de putrefação da pele (MELO, 2008).

Plantas ricas em taninos são empregadas na medicina tradicional como remédios para o tratamento de diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais (azia, náusea, gastrite e úlcera gástrica), problemas renais e do sistema urinário e processos inflamatórios em geral (HASLAM, 1996). O potencial antibacteriano e antioxidante de espécies de *Eucalyptus* foi investigado por Boulekbache-Makhlouf, Slimani e Madani (2013), Dezsi et al. (2015), Li e Xu (2012), Luís et al. (2014), Martius, Hammer e Locher (2012), Puttaswamy et al. (2014), Santos et al. (2012), Vázquez et al. (2008, 2009) e Wong-Paz et al. (2015).

Outra utilização dos taninos é no tratamento da água para abastecimento, pois são considerados coagulantes naturais. Os taninos atuam como polieletrólito, que quando combinado com sais metálicos obtêm a propriedade de coagulante, desestabilizando os coloides com a destruição da camada de solvatação, diminuindo assim o potencial de cisalhamento, isto é, o potencial zeta do processo de coagulação e floculação. Dessa forma, é possível retirar as partículas coloidais suspensas na água por sedimentação após a formação dos flocos, proporcionando uma clarificação e redução de muitos microrganismos capazes de ocasionar doenças, além de não alterar o pH da água (SILVA, 1999).

### 3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

As cascas de *Eucalyptus*, além de ser utilizadas para a geração de energia nas caldeiras sobram excedentes, os quais são considerados resíduos pelas indústrias e resultam em problemas ambientais relacionados ao descarte. Além de ser intituladas como resíduos, esse material pode ser considerado como fonte de matéria-prima para diferentes segmentos industriais, tendo em vista sua rica composição química, bem como a grande disponibilidade desse material.

Estudos das propriedades químicas e anatômicas de uma matéria-prima podem inferir em sua melhor utilização. Entre os compostos químicos presentes nas cascas destacam os açúcares e os extrativos de composição fenólica, os quais são utilizados desde o setor farmacêutico e cosmético, devido à sua capacidade antioxidante, como na produção de adesivos naturais para madeira e tratamentos de águas.

A utilização das cascas para a extração de compostos bioativos promoverá um maior aproveitamento dos resíduos, o que garantirá ganhos econômicos e ambientais, pois agrega valor, aumenta empregos e reduz o descarte.

Estudos químicos e anatômicos são fundamentais quando se objetiva um melhor aproveitamento e utilização. Neste trabalho teve-se como finalidade um melhor conhecimento das propriedades anatômicas e químicas das cascas residuais de duas empresas que utilizam como matéria-prima *Eucalyptus*.

## REFERÊNCIAS

- ALFONSO, V. **Caracterização anatômica do lenho e casca das principais espécies de *Eucalyptus* L'Herit cultivadas no Brasil**. 1987. 198 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1987.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS. **Anuário estatístico da ABRAF 2013**: ano base 2012. Brasília, DF, 2013. 146 p.
- BILCATI, G. K. **Produção de painéis de cimento portland reforçados com fibra de curauá (*Ananas erectifolius*)**. 2015. 100 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia civil) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba. 2015.
- BOULEKBACHE-MAKHLOUF, L.; SLIMANI, S.; MADANI, K. Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of fruits of *Eucalyptus globulus* cultivated in Algeria. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 41, p. 85–89, 2013.
- BRAGATTO, J. **Avaliação do potencial da casca de *Eucalyptus* spp. para a produção de bioetanol**. 2010. 154 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2010.
- CARNEIRO, A. C. O. **Efeito da hidrólise ácida e sulfitação de taninos de *Eucalyptus grandis* w. hill ex maiden e *Anadenanthera peregrina* Speg., nas propriedades dos adesivos**. 2006. 182 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.
- CARNEIRO, A. C. O. et al. Determinação da massa molar de taninos vegetais através da técnica da cromatografia de permeação em gel. **Science Forestaly**, Piracicaba, v. 38, n. 87, p. 419-429, set. 2010.

CARNEIRO, A. C. O. et al. Efeito da hidrólise ácida dos taninos de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden nas propriedades dos adesivos tânicos. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 33, n. 4, p. 733-739, 2009.

CARNEIRO, A. C. O. et al. Parâmetros cinéticos de adesivos produzidos a partir de taninos de *Anadenanthera peregrina* e *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 36, n. 4, p. 767-775, 2012.

CARNEIRO, A. C. O. et al. Reatividade dos taninos da casca de *Eucalyptus grandis* para produção de adesivos. **Cerne**, Lavras, v. 7, n. 1, p. 1-9, 2001.

CHATTAWAY, M. The anatomy of bark. I. The genus *Eucalyptus*. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 1, n. 3, p. 402-403, 1953.

CHATTAWAY, M. The structure of eucalypt bark. **Forest Products Newsletter**, Melbourne, v. 190, p. 1-3, 1952.

DEZSI, S. et al. Antimicrobial and antioxidant activities and phenolic profile of *Eucalyptus globulus* Labill. and *Corymbia ficifolia* (F. Muell.) K. D. Hill & L. A. S. Johnson Leaves. **Molecules**, Washington, v. 20, p. 4720-4734, 2015.

ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. Tradução Berta Lange de Morretes. São Paulo: E. Blucher, 1976. 239 p.

EVERT, R. F.; EICHTHORN, S. E. **Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development**. 3rd ed. New York: J. Wiley, 2006. 601 p.

FARMER, R. H. **Chemistry in the utilization of wood**. Oxford: Pergamon, 1967. v. 9, 132 p.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood chemistry ultrastructure reactions**. Berlin: W. Gruyter, 1989. 610 p.

FOELKEL, C. **Casca da árvore de eucalipto**. 2005. Disponível em: <<http://www.eucalyptus.com.br>>. Acesso em: 23 ago. 2015.

FOELKEL, C. **Casca da árvore do eucalipto**: aspectos morfológicos, fisiológicos, florestais, ecológicos e industriais, visando a produção de celulose e papel. 1999. Disponível em: <<http://atividaderural.com.br/artigos/5387703c84360.pdf>>. Acesso em: 23 ago. 2015.

GARCÍA HORTAL, J. A. **Fibras papeleras**. Barcelona: UPC, 2007. 243 p.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins): as drug and medicines: possible modes of action. **Journal of Natural Products**, Lloydia, v. 59, p. 205-215, 1996.

HON, D. N. S.; SHIRAIISHI, N. **Wood and cellulosic chemistry, revised, and expanded**. New York: M. Dekker, 2000. 928 p.

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. **Anuário estatístico da indústria brasileira de árvores**: ano base 2012. Brasília, DF, 2015. 77 p.

LI, J.; XU, H. Bioactive compounds from the bark of *Eucalyptus exserta* F. Muell. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 40, p. 302– 306, 2012.

LIMA, M. A. et al. Effects of pretreatment on morphology, chemical composition and enzymatic digestibility of eucalyptus bark: a potentially valuable source of fermentable sugars for biofuel production – part 1. **Biotechnology for Biofuels**, London, v. 6, n. 75, p. 001-017, 2013.

LUÍS, A. et al. Stumps of *Eucalyptus globulus* as a source of antioxidant and antimicrobial polyphenols. **Molecules**, Washington, v. 19, p. 16428-16446, 2014.

MARTIUS, V. S.; HAMMER, K. A.; LOCHER, C. Chemical characteristics and antimicrobial effects of some Eucalyptus kinos. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 144, p. 293-299, 2012.

MELO, A. F. **Desenvolvimento preliminar de um biossensor enzimático para determinação de taninos hidrolisáveis**. 2008. 104 p. Dissertação (Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

MONTAGU, K. D.; KEARNEY, D. E.; SMITH, R. G. B. The biology and silviculture of pruning planted eucalypts for clear wood production: a review. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 179, n. 1, p. 1-13, 2003.

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

MORI, E. S.; KAGEYAMA, P. Y.; FERREIRA, M. Variação genética e interação progênies x locais em *Eucalyptus urophylla*. **IPEF**, Piracicaba, n. 39, p. 53-63, ago. 1988.

MORI, F. A. et al. Análise cinética da cura de adesivos de taninos das cascas de três espécies de Eucalyptus por calorimetria diferencial exploratória (DSC). **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 26, n. 4, p. 493-497, 2002.

MORI, F. A. **Caracterização parcial dos taninos da casca e dos adesivos de três espécies de eucaliptos**. 2000. 73 p. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2000.

MORI, F. A. et al. Estudo de taninos da casca de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake para produção de adesivos. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 25, n. 2, p. 257-263, 2001.

MORI, F. A. et al. Quantificação de taninos das cascas de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*). In: ENCONTRO BRASILEIRO EM MADEIRA E ESTRUTURAS DE MADEIRA, 10., 2006, São Pedro. **Anais...** São Pedro: [s. n.], 2006. 10 CD-ROM.

MORI, F. A. et al. Utilização de resinas à base de taninos da casca de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden na produção de painéis compensados. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 23, n. 4, p. 455-461, 1999.

MORI, F. A. **Uso de taninos da casca de *Eucalyptus grandis* para produção de adesivos de madeira.** 1997. 47 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1997.

MOTA, M. I. F. et al. *Eucalyptus globulus* bark as a source of polyphenolic compounds with biological activity. **O Papel**, São Paulo, v. 74, n. 1, p. 57-64, 2013.

MUELLER-HARVEY, I. Analsis of hydrolysable tannins. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 91, p. 3-20, 2001.

PAES, J. B. et al. Avaliação do potencial tanífero de seis espécies florestais de ocorrência no semi-árido brasileiro. **Cerne**, Lavras, v. 12, n. 3, p. 232-238, 2006.

PANSERA, M. R. et al. Análise de taninos totais em plantas aromáticas e medicinais cultivadas no Nordeste do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacologia**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 17-22, 2003.

PATRÍCIO, H. S. M. **Caracterização anatômica da casca de *Eucalyptus nitens* (Deane & Maiden) e *Eucalyptus rudis* Endl. para identificação das espécies.** 2014. 74 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal e dos Recursos Naturais) - Universidade de Lisboa, Lisboa, 2014

PEREIRA, H. et al. **Qualidade e utilização tecnológica do eucalipto (*Eucalyptus globulus*).** Lisboa: Centro de Estudos Florestais, 2010. 377 p.

PIZZI, A. **Advanced wood adhesives technology.** New York: M. Dekker, 1994. 289 p.

PIZZI, A.; MITTAL, K. L. **Handbook of adhesive technology.** 2nd ed. New York: M. Dekker, 2003. 720 p.

PIZZI, A. Tanin-Based adhesives. In: PIZZI, A. (Ed.). **Wood adhesives: chemistry and technology.** New York: M. Dekker, 1993. p. 177-246.

PIZZI, A. **Wood adhesives: chemistry and technology.** New York: M. Dekker, 1983. 364 p.

PUTTASWAMY, N. Y. et al. Phytochemical composition and in vitro anti-hyperglycemic potency of *Eucalyptus tereticornis* bark. **Indian Journal of Nutrition**, Coimbatore, v. 1, p. 102-107, 2014.

QUILHÓ, T. et al. Bark anatomy and cell size variation in *Quercus faginea* **Turkish Journal of Botany**, Ankara, v. 37, p. 561-570, 2013.

QUILHÓ, T. M. G. **Variabilidade da estrutura anatômica da casca da *Eucalyptus globulus* Labill.** 1998. 223 p. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) - Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, 1998.

QUILHÓ, T.; PEREIRA, H.; RICHTER, H. Variability of bark structure in plantation-grown *Eucalyptus globulus*. **IAWA Journal**, Utrecht, v. 20, p. 171-180, 1999.

QUILHÓ, T.; PEREIRA, H.; RICHTER, H. Within-tree variation in phloem cell dimensions and proportions in *Eucalyptus globulus*. **IAWA Journal**, Utrecht, v. 21, p. 31-40, 2000.

RAJAMOHAN, N. et al. Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies on the removal of Aluminum by modified *Eucalyptus camaldulensis* barks. **Alexandria Engineering Journal**, Alexandria, v. 53, p. 409–415, 2014.

RAMOS, L. P. The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, p. 863-871, 2003.

RICHTER, H. G. et al. Standardization to the anatomical description of the bark: List of features and glossary of terms. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, n. 16, p. 1-25, 1996.

ROTH, I. Structural patterns of tropical barks. In: **ENCYCLOPEDIA of Plant Anatomy**. Stuttgart: Schweizerbart, 1981. v. 9, 609 p.

ROWELL, R. M. **Handbook of wood chemistry and wood composites**. Boca Raton: CRC, 2005. 703 p.

SANTOS, S. A. O. et al. Phenolic composition and antioxidant activity of *Eucalyptus grandis*, *E. urograndis* (*E. grandis*×*E. urophylla*) and *E. maidenii* bark extracts. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 39, p. 120-127, 2012.

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

SEN, A.; QUILHÓ, T.; PEREIRA, H. Bark anatomy of *Quercus cerris* L. var. *cerris* from Turkey. **Turkish Journal of Botany**, Ankara, v. 35, p. 45-55, 2011.

SILVA, R. V. **Uso de taninos da casca de três espécies de eucalipto na produção de adesivos para madeira**. 2001. 46 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

SILVA, T. S. S. **Estudo de tratabilidade físico-química com uso de taninos vegetais em água de abastecimento e de esgoto**. 1999. 87 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Escola Nacional de Saúde Pública – Fundação Oswaldo Cruz, São Paulo, 1999.

TRUGILHO, P. F. et al. Avaliação do conteúdo em taninos condensados de algumas espécies típicas do cerrado mineiro. **Revista Cerne**, Lavras, v. 3, n. 1, p. 1-13, 1997.

VÁZQUEZ, G. et al. Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 28, p. 279–285, 2008.

VÁZQUEZ, G. et al. Evaluation of potential applications for chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 29, p. 364–370, 2009.

VITAL, B. R. et al. Adesivos à base de taninos das cascas de duas espécies de eucalipto para produção de chapas de flocos. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 28, n. 4, p. 571-582, 2004.

WONG-PAZ, J. E. et al. Total phenolic content, in vitro antioxidant activity and chemical composition of plant extracts from semiarid Mexican region. **Asian Pacific journal of Tropical Medicine**, Washington, v. 8, n. 2, p. 104-111, 2015.

## **CAPÍTULO 2**

### **Estudos anatômicos de cascas de clones comerciais de *Eucalyptus***

## RESUMO

A casca é composta pelo floema, pela periderme e pelo ritidoma. No floema os principais tecidos são elementos de tubo crivoso, parênquima axial, células expandidas, fibras, fibroesclereídes, esclereídes e parênquima radial. Neste trabalho objetivou-se a caracterização anatômica da casca de quatro clones comerciais de *Eucalyptus*, sendo três híbridos de *E. urophylla* e um híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*, respectivamente. Foram realizadas análises macroscópicas e microscópicas que permitiram a descrição qualitativa e ainda a determinação da proporção de tecidos e a biometria dos elementos celulares. Para a observação e descrição microscópica, as amostras de casca foram inicialmente incluídas em polietileno glicol (PEG-1500) e depois seccionadas segundo os planos transversal, tangencial e radial com micrótomo de deslize; os cortes obtidos foram corados com uma coloração dupla de crisoidina e azul astral e montados em entellant. O macerado da casca foi preparado a partir de estilhas sujeitas a uma mistura de peróxido de hidrogênio e ácido acético (1:1, v:v), por 24 h a 60 °C e o material dissociado foi corado com safranina. O diâmetro das células expandidas, o elemento de tubo crivoso, e a percentagem de tecidos da casca foram feitos em cortes transversais à altura dos raios em seção tangencial. Já a dimensão das fibras, das células de parênquima axial e o diâmetro dos elementos de tubo crivoso foram feitas no material dissociado. As cascas nos 4 clones mostraram-se muito semelhantes, sendo constituídas pelo floema, pela periderme e pelo ritidoma. No floema os principais tecidos são os elementos de tubo crivoso, o parênquima axial, as células expandidas, as fibras, os fibroesclereídes, e o parênquima radial. Apenas o comprimento e diâmetro do elemento de tubo crivoso, o diâmetro do parênquima axial e altura dos raios mostraram diferenças significativas entre clones. Para a maioria das amostras, o tecido mais abundante em cada clone foi o parênquima axial (23% - 36%), seguido das fibras (21% - 31%), células expandidas (19% - 29%), parênquima radial (9% - 13%) e elemento de tubos crivosos (4% - 5%).

Palavras-chave: Floema. Biometria. Percentagem de tecidos. Floema colapsado. Floema não colapsado.

## ABSTRACT

The bark is composed of phloem, periderm, and rhytidome. In the phloem, the main tissues are the sieve tube, axial parenchyma, expanded cells, fibers, fibersclereids, sclereids, and radial parenchyma. The bark of four commercial clones of *Eucalyptus*, three hybrid *E. urophylla* and *E. urophylla* x *E. camaldulensis* were macroscopic and microscopic analysed. Proportion of tissues and cell biometry were also determined. Bark samples were impregnated with polyethylene glycol (PEG-1500). Transversal, tangential, and longitudinal microscopic sections were prepared with a sliding microtome. The sections were stained with a double staining of chrysoidine and astral blue and were mounted on entellan. Individual specimens were also taken and macerated in a 1:1 solution of hydrogen peroxide and acetic acid (1/1) (v:v) for 24 h at 60 °C and stained with safranin. The expanded parenchyma cells were determined in transverse sections. The ray height in tangential section; fibre, the diameter of the sieve tube members and axial parenchyma were measured on macerated. The bark of all clones were similar for the phloem, the periderm and the rhytidome. The sieve tube elements, axial parenchyma, expanded cells, fibers, fibrosclereids and radial parenchyma are the main tissues of the phloem. There were significant differences between clones only for the length, diameter of the sieve tube members, diameter of parenchyma cells and ray height. The most abundant tissue was the axial parenchyma (23% - 36%), followed by the fibers (21% - 31%), the expanded parenchyma cells (19% - 29%), the rays (9% - 13%) and the sieve tubes members (4% - 5%).

Keywords: Phloem. Cell biometry. Percentage of tissues Phloem collapsed. Phloem not collapsed.

## 1 INTRODUÇÃO

A madeira, um dos produtos mais apreciados pela humanidade, é utilizada para as mais diferentes finalidades desde os primórdios, e entre as espécies mais utilizadas no Brasil, os *Eucalyptus* destacam-se no setor devido ao seu rápido crescimento, a diversidade de espécies e sua adaptação aos solos brasileiros.

A área de árvores plantadas para fins industriais, no Brasil, totalizou 7,74 milhões de hectares em 2014, o que correspondeu a um aumento de 1,8% em relação a 2013. Dessa área total de árvores plantadas, 5,56 milhões de hectares correspondem a plantios de espécies do gênero *Eucalyptus* (INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES - IBA, 2015).

Na colheita da madeira para a produção dos multiprodutos, grandes quantidades de resíduos lignocelulósicos são geradas, destacando as cascas, que segundo Foelkel (2005) e Pereira et al. (2010), o volume corresponde de 10% a 18% em espécies comerciais de eucaliptos. São geradas pelas indústrias que utilizam grandes quantidades de cascas de madeira, as quais em sua maioria são queimadas para a geração de energia.

As cascas de *Eucalyptus* sp. são, assim, um subproduto ou, até mesmo, um resíduo para a maioria das indústrias de energia, papel/celulose, trazendo problemas de descarte e de ordens ambiental e econômica (CARNEIRO, 2001). Surgindo assim, um interesse em novas aplicações, que visem à redução da quantidade de resíduos excedente e agregue valor, e para isso são necessários estudos de suas propriedades que podem inferir em sua melhor utilização.

Estudos relacionados à anatomia do lenho do gênero *Eucalyptus* tiveram início por Baker (1917) e no Brasil por Pereira (1933). Mais recentemente, estudos com clones comerciais de *Eucalyptus* no Brasil foram desenvolvido por Lopes (2013). Os primeiros estudos para identificação de *Eucalyptus* pela

anatomia da casca foram realizados por Chattaway (1953, 1955a, 1955b, 1955c); e no Brasil por Alfonso (1987), os mais recentes por Quilhó et al. (2013), Quilhó, Pereira e Richter (1999, 2000) e Sen, Quilhó e Pereira (2011). Porém, no que diz respeito a clones de *Eucalyptus* comerciais nos trópicos, estudos anatômicos das cascas são considerados escassos, sendo importante o conhecimento da estrutura quando se objetiva o seu melhor aproveitamento.

Tendo em vista a grande quantidade de cascas de *Eucalyptus* geradas como resíduo, o objetivo neste trabalho foi determinar as propriedades anatômicas das cascas de quatro clones comerciais da espécie.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

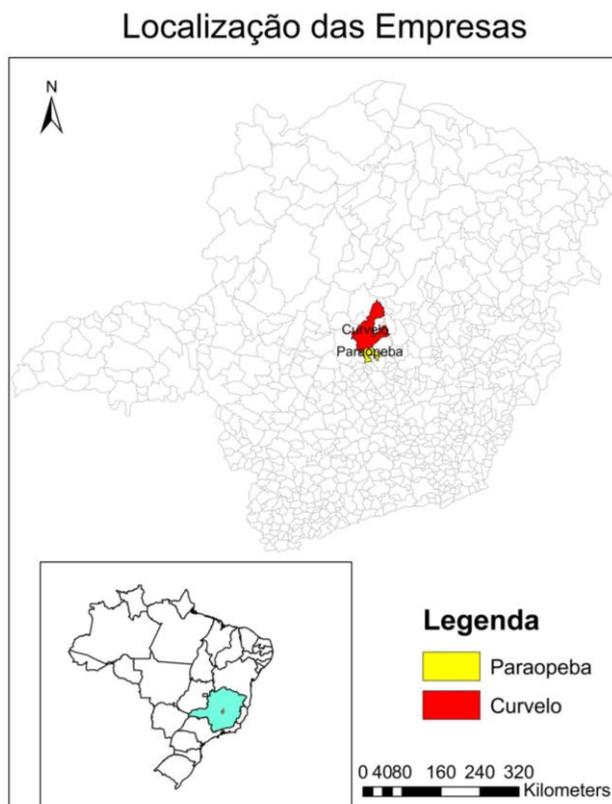
### 2.1 Descrição do material e local de coleta

Foram utilizadas cascas de *Eucalyptus* provenientes de duas empresas associadas à Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas (ABRAF), ambas localizadas no estado de Minas Gerais, Brasil. Uma empresa é produtora de madeira tratada/carvão vegetal e outra de carvão vegetal. De cada empresa foram coletadas cascas de três árvores dos dois clones mais utilizados, em um total de quatro clones. Os indivíduos possuem idade comercial de aproximadamente sete anos, as cascas foram retiradas na altura de 1,30 m do solo. Informações referentes aos materiais genéticos coletados estão representadas na Tabela 1.

Uma empresa (clones A e B), produtora de madeira tratada/carvão vegetal localiza-se na cidade de Curvelo, com as coordenadas 18° 44' 57'' de latitude sul e 44° 26' 48'' de longitude oeste. A outra empresa (clones C e D), produtora de carvão vegetal localiza-se no município de Paraopeba e possui coordenadas 19° 16' 54'' de latitude sul e 44° 24' 32'' de longitude oeste. O clima de Paraopeba e Curvelo é Aw, com temperaturas médias de 21,8 e 22,1 °C e pluviosidade média anual é de 1244 e 1221 mm, respectivamente. A Figura 1 corresponde o mapa da localização dos municípios das empresas.

**Tabela 1** Informações dos genótipos estudados

Clone	Setor	Material genético	DAP (cm)	Idade (anos)	Espessura da casca (mm)
A	Madeira tratada/carvão	<i>E. urophylla</i>	15,3	7,17	3,12
B	vegetal	<i>E. urophylla</i>	16,9	6,8	3,29
C		<i>E. urophylla</i> <i>Eucalyptus urophylla</i> x	17,0	7	3,13
D	Carvão vegetal	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	17,9	7	3,39

**Figura 1** Mapa da localização das empresas

## **2.2 Determinação da percentagem de cascas**

Foram retirados discos a 1,30 m do solo, dos quais foram medidas com paquímetro em quatro pontos as espessuras das cascas e com uma suta, foi medido também o diâmetro. Com base na espessura da casca e diâmetro médio foi determinada a percentagem de casca em cada indivíduo.

## **2.3 Análise macroscópica da casca**

Para análise da estrutura macroscópica das cascas, prepararam-se amostras talhadas com serra de fita que posteriormente foram polidas no plano transversal, com lixa-d'água para uma melhor visualização das camadas e distinção dos tecidos. As superfícies dos corpos de prova foram visualizadas com emprego de uma lupa Leica MZ6 e fotografadas com uma máquina digital Samsung 10 MP L201 e as imagens analisadas no software Leica Qwin Plus. Com base na espessura de cada camada e a espessura total da casca, foram obtidas a percentagem de floema (floema colapsado e não colapsado) e percentagem de ritidoma.

## **2.4 Análise anatômica microscópica**

Nesta etapa do trabalho foram realizadas a individualização dos elementos anatômicos e a produção de lâminas anatômicas permanentes.

### **2.4.1 Preparo das amostras**

Para a individualização dos elementos celulares das cascas, foram maceradas amostras com uma solução de ácido acético e peróxido de hidrogênio

(1:1, v/v) em estufa a 60 °C, por 24 horas, as quais em seguida foram lavadas em água corrente e armazenadas em etanol 70%. A observação ao microscópio foi feita a partir de lâminas preparadas com o material corado com Safranina e Azul de Astra para melhor diferenciação de tecidos.

Para observação da estrutura da casca nos planos de corte, foram preparadas amostras impregnadas com polietileno glicol 1500 (PEG), dada à fragilidade do material. De início as amostras foram colocadas numa solução de 20% de PEG 1500 e 80% de água destilada, em estufa a 60 °C até a evaporação da água (24 h a 48h). Na segunda fase as amostras foram colocadas em solução de PEG puro e deixadas na estufa, por duas horas. Finalmente, as amostras foram colocadas à temperatura ambiente para solidificação do PEG.

#### **2.4.2 Corte, coloração e montagem de lâminas**

Após a inclusão em PEG, a superfície do corpo de prova a ser seccionada foi plastificada com a adição de adesivo de PVC/acetato de butila (2:1, v:v), conforme descrito por Barbosa et al. (2010); realizaram-se cortes histológicos com uma espessura de 17 µm, segundo os três planos de corte, com micrótomo de deslize Leica SM 2400.

Os cortes foram lavados em solução de hipoclorito a 10% e passados em água destilada; usou-se a coloração dupla de crisoidina (3 minutos) e azul astral (7 minutos) seguida de desidratação dos cortes em série alcoólica crescente de 20, 30 e 50%, respectivamente. Em lâminas com esfregaço de glicerina Kaiser, os cortes cobertos com papel vegetal foram montados em “*sandwich*” intercalados com e lâmina de vidro, sucessivamente em camadas para garantir a fixação das secções. Após 24 horas, as lâminas foram submersas em solução de etanol e acetato de butila (1:3, v/v) por 5 minutos, em acetato de butila 100% por três minutos para a remoção da cola de PVC e foram montadas em entellan.

### **2.4.3 Observação ao microscópio**

A aquisição de imagem foi feita a partir de um sistema de análise de imagem Leica Qwin V 3.5.0, acoplado ao microscópio Leica DM LA e câmera digital Nikon FXA. Para a descrição macro e microscópica da casca seguiu-se a terminologia de Trockenbrodt (1990) e Richter et al. (1996), respectivamente.

Nas lâminas, foram determinados somente os diâmetros do parênquima axial e diâmetro dos esclereídes no plano transversal e altura do raio no plano tangencial, os demais parâmetros como comprimento, largura total e lúme das fibras, diâmetro e comprimento dos elementos de tubos crivosos foram medidos no material dissociado. Para cada parâmetro foram realizadas 30 medições. Para as fibras, foram determinados o Coeficiente de rigidez, Coeficiente de Flexibilidade, a Fração Parede e Índice de Runkel.

### **2.4.4 Determinação da percentagem de tecidos do floema**

A percentagem de tecidos foi feita em cortes transversais a partir de imagens digitalizadas de modo a realizar uma varredura no sentido radial das cascas, sobrepondo uma grelha de 48 pontos e registrado o tecido observado, utilizando a opção “*Count*” do *Software Leica Application Suite V 4.2*.

As análises anatômicas das cascas foram realizadas no Laboratório de Anatomia da Madeira do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa, Portugal.

### **2.4.5 Estatística**

Foi realizado o Teste de Bartlett a 5%, para verificar a homogeneidade de variâncias e também o teste Shapiro-Wilk a 5%, para verificar a normalidade

dos resíduos. Na avaliação do experimento considerou-se delineamento inteiramente casualizado. Foi realizado o teste F a 5% de significância para verificação das médias e quando significativo foi aplicado o Teste Tukey a 5% de significância. As análises foram feitas utilizando o *software* estatístico SISVAR.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Porcentagem de casca e camadas

Os quatro clones apresentaram espessura média e porcentagem de cacas de 3,12 mm e 4,1%, 3,29 mm e 3,9%, 3,13 mm e 3,7% e 3,39 mm e 3,8% para os clones A, B, C e D, respectivamente. Os valores médios de porcentagem de camadas estão representados na Tabela 2, em que se nota que para todas as camadas de tecidos foi verificada diferença estatística significativa entre os clones.

**Tabela 2** Valores percentuais de floema, floema não colapsado, floema colapsado e ritidoma

Clone	Floema Total (%)	Floema não colapsado (%)	Floema colapsado (%)	Ritidoma (%)
A	61,53 a	25,47 b	36,06 a	38,47 b
B	61,89 a	25,02 b	36,87 a	38,11 b
C	60,23 a	18,37 a	41,86 a b	39,77 b
D	73,72 b	24,23 b	49,49 b	26,29 a

Nas colunas, valores seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de significância.

O floema total corresponde ao floema não colapsado e ao floema colapsado. Nota-se que apenas o clone D diferiu dos demais, o qual obteve 73,72% de floema, e o clone C foi o que obteve menor percentual, de 60,23%.

O floema não colapsado corresponde à parte ativa da casca, ou seja, onde são visualizados os elementos de tubos crivosos abertos, os quais desempenham a função de transporte de seiva no sentido axial. O menor valor foi encontrado no clone C, que foi de 18,37%, o qual diferiu dos demais clones. Maior percentual foi verificado no clone A, que foi de 25,47%. São valores considerados baixos, estando esses de acordo com o encontrado por Alfonso

(1987) para 21 espécies de *Eucalyptus* e Quilhó e Sardinha (1995) para *Eucalyptus globulus* e Pirralho et al. (2013) para *Eucalyptus sideroxylon* e *E. viminalis*. A faixa estreita do floema não colapsado, onde são encontrados os elementos de tubo crivoso, é curta, pois o período funcional dos elementos é curto e rapidamente colapsam e estrangulam.

Para porcentagem de floema colapsado, região onde são encontradas as células expandidas, verifica-se que menores valores foram encontrados nos clones A e B, os quais são estatisticamente iguais e diferem dos clones C e D que também são iguais estatisticamente entre si. Os valores variaram de 36,06% no clone A a 49,49% no clone D.

Já para porcentagem de ritidoma, menor valor foi verificado para o clone D, de 26,29%, o qual difere dos demais clones. Maior valor foi verificado para o clone C, que foi de 39,77%.

### **3.2 Caracterização microscópica das cascas**

As árvores dos clones A, B e C híbridos de *E. urophylla* apresentam casca acinzentada, persistente, fibrosa com fissuras longitudinais. Já o clone D apresenta uma casca acinzentada, semidecídua, lisa, o ritidoma solta-se em forma de lâminas.

As cascas de *Eucalyptus* incluindo o floema (floema não colapsado e floema colapsado), a periderme mais recente e o ritidoma.

A transição do floema não colapsado para o floema colapsado é gradual (Figura 2). No floema não colapsado, os raios têm um trajeto retilíneo, já no floema colapsado, os raios distorcem em direção à periderme ao mesmo tempo em que se observa a dilatação e alguma divisão tangencial das células do parênquima radial (Figura 2).

Verificou-se uma distribuição dos elementos celulares de uma maneira mais uniforme e organizada no floema não colapsado, com uma alternância em faixas tangenciais de células de parênquima axial e fibras, encontrando os elementos de tubo crivoso distribuídos de forma difusa (Figura 2 e 3), sendo o mesmo comportamento verificado por Alfonso (1987) em cascas de 21 espécies de *Eucalyptus* e por Quilhó, Pereira e Richter (1999) para casca de *E. globulus*.

As células de parênquima axial apresentam um formato irregular e estão distribuídas solitárias ou agrupadas de 2 a 4, de 2 a 5, de 1 a 2 e de 1 a 3 células para os clones A, B, C e D, respectivamente (Figura 3). As células estão dispostas tangencialmente (Figura 3), e o diâmetro médio variou de 15,3  $\mu\text{m}$  no clone A, a 17,41  $\mu\text{m}$  no clone C, porém não foi encontrada diferença estatística significativa.

Os elementos de tubos crivosos encontram-se dispersos, na maioria isolados ou em grupos de 2, raramente de 3 elementos. Observa-se a formação de complexos de junção (Figura 3), exceto no clone C. Transversalmente os elementos do tubo crivoso apresentam forma circular a oval e são visíveis as células companheiras (1 a 2 células) de formato triangular (Figura 3).

O floema colapsado é caracterizado pelo colapso dos elementos de tubo crivoso, a distorção do trajeto dos raios, e pela ocorrência de células expandidas de parênquima (Figura 4), tais modificações ocorrem para permitir à casca acompanhar o crescimento em diâmetro da árvore.

As células de parênquima axial expandidas têm um formato irregular, encontram-se isoladas ou agrupadas (agrupamentos 2 a 4, 2 a 4, 2 a 3 e de 2 a 5 células, nos clones A, B, C e D. Estão dispostos radialmente e tangencialmente). Essas células são pontuadas e de paredes pouco espessas (Figura 4). Verifica-se um aumento no número de células de parênquima axial expandidas em direção à região mais externa do floema colapsado. Verifica-se parede muito fina nos clones C e D, sendo as paredes pouco lignificadas, o que se confunde com rasgos.

Foram observados na região mais externa do floema colapsado esclereídes, nos clones C e D. Essas células têm formato irregular, tamanho variável com pontuações abundantes e paredes espessas polilameladas (Figura 4). As fibras são fusiformes, com pontuações abundantes (Figura 5) e formam feixes (de 2 a 6 células). Foram observados fibroesclereídes (Figura 5), os quais são similares às fibras, porém mais largos e curtos e se alongam na maturidade.

Os elementos de tubos crivosos são conectados por placas de perfuração oblíquas do tipo escalariforme e as placas crivosas variam de 6 a 22, 7 a 27, 9 a 26 e de 9 a 18 nos clones A, B, C e D, respectivamente (Figuras 5 e 7). Foi observada a presença de cristais de oxalato de cálcio de formato retangular (um a dois cristais por célula de parênquima), conforme Figura 6.

Os raios predominam unisseriados (Figura 7), são homogêneos, com células procumbentes (Figura 8). A altura em número de células dos raios, nos clones estudados, variou de 2 a 18, 4 a 18, 4 a 15 e de 5 a 17 células, nos clones A, B, C e D, respectivamente.

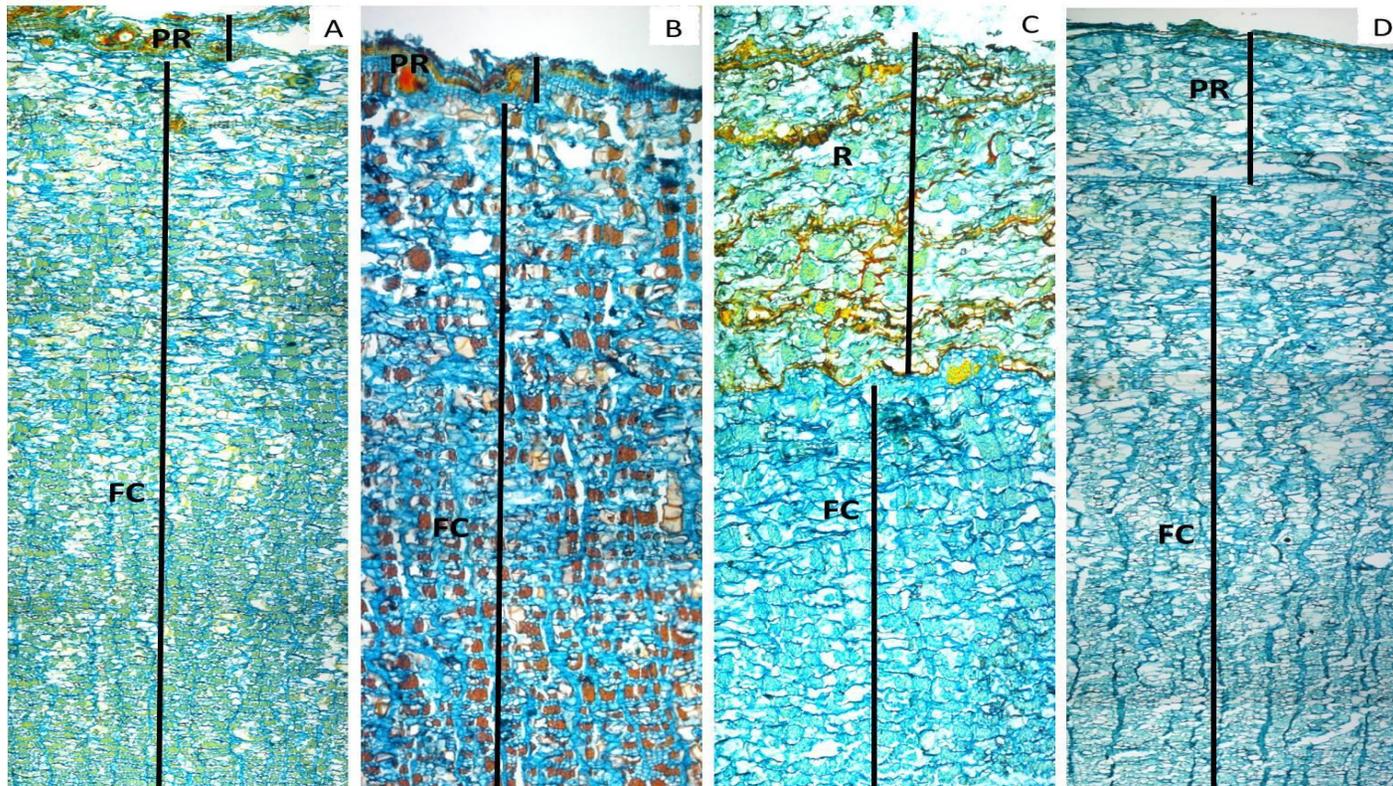
Na maioria das amostras analisadas o ritidoma é pouco desenvolvido (Figura 2 e 9), incluem apenas restos de periderme e algum tecido de floema isolado pela última periderme formada, exceto para o clone C, o qual foi possível verificar a presença de 5 camadas de periderme (Figura 9). Com relação ao preparo dos cortes das cascas, verificou-se dificuldade ao cortar o ritidoma, pois o mesmo se soltava do resto do corte, dificultando a amostragem de todo o tecido com suas camadas.

A periderme apresenta um desenvolvimento contínuo e levemente sinuoso em torno do perímetro da árvore e é formada pelo felema, o felogénio e a feloderme. O felema é composto por células lignificadas e células suberificadas com espessamentos tangenciais nas paredes internas (Figura 9).

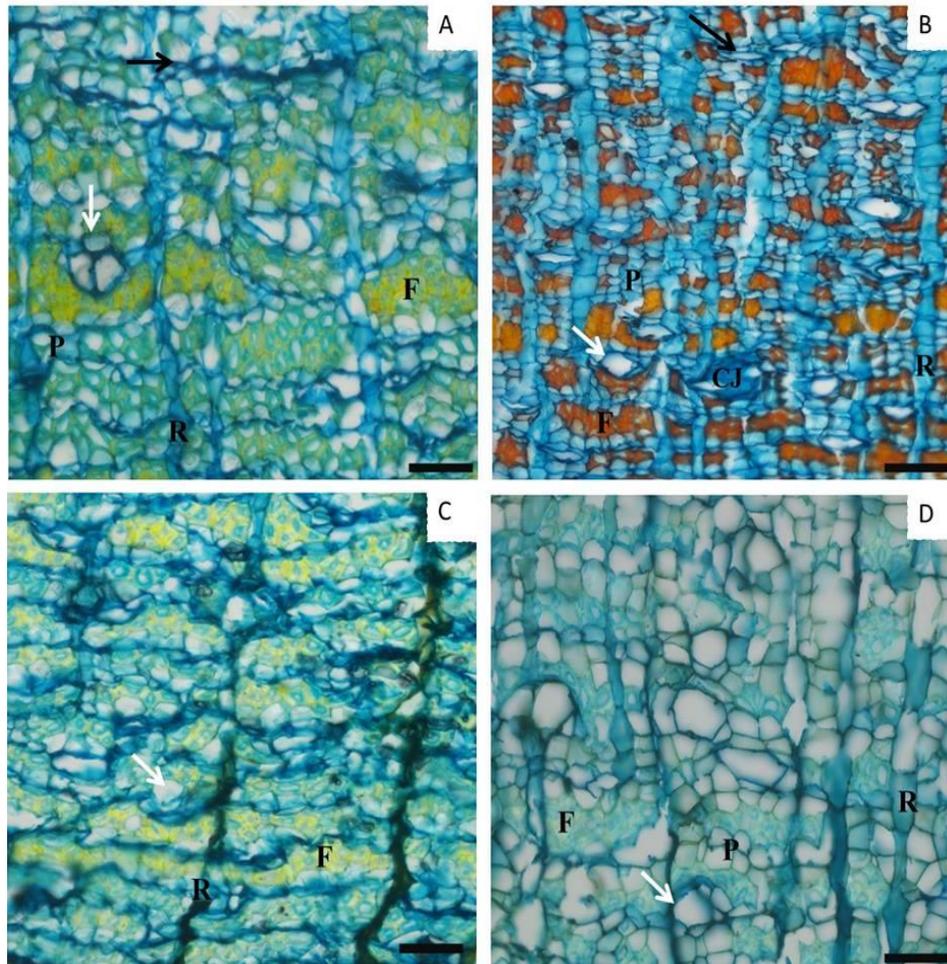
A feloderme é formada por células semelhantes às de parênquima, alinhadas radialmente e com pigmentos; o número e espessamento dessas células por camada variam de 2 a 3 células nos clones estudados (Figura 9).

Os parâmetros anatômicos aqui verificados se assemelham com características encontradas para o gênero *Eucalyptus* na literatura, como verificado por Alfonso (1987), para 21 espécies de *Eucalyptus*, Patrício (2014), para *E. rudis* e *E. nitens*, Quilhó, Pereira e Richter (1999), para *E. globulus* e Pirralho et al. (2013) para *E. sideroxylon* e *E. viminalis*.

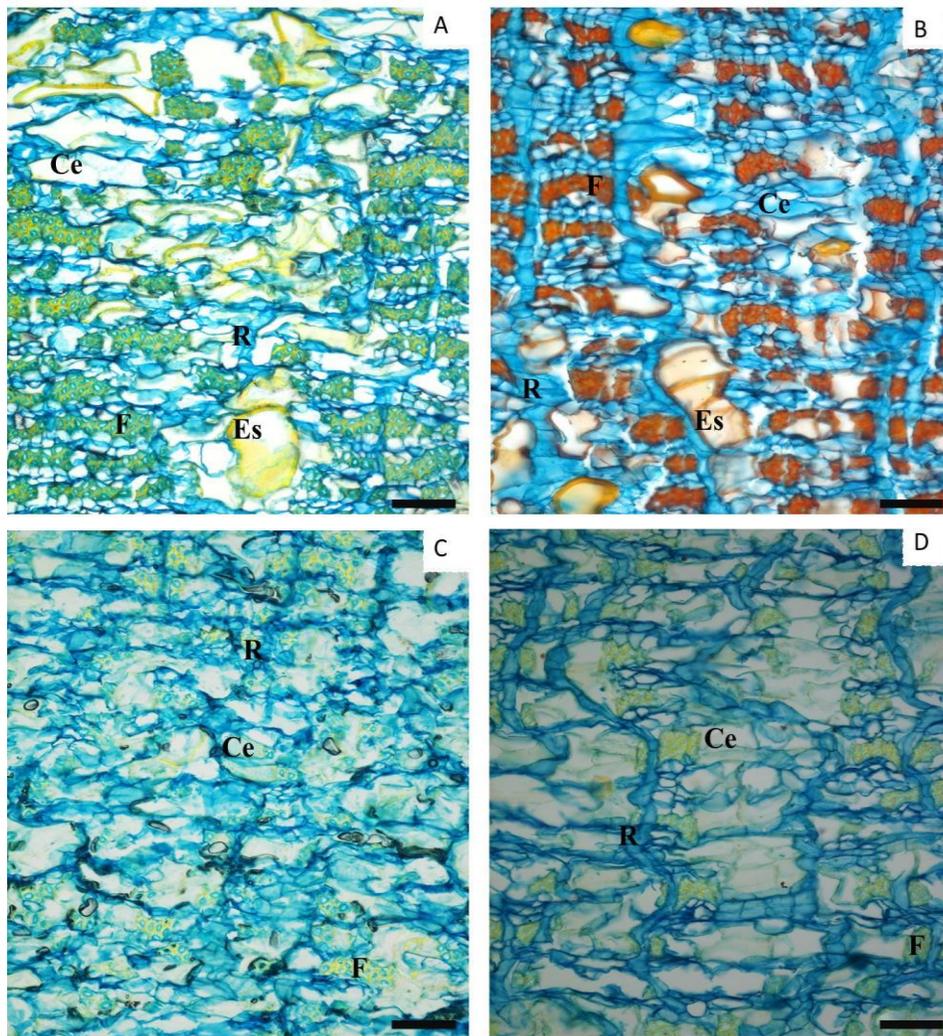
**Figura 2** Seção transversal das cascas dos clones. A, B e C: híbridos de *E. urophylla* e D: híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*. (FNC) Floema não colapsado; (FC) Floema Colapsado, (PR) Periderme e (R) Ritidoma.  
Barra: A-D = 100  $\mu$ m.



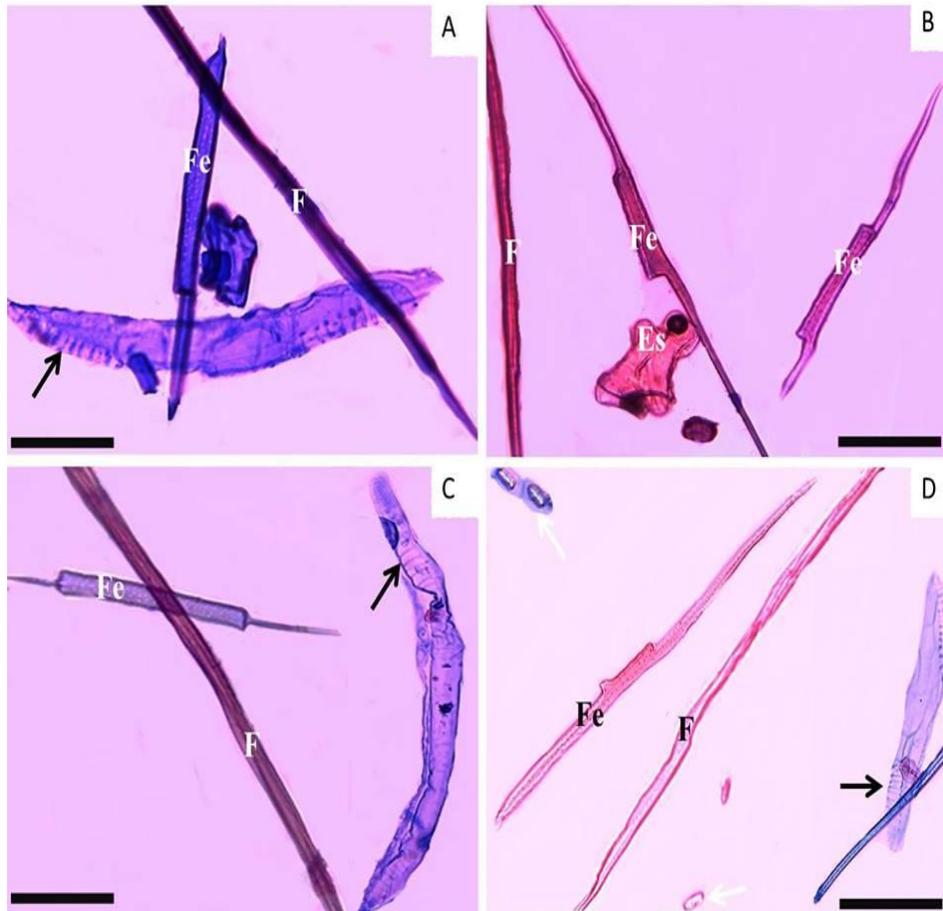
**Figura 3** Seção transversal das cascas dos clones na região do floema não colapsado. A, B e C: híbridos de *E. urophylla* e D: híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*. (P) Parênquima; (F) Fibras; (R) Raio; (CJ) Complexo de junção: Elemento de tubo crivoso (Seta branca) e Zona de compressão do parênquima axial (Seta preta). Barra: A-D = 40  $\mu$ m.



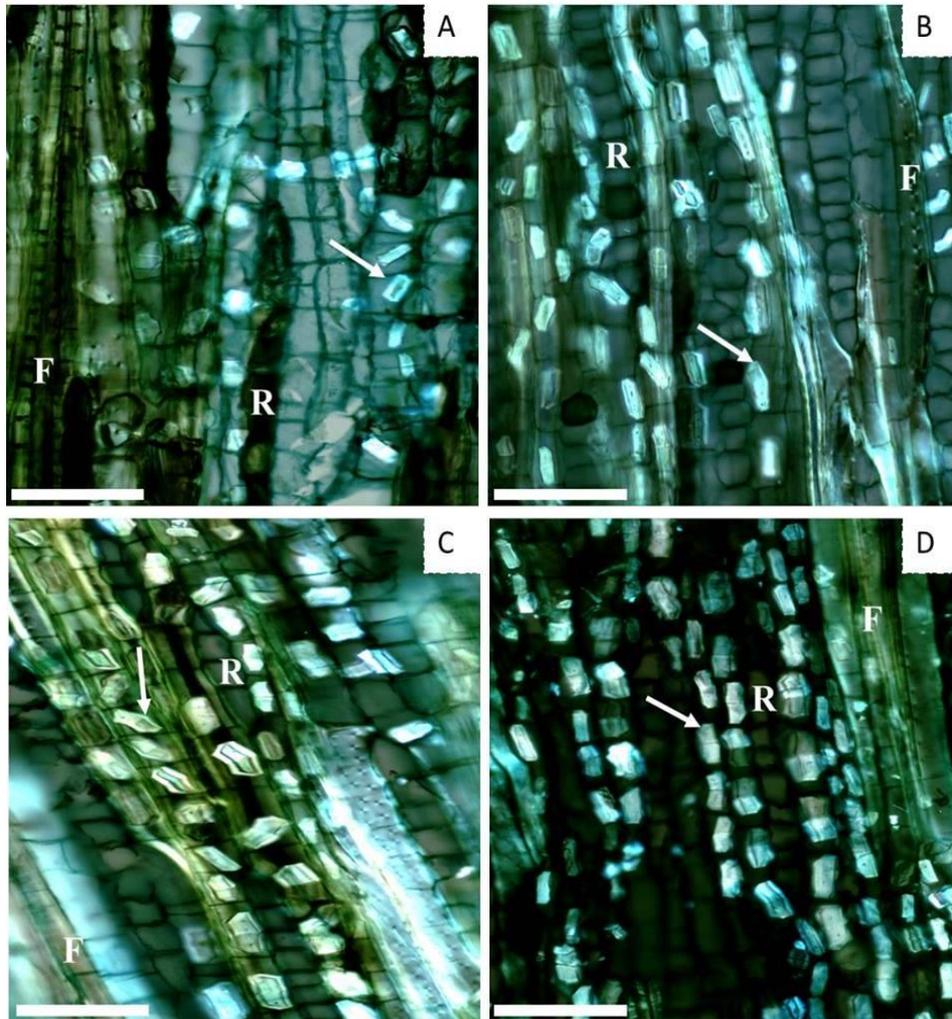
**Figura 4** Seção transversal das cascas dos clones na região do floema colapsado. A, B e C: híbridos de *E. urophylla* e D: híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*. (Ce) Célula expandida de parênquima axial; (Es) Esclereíde; (R) Raio e (F) Fibra. Barra: A-D = 40  $\mu$ m.



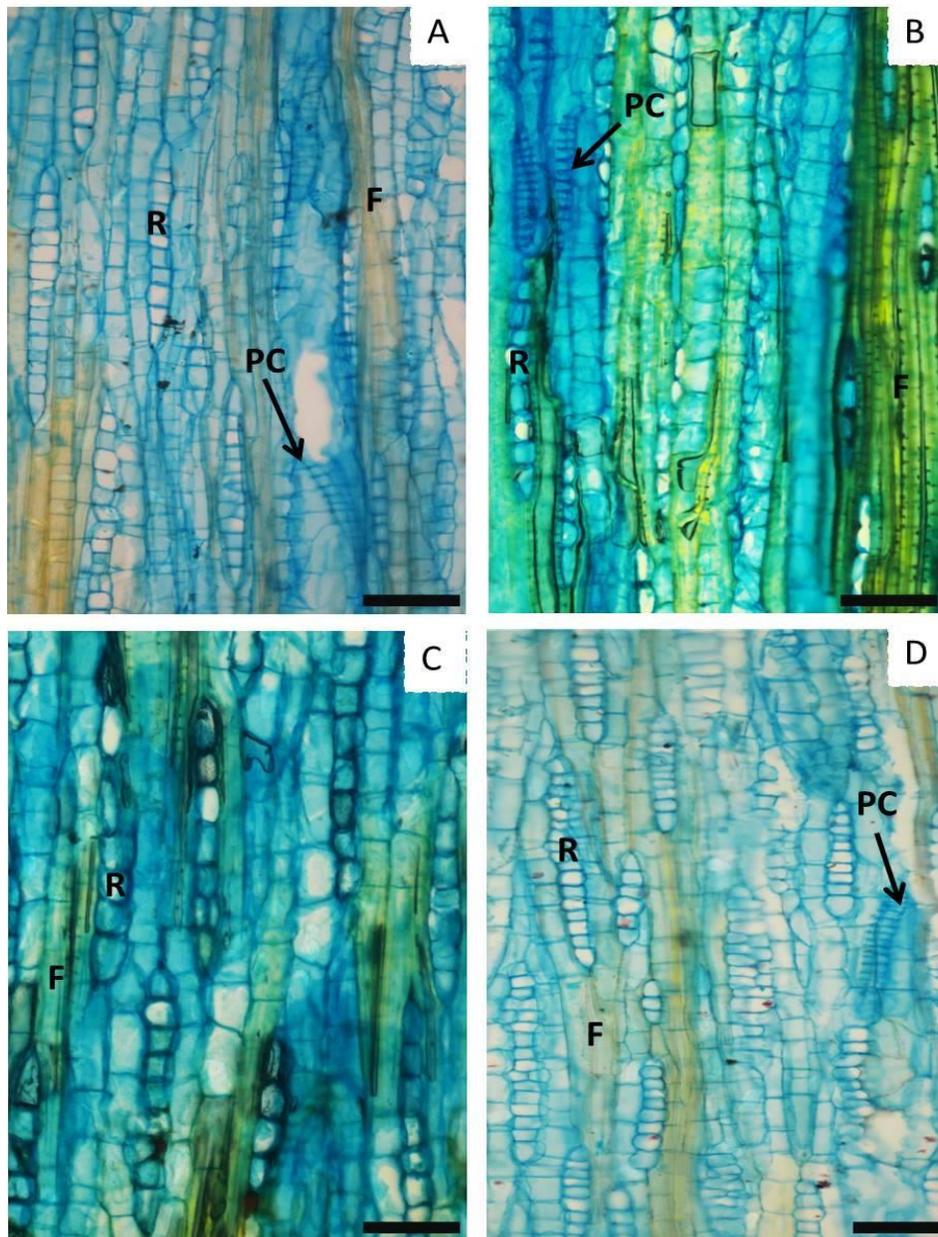
**Figura 5** Macerado de Fibras e Fibroesclereídes dos clones A, B e C: híbridos de *E. urophylla* e D: híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*. (F) Fibras; (Fe) Fibroesclereíde; (Es) Esclereíde. Placa crivosa (Seta preta). Barra: A-D = 100  $\mu$ m.



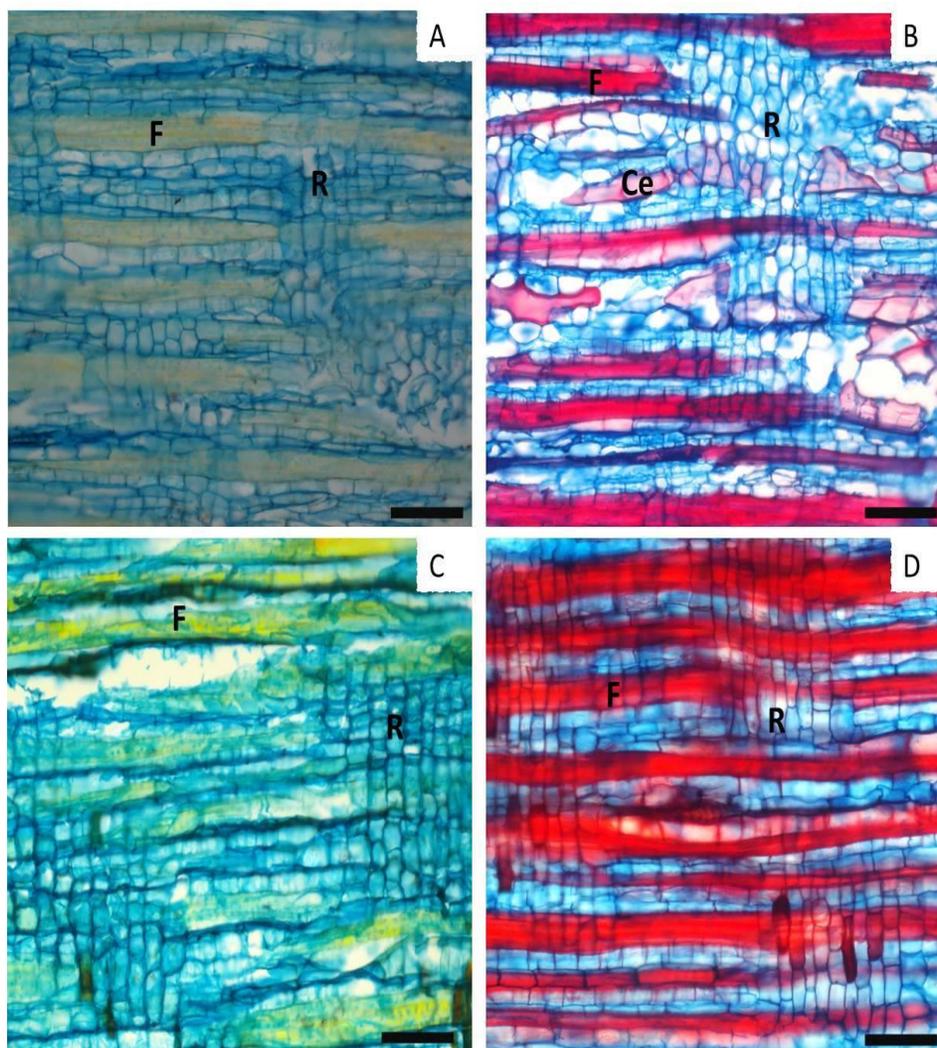
**Figura 6** Cristais A, B e C: híbridos de *E. urophylla* e D: híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*. (R) Raios; (F) Fibras. Cristais (Seta branca). Barra: A-D = 50  $\mu$ m.



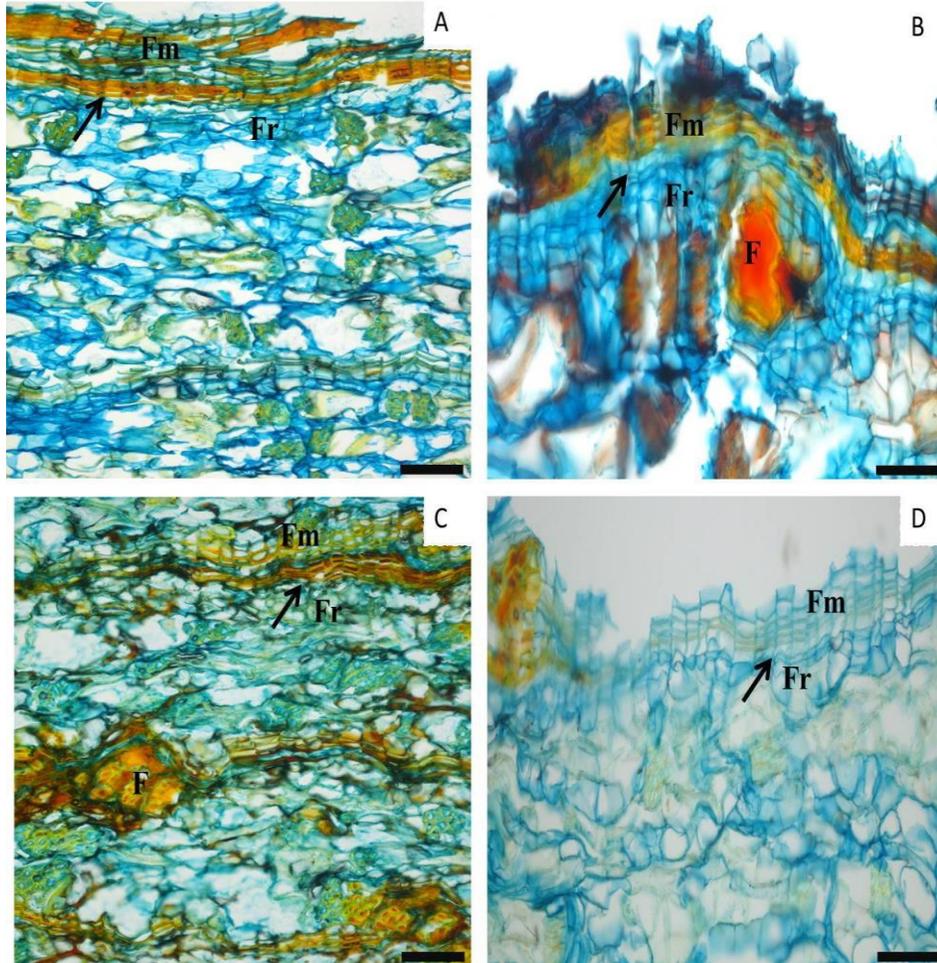
**Figura 7** Seção Longitudinal tangencial das cascas dos clones. A, B e C: híbridos de *E. urophylla* e D: híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*. (PC) Placa crivosa; (R) Raio; (F) Fibra. Barra: A-D = 40  $\mu$ m.



**Figura 8** Seção Longitudinal radial das cascas dos clones. A, B e C: híbridos de *E. urophylla* e D: híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*. (CE) Célula expandida; (R) Raio; (F) Fibra. Barra: A-D = 40  $\mu$ m.



**Figura 9** Seção Transversal das cascas dos clones. A, B e C: híbridos de *E. urophylla* e D: híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*. (Fm) Felema; (Fr) Feloderme; (F) Fibra. Felogênio (Seta preta). Barra: A-D = 40  $\mu$ m.



### 3.3 Anatomia quantitativa

Na Tabela 3 estão representados os dados relacionados à anatomia quantitativa, parâmetros biométricos médios e desvios, das fibras, dos elementos de tubo crivoso, das células expandidas e dos raios dos clones de *Eucalyptus*. Os valores entre parênteses correspondem aos mínimos e máximos de cada variável.

**Tabela 3** Biometria de fibras, elementos de tubo crivoso (ETC), esclereíde, parênquima axial e radial para os quatro clones estudados

	1	2	3	4
Comprimento Fibra ( $\mu\text{m}$ )	1310,50 $\pm$ 42,37 b c (1087,5 - 1784,5)	1432,61 $\pm$ 91,27 c (1067,3 - 1814,2)	1243,58 $\pm$ 50,67 a b (790,8 - 1686,3)	1103,07 $\pm$ 69,09 a (701,0 - 1650,4)
Larg Fibra ( $\mu\text{m}$ )	23,05 $\pm$ 0,95 a b (16,3 - 31,8)	22,47 $\pm$ 0,24 a b (15,3 - 29,9)	23,49 $\pm$ 1,69 b (14,7 - 36,5)	20,46 $\pm$ 0,61 a (14,0 - 28,2)
Espessura de Parede ( $\mu\text{m}$ )	8,09 $\pm$ 0,33 b (5,2 - 11,4)	8,33 $\pm$ 0,20 b (5,5 - 11,7)	7,62 $\pm$ 0,83 b (4,2 - 11,5)	5,93 $\pm$ 0,02 a (3,7 - 9,5)
Lume ( $\mu\text{m}$ )	6,87 $\pm$ 0,84 a b (2,5 - 12,6)	5,81 $\pm$ 0,56 a (2,8 - 11,8)	8,25 $\pm$ 0,13b c (3,7 - 3,7)	8,60 $\pm$ 0,58 c (4,0 - 14,3)
Comprimento ETC ( $\mu\text{m}$ ) <sup>ns</sup>	573,27 $\pm$ 43,83 (256,1 - 801,4)	562,28 $\pm$ 19,97 (327,2 - 883,4)	556,25 $\pm$ 23,91 (335,8 - 847,8)	518,60 $\pm$ 16,92 (284,5 - 838,5)
Diâmetro ETC ( $\mu\text{m}$ ) <sup>ns</sup>	25,68 $\pm$ 1,99 (17,0 - 40,3)	24,59 $\pm$ 1,03 (14,9 - 33,5)	22,97 $\pm$ 2,04 (15,1 - 33,2)	23,85 $\pm$ 3,10 (14,0 - 40,1)
Diâmetro Parênquima Axial ( $\mu\text{m}$ ) <sup>ns</sup>	15,73 $\pm$ 0,43 (10,3 - 21,6)	16,53 $\pm$ 0,27 (11,7 - 26,4)	17,41 $\pm$ 1,50 (10,3 - 26,2)	15,90 $\pm$ 1,07 (10,0 - 23,7)
Diâmetro Esclereíde ( $\mu\text{m}$ )	74,40 $\pm$ 4,89 b (42,0 - 136,4)	65,71 $\pm$ 3,04 b (25,8 - 111,3)	47,02 $\pm$ 1,46 a (30,6 - 71,4)	53,40 $\pm$ 6,45 a (29,6 - 94,2)
Alt Raio ( $\mu\text{m}$ ) <sup>ns</sup>	201,24 $\pm$ 19,55 (92,2 - 449,4)	190,46 $\pm$ 25,53 (69,7 - 382,3)	222,28 $\pm$ 4,60 (102,5 - 385,4)	182,19 $\pm$ 16,77 (88,7 - 328,5)
Raio mm linear	3,94 a	4,37 a	6,07 b	7.49 c

<sup>ns</sup> : Não significativo pelo teste Tukey, a 5% de significância.

Nas linhas, valores seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de significância.

Verifica-se que com relação à biometria das fibras, todas as variáveis apresentaram diferença significativa. O clone 4 apresentou menor comprimento de fibra, seguido pelos clones 3, 1 e 2, com valores médios de 1103,07; 1243,58; 1310,50 e 1432,61  $\mu\text{m}$ , respectivamente. Nota-se que o clone 4 é igual estatisticamente somente ao clone 3, diferindo dos demais. Com relação à largura das fibras, o clone 4 também foi o que apresentou fibras mais finas, seguido dos clones 2, 1 e 3, os valores médios foram de 20,46; 22,47; 23,05 e 23,49  $\mu\text{m}$  respectivamente. O clone 4 difere somente do clone 3, sendo os demais estatisticamente iguais. O clone 2 apresentou parede das fibras mais espessa e lume mais fino de 8,33 e 5,51  $\mu\text{m}$ , respectivamente. Já o clone 4 apresentou paredes mais finas e lume mais espesso de 5,93 e 8,60  $\mu\text{m}$ , respectivamente.

Somente os valores de espessura de parede das fibras estão de acordo com Foelkel (2005), pois o autor indica para os *Eucalyptus* fibras com 0,7 a 1,02 mm de comprimento, 10 a 20  $\mu\text{m}$  de largura e com 2 a 6  $\mu\text{m}$  de espessura de parede. Porém, comprimento e espessura da parede estão de acordo com estudos feitos por Quilhó, Pereira e Richter (2000), com *Eucalyptus globulos* de 15 anos, em que os autores encontraram fibras com valores de 1280, 18, e 7  $\mu\text{m}$  para comprimento, largura e espessura da parede, respectivamente.

Os parâmetros de elementos de tubo crivoso como comprimento e diâmetro não tiveram diferenças significativas. O comprimento variou de 518,60  $\mu\text{m}$  no clone 4 a 573,27  $\mu\text{m}$  no clone 1. Já o diâmetro do elemento de tubo crivoso variou de 22,97  $\mu\text{m}$  para o clone 3 a 25,68  $\mu\text{m}$  para o clone 1. Quilhó, Pereira e Richter (2000), para cascas de *Eucalyptus globulus* encontraram menores comprimentos de elementos de tubo crivoso e maiores diâmetros, que foi de 410  $\mu\text{m}$  e 39  $\mu\text{m}$ , respectivamente.

Também não foram encontradas diferenças estatísticas significativas para o diâmetro do parênquima axial e altura do raio, o qual variou de 15,73  $\mu\text{m}$

no clone 1 a 17,41  $\mu\text{m}$  no clone 3 e de 182,19  $\mu\text{m}$  no clone 4 a 222,28  $\mu\text{m}$  no clone 3, respectivamente. Os valores de altura de raio encontrados neste trabalho são superiores ao encontrado por Quilhó, Pereira e Richter (2000), nas cascas de *Eucalyptus globulus* com 15 anos, que foi de 156  $\mu\text{m}$ .

Para o parâmetro frequência de raio por milímetro foi encontrada diferença estatística significativa entre os clones. Os clones 1 e 2 são estatisticamente iguais, com menores valores (3,94 e 4,37  $\mu\text{m}$ ) e diferem dos clones 3 e 4 (6,07 e 7,49  $\mu\text{m}$ ), que também diferem entre si.

Em suma, nota-se que o clone 1 apresenta elementos de tubo crivoso com maiores dimensões, menor diâmetro do parênquima axial, menor quantidade de raio por mm linear. O clone 2 possui menor comprimento de fibras, com paredes mais espessas e lume mais fino. O clone 3 possui fibras mais grossas, elementos de tubo crivoso com menores diâmetros, parênquima axial com maiores diâmetros e maiores raios. O clone 4 possui fibras menores, com diâmetro da fibra e espessura da parede menores, lume das fibras mais espesso, elementos de tubo crivoso menores, raios menores e maior quantidade de raio por mm quadrado.

Os parâmetros estudados das fibras, como Índice de enfiamento (IE), Coeficiente de Flexibilidade (CF%), Fração Parede (FP%) e Índice de Runkel (IR) estão representados na Tabela 4.

**Tabela 4** Valores médios dos parâmetros claculados das fibras

Clones	CR (%)	CF (%)	FP (%)	IR (%)
A	56,85	29,80	70,19	2,35
B	28,86	25,86	74,14	2,87
C	35,12	35,12	64,88	1,85
D	42,03	40,03	57,97	1,38

A resistência da celulose e do papel tem uma altíssima relação com a espessura da parede da fibra. Segundo Paula (1999), fibras com paredes mais espessas possuem maior teor relativo de celulose do que fibras de paredes finas, dessa forma existe uma correlação positiva entre a espessura da parede e o rendimento em produção de celulose.

Os valores encontrados para o Coeficiente de rigidez variaram de 28,86 a 42,03 para os clones B e D, respectivamente. Segundo Paula e Alves (1989), madeiras com coeficiente de rigidez a partir de 50% são as mais indicadas para produção de papel.

Os valores encontrados para Coeficiente de Flexibilidade variaram de 25,86 a 40,03% para os clones B e D, respectivamente. Segundo Foelkel e Barrichelo (1975), os maiores valores desse coeficiente caracterizam as fibras mais flexíveis, facilitando as ligações entre as mesmas. O coeficiente de flexibilidade relaciona-se positivamente com a resistência à tração, arrebentamento.

Os valores encontrados para Fração Parede variaram de 57,97 a 74,14% para os clones D e B, respectivamente. Fração parede é um índice que influencia a qualidade da celulose e, de acordo com Foelkel e Barrichelo (1975), valores superiores a 40% não produzem celulose de boa qualidade, pois as fibras são extremamente rígidas, pouco flexíveis e com dificuldades nas interligações das mesmas. Nota-se que todos os clones apresentaram valores superiores a 40%. Os valores encontrados de Índice de Runkel variaram de 1,38 a 2,87 para os clones D e B, respectivamente.

Runkel (citado por PAULA, 1999) propôs a seguinte classificação: fibra com índice até 0,25 é tida como excelente para papel; de 0,25 a 0,50 é muito boa; de 0,50 a 1,00 é boa; de 1,00 a 2,00 regular e, acima de 2,0 não deve ser usada para papel, tendo em vista tratar-se de fibra com paredes espessas ou muito espessas.

Segundo Paula e Alves (1989), fibras com índice de Runkel abaixo de 1,0 e coeficiente de rigidez acima de 60% são consideradas de boa qualidade para produção de papel. Esse comportamento não foi verificado para as fibras de nenhum dos clones indicados, ou seja, esses materiais não são indicados para a produção de papéis. Com relação à percentagem de tecidos nos clones estudados, os valores médios estão representados na Tabela 5.

**Tabela 5** Valores médios de percentagem de tecido por clone

Clone	Células expandidas	ETC <sup>ns</sup>	Fibras <sup>ns</sup>	Parênquima axial <sup>ns</sup>	Parênquima radial <sup>ns</sup>
A	18,54 a	3,54	30,86	35,76	11,29
B	29,38 c	3,85	31,05	22,75	12,97
C	20,10 a b	5,13	30,58	32,41	11,79
D	28,76 b c	4,92	21,06	36,01	9,25

<sup>ns</sup> : Não significativo pelo teste Tukey, a 5% de significância.

Nas colunas, valores seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de significância.

Nota-se que o tecido mais abundante na maioria dos clones é o parênquima axial, exceto para o clone B que correspondem às fibras. Os clones A e C possuem em maiores quantidades parênquima axial, seguido de fibras, células expandidas, parênquima radial e elementos de tubo crivoso. O clone B possui em maior proporção fibras, seguido de células expandidas, parênquima axial, parênquima radial e elementos de tubo crivoso. Já o clone D possui em maior proporção parênquima axial, seguido de células expandidas, fibras, parênquima radial e por último os elementos de tubo crivoso.

Separando por material genético, verificou-se que para percentagem de células expandidas os valores médios foram de 22,68% para os clones A, B e C híbridos de *E. urophylla* e 28,76 para o clone D, híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*, valores estes superiores aos verificados por Santos (1998) em *E.*

*globulus* com 9 anos de idade que foi de 12% e de 6,5% por Quilhó, Pereira e Richter (2000) com 15 anos. Também com relação aos elementos de tubos crivoso os valores encontrados neste estudo foram superiores ao verificado por Quilhó, Pereira e Richter (2000) que foi de 2,7%. Com relação às fibras os clones A, B, e C possuem maior percentagem (30,83%) enquanto o clone D, possui menor percentagem (21,06%) quando comparados aos valores encontrados por Quilhó, Pereira e Richter (2000), que foi de 27,9%. Em contrapartida os valores de parênquima axial encontrados foram inferiores, de 30,31% para os clones A, B e C 36,01% para o clone D ao encontrado para *E. globulus* por Quilhó, Pereira e Richter (2000) que foi de 50%. Já com relação ao parênquima radial, os valores encontrados para os clones 1, 2 e 3 de 12,02% assemelham ao encontrado pelos autores citados, que foi de 12,1% e superior ao do clone D que foi de 9,25%.

A origem das células expandidas está habitualmente associada à idade da árvore (QUILHÓ; PEREIRA; RICHTER, 1999, 2000; TROCKENBRODT, 1991,1994).

#### 4 CONCLUSÕES

Com relação à descrição anatômica, os clones estudados assemelham-se com as espécies de *Eucalyptus* descritas na literatura, possuem cascas finas, com uma pequena camada de floema não colapsado e predominância de floema colapsado. A transição do floema não colapsado para o floema colapsado é mais gradual.

Entre os indivíduos estudados, mostraram-se estruturalmente semelhantes no que se refere à presença, distribuição e morfologia dos elementos constituintes; as diferenças significativas foram verificadas para os elementos anatômicos. Existem diferenças significativas entre os clones para percentagem de camadas nas cascas. O clone 4, híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis* diferiu dos demais para percentagem de floema e ritidoma.

Com relação à biometria das fibras verificou-se que o clone 4, *E. urophylla* x *E. camaldulensis*, possui fibras com menores comprimento, largura e espessura de parede e de maior espessura de lume, e difere dos demais clones. De acordo com os parâmetros calculados para as fibras, as cascas dos clones não possuem propriedades desejáveis para a produção de papel.

## REFERÊNCIAS

ALFONSO, V. **Caracterização anatômica do lenho e casca das principais espécies de *Eucalyptus* L'Herit cultivadas no Brasil**. 1987. 189 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1987.

BAKER, R. T. Some ironbarks of New South Wales. **Journal and a Proceedings of the Toyal Society of New South Wales**, Sydney, v. 51, p. 410-422, 1917.

BARBOSA, A. C. F. et al. A new method to obtain good anatomical slides of heterogeneous plant parts. **IAWA Journal**, Utrecht, v. 31, n. 4, p. 373-383, 2010.

CARNEIRO, A. C. O. et al. Reatividade dos taninos da casca de *Eucalyptus grandis* para produção de adesivos. **Cerne**, Lavras, v. 7, n. 1, p. 1-9, 2001.

CHATTAWAY, M. The anatomy of bark. I. The genus *Eucalyptus*. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 1, n. 3, p. 402-403, 1953

CHATTAWAY, M. The anatomy of bark. II. Oil gland in *Eucalyptus* species. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 3, n. 1, p. 23-27. 1955a.

CHATTAWAY, M. The anatomy of bark. III. Enlarged fibres in the bloodwoods (*Eucalyptus* spp.). **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 3, n. 31, p. 28-38. 1955b.

CHATTAWAY, M. The anatomy of bark. IV. Radially elongated cells in the phelloderm of species of *Eucalyptus*. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 3, n. 1, p. 39-47, 1955c.

FOELKEL, C. E.; BARRICHELO, L. E. G. **Tecnologia de celulose e papel**. Piracicaba: ESALQ, 1975. 207 p.

FOELKEL, C. E. **Casca da árvore de eucalipto**. 2005. Disponível em: <<http://www.eucalyptus.com.br>>. Acesso em: 22 ago. 2015.

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. **Anuário estatístico da indústria brasileira de árvores**: ano base 2012. Brasília, DF, 2015. 77 p.

LOPES, O. **Anatomia e identificação da madeira de genótipos de *Eucalyptus* spp. plantados no estado de Minas Gerais**. 2013. 93 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia da Madeira) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2013.

PATRÍCIO, H. S. M. **Caracterização anatômica da casca de *Eucalyptus nitens* (Deane & Maiden) e *Eucalyptus rudis* Endl. para identificação das espécies**. 2014. 74 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal e dos Recursos Naturais) - Universidade de Lisboa, Lisboa, 2014.

PAULA, J. E.; ALVES, J. L. H. Estrutura anatômica de madeiras indígenas para produção de energia e papel. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 12, p. 1461-1471, 1989.

PAULA, J. E. Caracterização anatômica de madeiras nativas do Cerrado com vistas à produção e energia. **Revista Cerne**, Lavras, v. 5, n. 2, p. 26-40, 1999.

PEREIRA, H. et al. **Qualidade e utilização tecnológica do eucalipto (*Eucalyptus globulus*)**. Lisboa: Centro de Estudos Florestais, 2010. 377 p.

PEREIRA, J. A. **Contribuição para a identificação micrográfica das nossas madeiras**. São Paulo: Escola Politécnica de São Paulo, 1933. 165 p.

PIRRALHO, M. et al. Estudo comparativo da anatomia de madeira e casca de duas espécies de eucalipto. In: CONGRESSO FLORESTAL NACIONAL "FLORESTAS - CONHECIMENTO E INOVAÇÃO", 7., 2013, Vila Real. **Anais...** Vila Real: [s. n.], 2013.

QUILHÓ, T. et al. Bark anatomy and cell size variation in *Quercus faginea* **Turkish Journal of Botany**, Ankara, v. 37, p. 561-570, 2013.

QUILHÓ, T.; PEREIRA, H.; RICHTER, H. Variability of bark structure in plantation-grown *Eucalyptus globulus*. **IAWA Journal**, Utrecht, v. 20, p. 171-180, 1999.

QUILHÓ, T.; PEREIRA, H.; RICHTER, H. Within-tree variation in phloem cell dimensions and proportions in *Eucalyptus globulus*. **IAWA Journal**, Utrecht, v. 21, p. 31-40, 2000.

QUILHÓ, T.; SARDINHA, R. Bark anatomy of *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae). **Silva Lusitana**, Lisboa, v. 3, p. 173-190, 1995.

RICHTER, H. et al. Padronização de critérios para a descrição anatómica da casca: lista de características e glossário de termos. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 16, p. 1-25, 1996.

SANTOS, T. **Variabilidade da estrutura anatómica da casca de *Eucalyptus globulus* Labill.** 1998. 224 p. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal e dos Recursos Naturais) - Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, 1998.

SEN, A.; QUILHÓ, T.; PEREIRA, H. Bark anatomy of *Quercus cerris* L. var. *cerris* from Turkey. **Turkish Journal of Botany**, Ankara, v. 35, p. 45-55, 2011.

TROCKENBRODT, M. Qualitative structural changes during bark development in *Quercus robur*, *Ulmus glabra*, *Populus tremula* e *Betula pendula*. **IAWA Journal**, Utrecht, v. 12, n. 1, p. 5-22, 1991.

TROCKENBRODT, M. Quantitative changes of some anatomical characters during bark development in *Quercus robur*, *Ulmus glabra*, *Populus tremula* e *Betula pendula*. **IAWA Journal**, Utrecht, v. 15, n. 4, p. 387-398, 1994.

TROCKENBRODT, M. Survey and discussion of the terminology used in bark anatomy. **IAWA Journal**, Utrecht, v. 11, p. 141-166, 1990.

### **CAPÍTULO 3**

**Caracterização química de cascas de clones comerciais de *Eucalyptus***

## RESUMO

Híbridos de *Eucalyptus urophylla* correspondem à importante matéria-prima para a indústria florestal no Brasil, produzindo como descarte grandes quantidades de cascas, as quais podem ser utilizadas como matéria-prima para produtos de valor agregado. O objetivo neste trabalho foi quantificar quimicamente um clone híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis* e três híbridos de *E. urophylla*. Foram determinados os rendimentos em cinzas, extrativos, lignina, suberina e polissacarídeos, bem como uma análise qualitativa dos extratos lipofílicos por GC-MS. Os híbridos apresentam composição semelhante, em média: 16,1% de extrativos, com predominância de compostos polares solúveis em etanol e água; 19,3% de lignina; 48,5% de polissacarídeos; 1,2% de suberina e 2,0% de cinzas. Dos polissacarídeos mostrou uma predominância de celulose com elevado teor de glicose, que representa 84,4% do total de monossacarídeos neutros e xilose com 9,5%. Em todas as cascas, os ácidos graxos e triterpenos (ou seja, betulínico e ácido ursólico) foram os compostos mais abundantes, seguido de quantidades menores de esteróis, álcoois alifáticos de cadeia longa, ácidos fenólicos e acilgliceróis. Os extratos etanol-água das cascas possuem elevado teor de fenólicos: os teores de fenóis totais variou de 210,9-287,7 mg EAG g<sup>-1</sup> de extrato, taninos 76,5-183,8 mg EC g<sup>-1</sup> de extrato e flavonoides 92,6-128,5 mg EC g<sup>-1</sup> de extrato. A atividade antioxidante correspondeu a 288 mg g<sup>-1</sup> Trolox de extrato. O desenvolvimento de produtos de alto valor através de uma abordagem integrada em biorrefinaria é proposto incluindo valorização de extrativos e direcionamento para aplicações à base de celulose.

Palavras-chave: Extrativos. Biorrefinaria. Cascas.

## ABSTRACT

*Eucalyptus urophylla* hybrids are an important feedstock for the forest industry in Brazil, and large quantities of barks are available at mill site that may be used for value-added products. The objective of this study was the chemical quantification of a hybrid clone of *E. urophylla* x *E. camaldulensis* and three hybrid of *E. urophylla*. It was determined yields in ashes, extractives, lignin, suberin and polysaccharides, as well as a qualitative analysis of lipophilic extracts by GC-MS. The hybrids had similar composition, on average: 16.1% extractives, especially polar compounds soluble in ethanol and water, 19.3% lignin, 48.5% polysaccharides, 1.2% suberin and 2.0% ash. The polysaccharides showed a predominance of cellulose with high glucose, which represents 84.4% of neutral monosaccharides and xylose 9.5%. In all barks, fatty acids and triterpenes (that is: betulinic and ursolic acids) were the most abundant compounds followed by smaller amounts of sterols, long-chain aliphatic alcohols, phenolic acids and acylglycerols. The ethanol-water bark extracts had a high phenolic content: total phenols ranged from 210.9 to 287.7 mg GAE g<sup>-1</sup> of extract, tannins 76.5 to 183.8 mg CE g<sup>-1</sup> of extract, and flavonoids 92.6 to 128.5 mg CE g<sup>-1</sup> of extract. The antioxidant activity corresponded to 288 mg g<sup>-1</sup> extract of Trolox. Development of high-value products through an integrated biorefinery approach is proposed including recovery of extractives directing them for cellulose-based applications.

Keywords: Extractives. Biorefinery. Barks.

## 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Eucalyptus*, de ocorrência natural na Austrália, possui cerca de 700 espécies adaptadas às mais diversas condições de clima e solo (MONTAGU; KEARNEY; SMITH, 2003). Relatos apontam que as plantações clonais no Brasil com *Eucalyptus* deslancharam a partir da década de 70, quando a heterogeneidade dos plantios e a incidência de cancro foram decisivas para o desenvolvimento da técnica de estaquia (enraizamento de estacas) em escala operacional, considerada hoje como referência mundial no controle de doenças dessa espécie (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2009). Hoje, plantios comerciais e até mesmo pequenos produtores utilizam materiais clonados, com o intuito de aumentar e melhorar a qualidade do produto final.

Segundo dados da Indústria Brasileira de Árvores - IBA (2015), a área de plantios de *Eucalyptus* no Brasil no ano de 2014, correspondeu a cerca de 5,56 milhões de ha para suprir os diferentes segmentos industriais, sendo a maior área de plantios concentrada no estado de Minas Gerais.

As empresas de carvão vegetal utilizam como fonte de germoplasma *E. urophylla*, *E. camaldulensis* e híbridos de *E.urophylla* x *E. camaldulensis* (PALUDZYSZYN FILHO; SANTOS, 2011). A *Eucalyptus urophylla* é uma espécie que possui boa produtividade e potencialidade para diversas regiões do Brasil, e possui como grande qualidade, a tolerância ao ataque do cancro (*Cryphonectria cubensis*), muito comumente encontrado em condições ambientais sob climas tropicais (MORI; KAGEYAMA; FERREIRA, 1988).

Na colheita e transformação industrial do *Eucalyptus*, são geradas grandes quantidades de resíduos que podem corresponder a 30% da biomassa total colhida, e 10-12% desse volume correspondem às cascas (FOELKEL, 2005; LIMA et al., 2013). Atualmente, a maior parte das cascas é deixada na floresta ou são queimadas para a geração de energias para as próprias indústrias.

Além de seu valor como combustível, devido à sua rica composição química, as cascas também podem ser uma fonte de produtos químicos naturais de alto valor para diferentes segmentos industriais.

O potencial para a extração de compostos fenólicos como antioxidantes naturais foi relatado para as cascas de *E. globulus* (CONDE et al., 1995; MOTA et al., 2013; SANTOS et al., 2012; VÁZQUEZ et al., 2009), *E. camaldulensis* e *E. rudis* (CADAHÍA et al., 1997; CONDE et al., 1996), *E. exserta* (LI; XU, 2012), *E. astringens*, *E. cladocalys*, *E. sideroxylon* e *E. occidentalis* (FECHTAL; REIDL, 1991). A composição lipófila da casca também foi estudada, para *E. globulus* (DOMINGUES et al., 2011a; FREIRE et al., 2002), *E. grandis*, *E. urophylla* x *E. grandis* e *E. maidenii* (DOMINGUES et al., 2011b). As cascas também já foram estudadas com o objetivo de utilização em biorrefinarias, para clones de *E. urophylla* x *E. grandis* e *E. grandis* (BRAGATTO, 2010; LIMA et al., 2013).

Apesar da relevância dos híbridos de *E. urophylla* cultivados no Brasil, poucas pesquisas foram realizadas na caracterização de suas cascas, ou seja, a partir de um ponto de vista químico que poderia promover a sua exploração como recursos biológicos. Devido à sua rica composição química, somada à grande disponibilidade de cascas da espécie torna-se um material interessante para aproveitamento e utilização.

Para que se tenha uma utilização mais eficaz das cascas é necessário selecionar as espécies e conhecer a sua estrutura. O estudo químico da casca pode ser um bom instrumento para o melhor uso e aplicação desse material. Este é o objetivo deste estudo, em que a caracterização química de quatro materiais genéticos híbridos de *E. urophylla* foi feita em relação à composição de cinzas, extrativos, suberina, lignina, compostos fenólicos e açúcares, os quais permitem analisar o valor potencial de suas cascas.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Descrição do material, local de coleta e preparo das amostras

Foram utilizadas cascas de *Eucalyptus* provenientes de duas empresas associadas à Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas (ABRAF), localizadas no estado de Minas Gerais, Brasil. Uma empresa é produtora de madeira tratada/carvão vegetal (Clones 1 e 2) e outra de carvão vegetal (Clones 3 e 4). De cada empresa, foram coletadas cascas de três árvores dos dois genótipos mais utilizados com idade comercial de aproximadamente sete anos. As cascas foram retiradas na altura de 1,30 m do solo. Informações referentes aos materiais genéticos coletados para a realização deste estudo estão representadas na Tabela 1.

**Tabela 1** Origem do material industrial, diâmetro médio à altura do peito, espessura de casca para os quatro clones estudados

Clone	Município	Material genético	DAP (cm)	Idade (anos)	Espessura da casca (mm)
A	Curvelo	<i>E. urophylla</i>	15,3	7,17	3,12
B		<i>E. urophylla</i>	16,9	6,8	3,29
C	Paraopeba	<i>E. urophylla</i>	17,0	7	3,13
D		<i>E. urophylla</i> x <i>E. camaldulensis</i>	17,9	7	3,39

A empresa produtora de madeira tratada/carvão vegetal localiza-se na cidade de Curvelo, com as coordenadas 18° 44' 57'' de latitude sul e 44° 26' 48'' de longitude oeste. A empresa produtora de carvão vegetal localiza-se no município de Paraopeba e possui coordenadas 19° 16' 54'' de latitude sul e 44° 24' 32'' de longitude oeste.

As cascas, após coletadas, foram secas ao ar livre, moídas em moinho de martelo e peneiradas em conjunto de peneiras de 40 e 60 mesh. Para as análises, foi utilizado o material que ficou retido na peneira de 60 mesh.

As análises químicas qualitativas e quantitativas das cascas foram realizadas no Laboratório de Química de Produtos Florestais do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa, Portugal.

## **2.2 Cinzas**

O teor de cinzas foi determinado de acordo com a norma TAPPI T 211 om-93, através da incineração 2,0 g de casca de amostra a 525 °C, *over night*, e os resíduos quantificados por diferença de massa do resíduo e massa inicial.

## **2.3 Extrativos**

A determinação do rendimento em extrativos foi seguida de acordo a Norma TAPPI T204 om-88 e T207 om-93, em que foi realizada por extrações sucessivas em extrator do tipo Soxhlet, em que foram utilizados 2 g de amostra em diclorometano (6 horas), etanol (16 horas) e água (16 horas). O rendimento em extrativos em cada solvente utilizado foi determinado com base na massa do resíduo e massa inicial. O rendimento em extrativos totais consiste na somatória do rendimento para cada solvente utilizado.

### **2.3.1 Composição lipofílica**

Os extratos lipófilos das cascas que foram solubilizados em diclorometano foram recuperados como um resíduo sólido após evaporação do solvente e secos a vácuo à temperatura ambiente durante a noite. Foram utilizadas alíquotas (2 mg)

de cada amostra, as quais foram derivatizadas. Para se avaliar a presença de estruturas esterificadas, 2 mg dos extratos de diclorometano foram dissolvidos em NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup> em metanol:água (50%) e aquecidos a 100 °C, sob atmosfera de N<sub>2</sub> (nitrogênio), durante 1 h. A mistura da reação foi arrefecida, acidificada com HCl 1 mol L<sup>-1</sup> até pH 2, e extraído três vezes com diclorometano, e, em seguida, o solvente foi evaporado até a secura.

A derivatização das amostras antes e após a hidrólise foi efetuada antes da análise. Os extratos foram dissolvidos em 100 µL de piridina e os compostos com grupos hidroxila e carboxila foram trimetilsilatados em trimetilsilil (TMS), éteres e ésteres, respectivamente, pela adição de 100 µL de cloreto de bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida (BSTFA). A mistura foi aquecida a 60 °C durante 30 minutos em forno.

Os extratos foram derivatizados e imediatamente analisados por GC-MS por injeção num GC-MS Agilent 5973 MSD nas seguintes condições: coluna Zebron 7HG-G015-02 (30 m, 0,25 mm; ID, 0,1 µm de espessura de filme), fluxo 1 mL min<sup>-1</sup>, injetor a 380 °C, programa de temperatura do forno, 100 °C (1 min), taxa de 10 °C min<sup>-1</sup> até 150 °C, taxa de 4 °C min<sup>-1</sup> até 300 °C, taxa de 5 °C min<sup>-1</sup> até 370°C, a taxa de 8 °C min<sup>-1</sup> até 380°C (5 minutos). A fonte MS foi mantida a 220 °C e os espectros de massas de impacto de elétrons (EI-MS) com 70 eV.

Os compostos foram identificados como derivados de TMS por comparação de seus espectros de massa com uma biblioteca espectral GC-MS (Wiley, NIST), e comparando os seus perfis de fragmentação com os dados publicados (EGLINTON; HUNNEMAN, 1968; KOLATTUKUDY; AGRAWAL, 1974). A verificação completa do cromatograma foi utilizada a fim de encontrar todos os compostos possíveis. Para a análise semiquantitativa da área dos picos nos cromatogramas de íons totais da análise por GC-MS foi integrado e as suas proporções relativas expressas como percentagem da área total do cromatograma. Cada alíquota foi injetada em triplicata e os resultados apresentados por média.

## 2.4 Suberina

Para a determinação do conteúdo de suberina foram utilizados 1,5 g de cascas livres de extrativos, as quais foram refluxadas em solução de metóxido de sódio por três horas conforme Pereira (1988). As amostras foram filtradas, lavadas com metanol, submetidas a refluxo durante 15 minutos e filtradas novamente. Os extratos filtrados foram acidificados até pH 6 com ácido sulfúrico 2 mol L<sup>-1</sup> e evaporados até a secura. O resíduo foi suspenso com 50 mL de água e três extrações sucessivas, cada uma com 50 mL de diclorometano. Posteriormente, foi adicionado sulfato de sódio anidro por 24 horas e filtrado em papel filtro e evaporado até a secura. Os extratos de suberina foram quantificados por gravimetria, e os resultados expressos em percentagem de massa seca inicial.

## 2.5 Lignina

Os rendimentos em Lignina Klason, lignina solúvel em ácido e carboidratos foram determinados com 0,35 g de amostras livres de extrativos e suberina. A lignina Klason foi determinada de acordo com a Norma TAPPI T222 om-88, em que foi adicionado nas amostras ácido sulfúrico (72%, 3,0 ml) e a mistura foi colocada em banho de água a 30 °C durante 1 hora. Após esse período, a amostra foi diluída para uma concentração de 3% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e hidrolisada durante 1 hora a 120 °C. A amostra foi filtrada a vácuo com um cadinho de porosidade número 2 e lavadas com água destilada. A lignina Klason foi determinada com relação à massa do resíduo sólido, após secagem em estufa a 105 °C. A lignina solúvel em ácido (TAPPI UM 250) foi determinada no material filtrado por meio da medição da absorbância a 206 nm usando um UV/VIS. O rendimento em lignina foi obtido com o somatório

da lignina Klason e lignina solúvel em ácido. O restante da solução ácida foi mantido para análise de açúcares.

## 2.6 Açúcares

Os polissacarídeos foram determinados com base na quantidade de monômeros de açúcares neutros liberados por hidrólise total. O primeiro passo correspondeu à neutralização e concentração das amostras. Para isso, do extrato, correspondente à lignina solúvel, foram retiradas alíquotas de 100 mL, adicionado como padrão 2 mL de inositol e 3 gotas de bromofenol. Posteriormente, foi adicionada solução saturada de hidróxido de bário até mudar a cor da solução de amarelo para azul. A mistura foi então centrifugada e o sobrenadante transferido para erlenmeyer.

A segunda etapa correspondeu em redução, em que consistiu em adicionar 80 mg de  $\text{NaBH}_4$ , e deixar a mistura *over night* e adicionar ácido acético glacial para liberação de gás. A solução foi então concentrada até xarope em rotavapor, e adicionados 10 mL de metanol, evaporado até *secura* e posteriormente secos em estufa para garantir a completa remoção da água.

A seguinte etapa foi a acetilação dos monômeros, em que foram adicionados 7,5 mL de anidrido acético e 0,5 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (72%), os quais foram tampados e levados em banho-maria a 55 °C durante 1 hora. Foi adicionada à mistura 70 mL de água com gelo, os quais posteriormente foram transferidos para ampola de decantação e extraídos sucessivamente com 25, 15 e 10 mL de diclorometano. Os produtos da decantação foram transferidos para balão de 100 mL e concentrados até *secura* em rotavapor, em que posteriormente foi adicionado 1 mL de água e novamente secos até *secura*. O resíduo foi então suspenso com 2 mL de diclorometano e armazenados em vial até injeção em cromatógrafo.

O conteúdo dos monossacarídeos neutros foi quantificado por HPLC (sistema Dionex ICS-3000 equipado com um detector electroquímico). A separação foi realizada com coluna Amino CarboPacSA 10 colunas de troca aniônica. A fase móvel utilizada foi uma solução aquosa de NaOH a 2 mM a um fluxo de 1,0 mL min<sup>-1</sup> a 25 °C.

Os açúcares foram quantificados por relacionar as suas áreas de picos cromatográficos com a área do padrão inositol. O conteúdo de polissacarídeo foi determinado pela soma das massas de açúcares individuais.

## **2.7 Conteúdo fenólico no extrato da casca**

Aproximadamente 1 g de amostra de casca foi extraído com etanol/água (50/50, v/v) com uma razão sólido-líquido 1:10 (m/v) durante 60 min a 50 °C utilizando um banho de ultrassons. Os materiais insolúveis foram removidos por filtração e o extrato de sobrenadante foi armazenado a 4 °C. O resíduo sólido foi seco e o rendimento de extração foi calculado em percentagem com relação à massa inicial de material. Fenóis totais, flavonoides e taninos, e atividade antioxidante foram determinadas no extrato hidroalcolico.

O teor de fenóis totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu. Para isso, misturou-se 100 µL de extrato com 4 mL de reagente Folin-Ciocalteu e após 6 minutos adicionou 4 mL de solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 7%. A mistura foi levada em banho termostaticado por 15 minutos a 45 °C e medida a absorbância a 760 nm. A curva de calibração foi preparada utilizando ácido gálico como um padrão (0-150 mg mL<sup>-1</sup>). O teor de fenol total foi expresso em miligramas de equivalentes de ácido gálico (GAE)/100 g do extrato da casca seca.

Já o conteúdo de flavonoides foi determinado por um ensaio colorimétrico com cloreto de alumínio. Uma alíquota de 1,0 mL do extrato foi misturada com 4,0 mL de água deionizada, seguido por 0,3 mL de uma solução

de  $\text{NaNO}_2$  a 5%. Após 5 minutos, adicionou-se 0,3 mL de uma solução de  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  10%. Após mais 5 minutos adicionaram-se 2,0 mL de solução de  $\text{NaOH}$   $1 \text{ mol L}^{-1}$ , e o volume total foi ajustado para 10,0 mL com água deionizada. A absorbância foi medida a 510 nm, e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de (+)-catequina (CE)/100 g do extrato da casca seca.

O teor de taninos foi obtido pelo método de vanilina- $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Uma alíquota de 1,0 mL do extrato foi misturada com 2,5 mL de solução de vanilina em metanol a 1,0% (m/v) e depois com 2,5 mL de solução de ácido sulfúrico em metanol absoluto a 25% (v/v) para a reação com os polifenóis presentes no extrato e a vanilina. Após 15 minutos, as absorbâncias foram medidas a 500 nm, e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de (+)-catequina (CE)/100 g de extrato de casca seca.

## 2.8 A atividade antioxidante do extrato da casca

O método utilizado baseia-se na transferência de elétrons que por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radical (R.), o DPPH de cor púrpura (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) é reduzido e forma-se o difenil-picril-hidrazila de cor amarela, podendo ser monitorada por espectrofotometria, de maneira que a perda da cor ocorra de forma proporcional à concentração da capacidade antioxidante. A partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou porcentagem de sequestro de radicais livres e/ou porcentagem de DPPH remanescente no meio reacional (NASCIMENTO et al., 2011).

Os radicais livres de DPPH, que inicialmente apresentam cor púrpura por possuírem elétron livre, perdem essa cor quando um radical hidrogênio doado por uma molécula antioxidante entra em ressonância com a molécula de DPPH, diminuindo-se, assim, a absorbância. O DPPH é um radical estável e com baixa taxa de deterioração e reatividade com a maioria dos compostos.

Assim sendo, apenas reagentes redutores fortes são capazes de reagir com esses radicais estáveis em um modo estequiométrico (SCHWARS et al., 2001). A baixa absorvância indica atividade sequestrante de radicais livres (SANTOS et al., 2007).

A atividade antioxidante dos extratos foi determinada utilizando 2,2-difenil-1-picril-hidrazina (DPPH) e expressa em termos da quantidade de extrato requerida para reduzir de 50% a concentração de DPPH (IC50) e de equivalentes de Trolox (TEAC) sobre uma base de extrato seco (mg Trolox/mg extrato seco). Em primeiro lugar, diferentes diluições do extrato inicial e do Trolox (0,2 mg mL<sup>-1</sup>) em metanol foram preparados. Alíquotas de 100 µL de cada solução metanólica do extrato e de Trolox foram adicionadas a 3,9 mL de uma solução metanólica de DPPH (24 µg mL<sup>-1</sup>). A amostra em branco consistiu em 100 µL de metanol adicionados a 3,9 mL de solução de DPPH. Após uma incubação de 30 minutos no escuro e à temperatura ambiente, foi medida a absorvância a 515 nm.

A atividade de eliminação de radicais de cada amostra foi calculada pelo percentual de inibição de DPPH como se segue:  $I\% = [(Abs0 - ABS1) / Abs0] \times 100$ , em que a absorvância Abs0 corresponde ao branco e ABS1 a absorvância na presença do extrato em diferentes concentrações.

A concentração de inibição de IC50, que representa a concentração de uma amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais DPPH foi obtida através da representação gráfica da percentagem de inibição *versus* a concentração do extrato.

A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) corresponde à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante, sendo que a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração eficiente (CE50), também chamada de concentração inibitória (CI50). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua CE50 e maior a sua atividade antioxidante (SOUSA et al., 2007).

O efeito de eliminação do radical DPPH do extrato também foi expresso como capacidade antioxidante equivalente Trolox (TEAC) calculado a partir da curva de calibração com solução de Trolox e a percentagem de efeito de eliminação na DPPH radical como:

TEAC (mg Trolox equivalente/extrato mg ou casca) =  $[(\% \text{inhibition sample} + n) / sxm]$ , em que n e s representam a interceptação e a inclinação da curva de calibração Trolox para DPPH e m é a quantidade de amostra em base seca (mg).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para a composição química das amostras das cascas dos quatro clones comerciais híbridos de *E. urophylla* estão demonstrados na Tabela 2. É claramente evidenciada a semelhança no conteúdo dos principais constituintes químicos de todos os clones. A composição química foi significativa (em % de casca seca): 16,6% em extrativos totais, 20% de lignina, 1,2% de suberina e 1,8% de cinzas.

**Tabela 2** Valores médios de extrativos presentes nas cascas dos quatro clones comerciais de *Eucalyptus*

	Clone	A	B	C	D
	Cinzas	1,68	1,70	1,69	2,08
Extrativos	Diclorometano	1,73	1,74	1,57	1,72
	Etanol	7,28	8,09	9,33	8,54
	Água	6,46	6,13	6,69	6,96
	Extrativos Totais	15,47	15,95	17,59	17,22
	Suberina	1,35	1,16	1,34	0,95
Lignina	Lignina Klason	17,94	17,38	15,98	17,71
	Lignina Solúvel	3,27	2,47	2,39	2,73
	Total	21,21	19,85	18,37	20,44

O teor de cinzas variou entre 1,68% e 2,08% para os clones A e D, respectivamente. Os valores reportados na literatura para cascas de *Eucalyptus* mostram-se superiores, por exemplo, *E. globulus* com 4,7% (VÁZQUEZ et al., 2008), e 2,3% (MOTA et al., 2013), *E. grandis* x *E. urophylla* com 4,06% e 7,14% para *E. grandis* (BRAGATTO, 2010).

Os materiais não estruturais obtidos por extração com solventes de polaridade crescente, variaram de 15,47% (Clone A – híbrido *E. urophylla*) a

17,59% (Clone C - híbrido *E. urophylla*). Em relação à composição de extrativos, os resultados mostraram uma proporção muito maior de compostos solúveis em etanol e água (que representam cerca de 89,8% do total de extrativos e, em média, 14,9% da casca). Isso destaca a natureza polar dos extrativos das cascas, incluindo tipicamente os compostos polifenólicos. A proporção dos extrativos lipófilos em diclorometano foi de apenas 10,2%, o que corresponde a 1,69% em casca.

O conteúdo em extrativos nas cascas dos híbridos de *E. urophylla* estudados foi comparado na literatura com os valores relatados para outras espécies de eucalipto. Lima et al. (2013), encontram nas cascas de *E. grandis* x *E. urophylla* e de *E. grandis* valores de 25,8% e 26,7% em extrativos. *E. globulus*, *E. nitens* e *E. saligna* com 10,0%, 18,3% e 17,0%, respectivamente (SENELWA; SIMS, 1999), *E. globulus* com 6,5% e 6,0% (MIRANDA et al., 2013; NEIVA; GOMINHO; PEREIRA, 2014). Já Andrade et al. (2010) encontraram 7% nas cascas de *E. saligna* e *E. grandis* e *E. paniculata*, 10% em *E. urophylla*, 3,5% em *E. camaldulensis*, 4% em *E. citriodora* e 6,5% em *E. pellita*.

O conteúdo em suberina encontrado foi baixo, variando entre 0,95% (Clone D - *E. urophylla* x *E. camaldulensis*) e 1,35% (Clone A - híbrido *E. urophylla*). Isso mostra o baixo conteúdo de células de cortiça nas cascas dos clones estudados, com uma pequena camada de felema na periderme. Isso tem sido demonstrado por estudos anatômicos de algumas cascas de eucalipto, como para *E. globulus* (QUILHÓ; PEREIRA; RICHTER, 1999, 2000), bem como verificado no capítulo anterior para os clones estudados. Um baixo rendimento em suberina nas cascas de *E. globulus* também foi verificado por Miranda et al. (2013), com apenas 0,98%.

Lignina total variou de 18,37% (Clone C – híbrido de *E. urophylla*) para 21,2% (Clone A – híbrido de *E. urophylla*) com lignina Klason variando de 15,98% a 17,94%. Já lignina solúvel em ácido representou, em média, 13,6% do

total de lignina. Os valores médios encontrados para cada clone neste trabalho são inferiores aos encontrados na literatura para *E. globulus*, com valor médio de lignina total de 34,1%, sendo 26,6% de lignina Klason e 7,5% de lignina solúvel em ácido (MIRANDA et al., 2013), *E. grandis* x *E. urophylla* e *E. grandis*, ambas com 32% de lignina total (LIMA et al., 2013), e *E. saligna* com 25%, *E. grandis* com 22%, *E. urophylla* com 23%, *E. camaldulensis* com 23,5%, *E. citriodora* com 24%, *E. paniculata* com 37% e *E. pellita* com 32% de lignina total (ANDRADE et al., 2010).

Com relação à composição em açúcares, os valores médios encontrados nos clones estudados estão representados na Tabela 3.

**Tabela 3** Composição de monossacarídeos nas cascas dos quatro clones comerciais de *Eucalyptus*

Composto	A	B	C	D
Ramnose	0,00	0,00	0,06	0,09
Arabinose	1,02	0,73	0,87	0,98
Xilose	9,42	9,05	9,94	10,25
Mannose	4,81	1,40	3,44	2,19
Galactose	2,52	2,57	2,02	2,57
Glucose	82,23	86,25	83,67	83,95
Glucose/Xilose	8,7	9,5	8,4	8,2
Total	45,08	48,16	46,53	46,96

A quantidade total de polissacarídeos foi semelhante entre os quatro clones (média 46,68%), bem como a sua composição em monossacarídeos. Celulose, tal como estimada a partir do teor de glucose, foi o componente principal (84,02% no total de açúcares monoméricos neutros). As hemiceluloses principalmente xilana, ou seja, conteúdos de xilose e arabinose representaram 9,66% e 0,90% do total de açúcares monoméricos neutros, respectivamente, mas também de galactomanana em uma quantidade considerável (manose e galactose

representaram 2,96% e 2,42%, respectivamente). A relação glicose/xilose (média de 8,7%) foi elevada, o que favorece a utilização desse material como matéria-prima para açúcares fermentáveis.

A composição monomérica dos polissacarídeos é semelhante à composição de outras cascas de espécies de *Eucalyptus*, em relação à predominância de glucose e de um teor de xilose substancial, embora as composições individuais variem um pouco com espécies, como encontrado por Miranda et al. (2013) para cascas de *E. globulus* e Lima et al. (2013) para cascas de *E. grandis* x *E. urophylla* e *E. grandis*.

A composição dos extrativos lipofílicos antes (AH) e depois de hidrólise (DH) um tratamento de hidrólise alcalina é representado na Tabela 4. Os extratos lipófilos das cascas dos clones estudados são constituídos, principalmente, por triterpenos e ácidos graxos.

**Tabela 4** Componentes lipofílicos identificados nos extratos de diclorometano das cascas dos quatro clones comerciais de *Eucalyptus*

Compostos identificados	A		B		C		D	
	AH	DH	AH	DH	AH	DH	AH	DH
<b>Álcool graxo</b>	<b>3,82</b>	<b>5,26</b>	<b>3,01</b>	<b>7,47</b>	<b>3,71</b>	<b>6,82</b>	<b>2,53</b>	<b>5,88</b>
Octadecanol	-	-	-	-	-	0,23	0,20	0,67
Hexadecanol	-	-	0,32	0,69	0,22	-	-	-
Docosanol	-	-	-	-	0,72	-	1,06	2,71
Tetracosanol	1,34	2,08	0,63	1,26	1,05	1,71	1,00	2,44
Pentacosanol	-	-	-	-	0,42	-	0,27	0,06
Hexacosanol	1,15	1,47	1,28	4,29	0,69	2,82	-	-
Heptacosanol	0,87	1,03	-	-	-	-	-	-
Octacosanol	0,46	0,68	0,78	1,23	0,61	2,06	-	-
Tricosanol	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Ácidos graxo</b>	<b>19,07</b>	<b>31,02</b>	<b>13,73</b>	<b>32,35</b>	<b>16,23</b>	<b>42,09</b>	<b>11,66</b>	<b>18,95</b>
Ácido decanoico	-	-	-	-	-	0,25	-	-
Ácido pentanoico	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido dodecanoico	0,44	0,71	0,35	1,86	0,45	0,70	0,36	0,41
Ácido tetradecanoico	2,29	2,46	1,43	2,77	-	2,27	-	-
Ácido pentadecanoico	0,78	0,74	0,52	1,68	0,62	1,72	0,54	0,87
Ácido hexadecanoico	9,35	15,01	5,37	9,37	9,15	15,84	6,71	10,87
Ácido heptadecanoico	-	-	-	-	-	0,70	0,27	0,62
Ácido octadecanoico	1,78	2,16	-	-	1,71	2,42	1,23	2,54
Ácido nonadecanoico	-	-	-	-	-	0,48	-	-
Ácido eicosanoico	0,38	0,43	-	-	-	1,03	0,94	0,95
Ácido heneicosanoico	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido docosanoico	0,56	2,95	1,03	3,41	0,77	2,63	-	-
Ácido tetracosanoico	1,51	2,68	1,99	4,12	1,58	4,45	0,89	1,96

Continuação...

Ácido pentacosanoico	0,25	-	-	-	0,31	1,33	-	-
Ácido hexacosanoico	1,73	3,88	3,04	9,14	1,64	8,27	0,72	0,73
Ácido octacosanoico	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Ácidos alcanóicos substituídos</b>	<b>4,02</b>	<b>3,97</b>	<b>0,69</b>	<b>0,33</b>	<b>5,97</b>	<b>2,95</b>	<b>1,51</b>	<b>0,60</b>
Ácido <i>Cis</i> -9-hexadecenoico	1,44	1,13	-	-	2,20	-	-	-
Ácido <i>Cis</i> -11-octadecenoico	0,39	0,25	-	-	-	0,49	-	-
Ácido <i>Cis</i> -6-octadecenoico	-	-	-	-	-	0,36	-	-
Ácido <i>Trans</i> -9-hexadecenoico	-	0,25	0,69	0,33	-	0,34	0,56	0,21
Ácido <i>Trans</i> -9-octadecenoico	2,19	1,97	-	-	3,77	1,76	0,95	0,39
Ácido <i>Trans</i> -13-octadecenoico	-	0,41	-	-	-	-	-	-
Ácido 2-Hidroxihexacosanoico	-	0,21	-	-	-	-	-	-
<b>Diácidos saturados</b>	<b>0,56</b>	<b>0,04</b>	<b>0,39</b>	<b>0,09</b>	<b>0,43</b>	<b>0,97</b>	<b>0,39</b>	<b>0,81</b>
Ácido Azelaico	0,56	0,01	0,39	0,02	0,03	0,49	0,11	-
Ácido Hexadecanedioico	-	0,03	-	0,07	0,40	0,48	0,28	0,81
<b>Diácidos substituídos</b>	<b>0,68</b>	<b>2,01</b>	-	<b>1,01</b>	<b>0,85</b>	<b>0,23</b>	<b>1,39</b>	<b>1,24</b>
Ácido 9,12-Octadecadienoico	0,68	0,42	-	1,01	0,85	0,23	1,39	1,21
Ácido 8,9,18-Trihidroxioctadecanedioico, metil éster	-	1,59	-	-	-	-	-	0,03
<b><math>\omega</math>- hidroxiácidos saturados</b>	-	-	-	-	<b>1,46</b>	<b>1,59</b>	<b>2,12</b>	<b>16,03</b>
Ácido 18-Hidroxiocetadecanoico, metil éster	-	-	-	-	-	-	-	2,02
Ácido 22-Hidroxidocosanoico	-	-	-	-	-	1,59	2,12	12,23
Ácido 24-Hidroxitetraacosanoico	-	-	-	-	1,46	-	-	1,78
<b>Esteróis</b>	<b>9,67</b>	<b>3,19</b>	<b>5,88</b>	<b>1,02</b>	<b>9,45</b>	<b>3,48</b>	<b>12,11</b>	<b>6,11</b>
$\beta$ -Sitosterol	9,67	3,19	4,91	1,02	9,45	3,48	12,11	6,11
Desconhecido	-	-	0,97	-	-	-	-	-
<b>Triterpenos</b>	<b>27,51</b>	<b>25,15</b>	<b>39,25</b>	<b>24,03</b>	<b>25,37</b>	<b>12,40</b>	<b>26,06</b>	<b>22,66</b>
$\beta$ -Amirina	4,06	1,23	1,13	1,02	32,77	4,53	5,72	4,45
Ácido Oleanólico	2,19	2,94	3,73	3,25	2,92	-	0,83	0,16
Ácido Corosólico	5,91	5,56	1,26	0,74	5,88	1,13	1,09	0,19

Continuação...

Ácido Asiático	0,83	5,65	-	-	1,60	-	-	-
Betulin	-	-	-	-	-	0,64	-	-
Ácido betulínico	9,67	7,58	13,27	8,03	5,16	2,51	11,63	12,75
Ácido ursólico	4,85	2,19	19,86	10,59	6,04	3,59	6,25	4,75
Lupeol	-	-	-	-	-	-	0,54	0,36
<b>Derivados de glicerol</b>	<b>0,87</b>	<b>1,68</b>	-	-	<b>2,61</b>	-	-	-
2-Hexadecanoil glicerol	0,20	-	-	-	-	-	-	-
1-Hexadecanoil glicerol	0,67	1,68	-	-	2,61	-	-	-
<b>Outros</b>	<b>9,93</b>	<b>3,12</b>	<b>8,36</b>	<b>6,30</b>	<b>8,81</b>	<b>3,56</b>	<b>19,76</b>	<b>6,12</b>
Vanilina	-	-	0,11	0,21	0,28	-	-	-
Isovanilina	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido Vanílico	0,44	-	0,31	0,09	0,69	-	0,37	0,05
Ácido Ferúlico	-	-	-	-	-	0,55	-	-
Sitosteril-glucopiranoside	6,59	3,12	7,47	5,90	4,37	3,01	18,80	6,07
Ácido treonico	-	-	0,47	-	-	-	0,59	-
3,5-Dimetoxi-4-hidroxibenzaldehido	0,44	-	-	-	0,47	-	-	-
<b>Identificados</b>	<b>76,13</b>	<b>77,44</b>	<b>71,31</b>	<b>72,60</b>	<b>72,89</b>	<b>74,09</b>	<b>77,53</b>	<b>78,40</b>
Não Identificados	23,87	22,56	28,69	27,40	27,11	25,91	22,47	21,6
Total	100	100	100	100	100	100	100	100

Os triterpenos representam valores de 27,51%; 39,25% e 25,37% dos compostos identificados nos extratos das cascas antes da hidrólise para os clones A, B e C, respectivamente (híbridos de *E. urophylla*), o clone D *E. urophylla* x *E. camaldulensis* apresentou valor semelhante, de 26,06% em triterpenos. Após a hidrólise, esses valores foram de 25,15%, 24,03%, 14,40% e 22,66% para os clones A, B, C e D, respectivamente.

Depois da hidrólise alcalina dos extratos, os conteúdos terpênicos diminuíram, o que significa que os triterpenos existentes nos extratos lipófilos das cascas estão como formas livres. Esses resultados são semelhantes aos já descritos para *E. grandis*, *E. urograndis* e *E. maidenii* (FREIRE et al., 2002).

Ácido betulínico e ácido ursólico foram os principais triterpenos encontrados, em que maiores concentrações foram verificadas no clone B (híbrido de *E. urophylla*) com 13,27% e 19,86%, respectivamente. Outros triterpenos foram  $\beta$ -amirina, lupeol, betulin, ácido oleanólico, corosólico, e ácidos asiáticos.

Os principais triterpenos encontrados em extratos lipofílicos das cascas dessas espécies também foram relatados para cascas de *E. urograndis*, *E. grandis*, *E. maidenii*, *E. globulus* e *E. nitens* (DOMINGUES et al., 2011b). As cascas de *E. globulus* e de *E. grandis* também têm uma quantidade considerável de ácidos triterpênicos, tais como, ácidos betulínico, ursólico e oleanólico, e também  $\beta$ -amirina, que têm uma gama de atividades biológicas que podem ser exploradas na indústria farmacêutica (PATINHA et al., 2013).

Os ácidos graxos com comprimentos de cadeia de C10 a C28 foram encontrados em quantidades elevadas nos extratos lipofílicos das cascas estudadas, variaram de 11,66% a 42,09%. Ácido hexadecanoico foi o composto principal (5,4% no clone B híbrido de *E. urophylla* antes da hidrólise a 15,84% no clone C híbrido de *E. urophylla* após hidrólise), seguindo-se ácidos tetradecanoico, octadecanoico, tetracosanoico e hexacosanoico.

Álcoois graxos, ácidos alcanoicos substituídos, diácidos saturados e  $\omega$ -hidroxiácidos saturados estão presentes em baixos teores. Com exceção dos ácidos alcanoicos substituídos, o conteúdo de todos os álcoois graxos, os diácidos saturados e  $\omega$ -hidroxiácidos saturados aumentaram os teores após hidrólise alcalina, o que significa que esses compostos eram principalmente ligados uns aos outros, como por exemplo, estruturas polimerizadas diglicerídeos ou triglicerídeos que não puderam ser detectados por análise de GC-MS (KROGELL et al., 2012). Foram identificados também derivados de glicerol, porém apenas nos Clones A e C.

Os esteróis também foram identificados em quantidades consideráveis nos extratos das cascas dos clones de *Eucalyptus*, variando entre 5,9% no clone B (híbrido de *E. urophylla*) a 12,1% no clone D (*E. urophylla* x *E. camaldulensis*). O  $\beta$ -sitosterol foi, em todos os casos, o principal composto encontrado, em maiores quantidades nos clones A e C. O teor em esterol diminuiu ligeiramente após hidrólise alcalina, o que significa que, como para triterpenos, os esteróis existem em formas livres.

O rendimento da extração em etanol-água (50% v/v) e a quantificação de polifenóis como taninos e flavonoides, e capacidade antioxidante são dados na Tabela 5.

**Tabela 5** Rendimento de extração, teor de fenóis totais, taninos e flavonoides e atividade antioxidante dos extratos da casca de quatro clones comerciais de *Eucalyptus*

Clones	A	B	C	D
Rendimento em extração (%)	11,5	14,8	12,4	14,0
Teor de Fenol Total (mg EAG/g de extrato)	287,7	266,6	215,9	210,9
Flavonoides (mg catequina/ g de extrato)	98,0	92,6	119,7	128,5
Taninos (mg catequina/ g de extrato)	183,8	157,5	76,5	128,7
Capacidade antioxidante CAET (mg Trolox/g de extrato)	308,8	286,9	277,3	279,2
Capacidade antioxidante CAET (mg Trolox/g de casca)	35,5	42,2	34,4	38,9
Valor IC <sub>50</sub> (µg extrato/mL)	10,0	11,2	10,2	11,2
IC <sub>50</sub> Trolox em etanol-água (µgTrolox/mL)	2,90			

O rendimento médio da extração foi de 13,18%, o que foi um pouco inferior ao conteúdo dos produtos extratáveis polares, determinado por extração sequencial nos solventes etanol e água (14,87%, Tabela 2). A natureza polifenólica do extrato é mostrada pelos elevados teores de compostos fenólicos, flavonoides e taninos (Tabela 5). Os fenóis totais variaram de 210,9 mg EAG/g de extrato (Clone D - *E. urophylla* x *E. camaldulensis*) a 287,7 mg EAG/g de extrato (Clone A – híbrido de *E. urophylla*), taninos a partir de 76,5 mg CE/g de extrato (Clone C) a 183,8 mg CE/g de extrato (Clone A) e flavonoides de 92,6 mg CE/g de extrato (Clone B) a 128,5 mg CE/g de extrato (Clone D).

Esses valores são semelhantes quando comparados com aqueles encontrados na literatura para o teor de compostos fenólicos totais presentes em extratos de cascas de espécies de *Eucalyptus*. Santos et al. (2012), em extratos de metanol:água de cascas de *E. grandis*, *E. urograndis* e *E. maidenii* encontraram valores de 385,6; 346,7 e 203,9 e mg de EAG/g de extrato, respectivamente (40,6, 56,9 e 27,0 mg EAG/g de casca). Santos et al. (2011) relataram o conteúdo de fenóis totais em extratos de água, metanol e metanol:água de cascas

de *E. globulus*, como 115,3, 409,7 e 413,8 mg de EAG/g de extrato, respectivamente. Vázquez et al. (2008) relataram para cascas de *E. globulus* extraídas com etanol:água e metanol:água, ambos 50:50 (v/v), rendimentos de 223 mg EAG/g de extrato e 201 mg EAG/g de extrato, respectivamente, e Luís et al. (2014) em extrato etanol: água (75:25) de cascas de *E. globulus* encontraram rendimento de 253,1 mg EAG/g de extrato. Puttaswamy et al. (2014) relataram para extratos de metanol:água de cascas de *E. tereticornis* rendimento na ordem de 198 mg EAG/g de extrato.

A concentração de flavonoides totais também foi maior do que os valores encontrados na literatura. Luís et al. (2014) relataram em extratos etanólicos de cascas de *E. globulus* concentração de 8,8 mg equivalente quercetina/g de extrato, já em extratos de etanol:água 75:25 (v/v) os autores verificaram concentração de 12,1 mg equivalente quercetina/g de extrato. Puttaswamy et al. (2014) encontraram para cascas de *E. tereticornis* 160 µg de rutina/mg de extrato.

O teor de taninos nos extratos das cascas dos clones de *Eucalyptus* também foi muito alto (média de 136,6 mg de catequina/g de extrato), quando comparados com os valores encontrados na literatura para extratos de cascas de espécies de *Eucalyptus*, como 40,0 mg EAG/g de extrato em etanol:água (75:25) em cascas de *E. globulus* (LUÍS et al., 2014), e 103 µg de ácido tânico/mg de extrato metanol:água em cascas de *E. tereticornis* (PUTTASWAMY et al., 2014).

A atividade de eliminação de radicais livres dos extratos das cascas dos clones de *Eucalyptus* foi expressa em termos da quantidade de extrato necessária para reduzir em 50% a concentração de DPPH (IC50) e também em termos de equivalentes de Trolox (TEAC) em uma base de extrato seco (Trolox mg/mg de extrato). Os resultados mostram que o extrato de etanol:água das cascas dos quatro clones estudados possuem uma fraca atividade de eliminação de radicais livres com um valor de IC50 médio de 10,6 µg/ml, em comparação com Trolox

(IC50 de 2,9 µg/ml) que é usado como padrão. No entanto, essa atividade antioxidante foi semelhante à relatada na literatura para extratos metanol:água de cascas de *E. grandis*, *E. urograndis* e *E. maidenii* em que os valores de IC50 foram, respectivamente, 6,3 µg/mL, 6,1 µg/mL e 8,2 µg/mL em comparação com 2,2 µg/mL para o ácido ascórbico e 18,2 µg/mL para o BHT (3,5-di-terc-4-butil-hidroxitolueno) (SANTOS et al., 2012). Luís et al. (2014) determinaram a atividade de eliminação do extrato em etanol de cascas de *E. globulus* que mostra a atividade antioxidante comparativamente maior com um valor de IC50 de 11,3 (mg/L em comparação com 2,2 mg/L para o ácido gálico e 4,3 mg/L para a quercetina).

A atividade antioxidante, expressa em mg de Trolox/g de casca (37,8 mg Trolox/g de casca de árvore, correspondendo a 288,1 mg Trolox/g extrato) mostra também valores similares aos relatados para *E. grandis*, *E. urograndis* e *E. maidenii* expressos em termos de equivalentes de ácido ascórbico (AAE) em uma base de casca, respectivamente de 36,7, 53,2 e 34,5 mg AAE/g de casca (SANTOS et al., 2012).

#### 4 CONCLUSÃO

As cascas provenientes dos quatro híbridos de *E. urophylla* foram quimicamente semelhantes e caracterizam-se por um elevado teor de celulose, e comparativamente baixa proporção de hemiceluloses e lignina. A proporção de extrativos foi elevada, com uma quantidade considerável de compostos polares com propriedades antioxidantes, nomeadamente flavonoides e taninos. Os extrativos lipofílicos predominam os ácidos triterpênicos, nomeadamente ácido ursólico e betulínico.

As cascas desses híbridos de *E. urophylla*, portanto, podem ser consideradas como uma matéria-prima para biorrefinarias, incluindo a valorização dos extrativos com base em suas funcionalidades químicas e bioatividade.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, M. C. N. et al. Análise química da madeira e casca de diferentes tipos de eucalipto antes e durante o cultivo de shiitake em toras. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 34, n. 1, p. 165-175, 2010.
- BRAGATTO, J. **Avaliação do potencial da casca de Eucalyptus spp. para a produção de bioetanol**. 2010. 154 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2010.
- CADAHÍA, E. et al. Tannin composition of *Eucalyptus camaldulensis*, *E. globulus* and *E. rudis*. Part II. Bark. **Holzforchung**, Berlin, v. 51, p. 125-129, 1997.
- CONDE, E. et al. Low molecular weight polyphenols in wood and bark of *Eucalyptus globulus*. **Wood and Fiber Science**, Madison, v. 27, p. 379-383, 1995.
- CONDE, E. et al. Polyphenolic composition of bark extracts from *Eucalyptus camaldulensis*, *E. globulus* and *E. rudis*. **Holz Roh**, Werkst, v. 54, p. 175-181, 1996.
- DOMINGUES, R. M. A. et al. Eucalyptus biomass residues from agro-forest and pulping industries as sources of high-value triterpenic compounds. **Cellulose Chemistry and Technology**, Bucharest, v. 45, n. 7/8, p. 475-481, 2011a.
- DOMINGUES, R. M. A. et al. High value triterpenic compounds from the outer barks of several Eucalyptus species cultivated in Brazil and in Portugal. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 33, n. 1, p. 158-164, 2011b.
- EGLINTON, G.; HUNNEMAN, D. Gas chromatographic mass spectrometric studies of long chain hydroxy acids: the constituent cutin acids of apple cuticle. **Phytochemistry**, Oxford, v. 7, p. 313-322, 1968.

FECHTAL, P. M.; RIEDL, B. Analyse des extraits tannants des écorces des eucalyptus après hydrolyse acide par la chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse (GC-MS). **Holzforchung**, Berlin, v. 45, p. 269-273, 1991.

FOELKEL, C. **Casca da árvore de eucalipto**. 2005. Disponível em: <<http://www.eucalyptus.com.br>>. Acesso em: 23 ago. 2015.

FREIRE, C. S. R. et al. Lipophilic extractives of the inner and outer barks of *Eucalyptus globulus*. **Holzforchung**, Berlin, v. 56, p. 372-379, 2002.

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. **Anuário estatístico da indústria brasileira de árvores**: ano base 2012. Brasília, DF, 2015. 77 p.

KOLATTUKUDY, P.; AGRAWAL, V. Structure and composition of aliphatic constituents of potato tuber skin (suberin). **Lipids**, Champaign, v. 9, p. 682-691, 1974.

KROGELL, J. et al. Extraction and chemical characterization of Norway spruce inner and outer bark. **Nordic Pulp and Paper Research Journal**, Sundsvall, v. 27, p. 6–17, 2012.

LI, J.; XU, H. Bioactive compounds from the bark of *Eucalyptus exserta* F. Muell. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 40, p. 302– 306, 2012.

LIMA, M. A. et al. Effects of pretreatment on morphology, chemical composition and enzymatic digestibility of eucalyptus bark: a potentially valuable source of fermentable sugars for biofuel production – part 1. **Biotechnology for Biofuels**, London, v. 6, p. 75, 2013.

LUÍS, A. et al. Stumps of *Eucalyptus globulus* as a source of antioxidant and antimicrobial polyphenols. **Molecules**, Washington, v. 19, p. 16428-16446, 2014.

MIRANDA, I. et al. Fractioning and chemical characterization of barks of *Betula pendula* and *Eucalyptus globulus*. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 41, p. 299–305, 2013.

MONTAGU, K. D.; KEARNEY, D. E.; SMITH, R. G. B. The biology and silviculture of pruning planted eucalypts for clear wood production: a review. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 179, n. 1, p. 1-13, 2003.

MORI, E. S.; KAGEYAMA, P. Y.; FERREIRA, M. Variação genética e interação progênies x locais em *Eucalyptus urophylla*. **IPEF**, Piracicaba, n. 39, p. 53-63, ago. 1988.

MOTA, M. I. F.; *Eucalyptus globulus* bark as A source of polyphenolic compounds with biological activity. **O Papel**, São Paulo, v. 74, n. 1, p. 57-64, 2013.

NASCIMENTO, J. C. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonóides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L. **Revista Brasileira de Farmacologia**, São Paulo, v. 92, n. 4, p. 327-332, 2011.

NEIVA, D.; GOMINHO, J.; PEREIRA, H.; Modelling and optimization of *Eucalyptus globulus* bark and wood delignification using response surface methodology. **BioResources**, New York, v. 9, p. 2907-2921, 2014.

PALUDZYSZYN FILHO, E.; SANTOS, P. E. T. **Programa de melhoramento genético de eucalipto da Embrapa florestas**: resultados e perspectivas. Colombo: Embrapa Florestas, 2011.66 p.

PATINHA, D. J. S. et al. Lipophilic extractives from the bark of *Eucalyptus grandis* x *E. globulus*, a rich source of methyl morolate: Selective extraction with supercritical CO<sub>2</sub>. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 43, p. 340-348, 2013.

PEREIRA, H. Variability in the chemical composition of plantation eucalypts (*Eucalyptus globulus* Labill.). **Wood and Fiber Science**, Madison, v. 20, p. 82-90, 1988.

PUTTASWAMY, N. Y. et al. Phytochemical composition and in vitro anti-hyperglycemic potency of *Eucalyptus tereticornis* bark. **Indian Journal of Nutrition**, Coimbatore, v. 1, p. 102-107, 2014.

QUILHÓ, T.; PEREIRA, H.; RICHTER, H. Variability of bark structure in plantation-grown *Eucalyptus globulus*. **IAWA Journal**, Utrecht, v.20, p. 171-180, 1999.

QUILHÓ, T.; PEREIRA, H.; RICHTER, H. Within-tree variation in phloem cell dimensions and proportions in *Eucalyptus globulus*. **IAWA Journal**, Utrecht, v. 21, p. 31-40, 2000.

SANTOS, M. H. et al. Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). **Quimica Nova**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 604-610, 2007.

SANTOS, S. A. O. et al. Characterization of phenolic components in polar extracts of *Eucalyptus globulus* Labill. bark by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 59, p. 9386-9393, 2011.

SANTOS, S. A. O. et al. Phenolic composition and antioxidant activity of *Eucalyptus grandis*, *E. urograndis* (*E. grandis*×*E. urophylla*) and *E. maidenii* bark extracts. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 39, p. 120-127, 2012.

SCHWARS, K. et al. Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 212, p. 319-328, 2001.

SENELWA, K.; SIMS, E. E. H. Fuel characteristics of short rotation forest biomass. **Biomass and Bioenerg**, Cambridge, v. 17, p. 127-140, 1999.

SOUSA, C. M. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

VÁZQUEZ, G. et al. Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 28, p. 279–285, 2008.

VÁZQUEZ, G. et al. Evaluation of potential applications for chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 29, p. 364–370, 2009.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2009. 272 p.

## **CAPÍTULO 4**

**Estudos de taninos das cascas de clones de *Eucalyptus***

## RESUMO

Os extrativos de composição fenólica são produzidos pelos vegetais em condições adversas como mecanismo de proteção, são encontrados em grandes quantidades nas cascas dos vegetais e constituem matéria-prima para diferentes setores industriais. O objetivo neste trabalho foi a realização de análises químicas dos compostos fenólicos presentes nas cascas residuais de dois clones comerciais híbridos de *E. urophylla*. Para isso, foi determinado o rendimento em fenóis totais, taninos, flavonoides e capacidade antioxidante dos extratos etanol:água das cascas de um clone híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis* e um híbrido de *E. urophylla*. Foi também determinado o rendimento gravimétrico, mediante reação de Stiasny. A extração dos taninos foi realizada em água pura e com o emprego de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ . Os taninos sofreram modificações químicas de hidrólise ácida, com controle de pH em 4 e 2 e taninos modificados e não modificados foram analisados por FTIR. Os resultados mostram que os clones estudados possuem maiores rendimentos em taninos e flavonoides e maior capacidade antioxidante quando comparados com outras espécies de *Eucalyptus* na literatura, o que aponta como promissor para utilização em fármacos e cosméticos. Não foram verificadas diferenças brutas nos espectros de infravermelho entre os clones e os valores de pH, tais diferenças foram verificadas somente com relação à extração em água pura e com emprego de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ .

Palavras-chave: Compostos fenólicos. Compostos bioativos. Resíduos.

## ABSTRACT

The phenolic composition extractives are produced by plants in adverse conditions as a protection mechanism. They are found in large scale in the barks of vegetables and are the feedstock for different industries. The objective of this study was the chemical analysis of phenolic compounds present in the waste barks of two commercial hybrid clones of *E. urophylla*. For this, it was determined the yield of total phenols, tannins, flavonoids and antioxidant capacity of ethanol: water extracted from the bark of a hybrid clone of *E. urophylla* x *E. camaldulensis* and *E. urophylla* hybrid. It was also determined the gravimetric yield by Stiasny reaction. The extraction of tannins was performed in pure water and using  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ . Tannins had undergone chemical modifications of the acid hydrolysis with pH control in 4 and 2, and modified tannins and unmodified were analyzed by FTIR. The results show that the clones have higher yields in tannins and flavonoids and antioxidant capacity when compared with other species of *Eucalyptus* in the literature, which indicates how promising for use in pharmaceuticals and cosmetics. Differences were not observed in the infrared spectrums between the clones and pH values. Such differences were found only related to pure water extraction and with the use of  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ .

Keywords: Phenolic compounds. Bioactive compounds. Waste.

## 1 INTRODUÇÃO

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução, além disso, se formam em condições de estresse, como, infecções, ferimentos, radiação ultravioleta, entre outros (NACZK; SHAHIDI, 2004). Sendo assim, nos vegetais, eles são encontrados em maiores concentrações nas cascas, órgão de defesa dos vegetais.

Os fenóis vegetais constituem um grupo quimicamente heterogêneo, com aproximadamente 10.000 compostos (TAIZ; ZEIGER, 2004). Entre eles, destacam-se os flavonoides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos e ligninas. Esses compostos fenólicos possuem estrutura variável e com isso, são multifuncionais (SHAHIDI; NACZK, 1995).

Os taninos vegetais, devido à sua capacidade de reação com formaldeído, vêm sendo empregados como matéria-prima na fabricação de adesivos naturais para madeira e que segundo Carneiro et al. (2010), o interesse pelos adesivos naturais aumentou após a crise do petróleo na década de 1970. Segundo os autores, a partir dessa década, várias pesquisas foram desenvolvidas com o objetivo de substituir, parcial ou totalmente, os adesivos comerciais convencionais, tais como ureia-formaldeído e fenol-formaldeído.

Além da utilização na produção de adesivos, os taninos são utilizados desde a antiguidade no curtimento de peles devido à sua capacidade de formar complexos com a proteína, também são utilizados no tratamento de água potável, pois atua como coagulante/floculante, na indústria farmacêutica e de cosméticos, pois atua como antioxidante; e na indústria de bebidas como sabor adstringente (PIZZI, 1994).

Estudos de rendimento em taninos e das propriedades de adesivos de taninos das cascas de *Eucalyptus* são muitos, porém relativos às espécies e não a

clones comerciais. Já com o emprego de cascas de clones, que se trata do material utilizado pelas indústrias de carvão vegetal e celulose, esses trabalhos são escassos. Visando ao aproveitamento dos resíduos gerados pelas indústrias de transformação da madeira, a utilização das cascas para a extração de compostos bioativos é uma alternativa viável, tendo em vista a grande quantidade de cascas de *Eucalyptus* que é gerada anualmente por essas indústrias.

A técnica de Espectroscopia de infravermelho Transformada de Fourier (FT-IR) consiste em quantificar a absorção na região do infravermelho médio do espectro electromagnético, usualmente no intervalo  $400-4000\text{ cm}^{-1}$ , de moléculas que contêm ligações químicas específicas, tais como C dupla C, C-H, C dupla O, N-H e O-H (SILVERSTEIN et al., 1981). Espectroscopia FTIR é aplicada em taninos, como em estudos realizados por Fernández e Agostin (2007), com taninos de vinho, Chupin et al. (2013), com taninos de *Pinus pinaster*; Foo (1981), com proantocianidinas; Borges (2004), com adesivos naturais de taninos; Ping et al. (2012), com resíduos de bagaço de uva; Lima et al. (2006), com taninos dos frutos de *Bixa orellana* L. e Saad et al. (2014), com taninos de *Pinus halepensis* Mill. visando à produção de adesivos naturais.

Diante disso, o objetivo neste trabalho foi a quantificação de fenóis totais, taninos, flavonoides, capacidade antioxidante dos extratos e o rendimento gravimétrico em taninos condensados nas cascas de dois clones comerciais de *Eucalyptus*, bem como a caracterização dos taninos por FT-IR.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Descrição do material, local de coleta e preparo das amostras

Foram utilizadas cascas de dois clones comerciais de *Eucalyptus* provenientes de uma empresa de carvão vegetal, associada à Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas (ABRAF), localizada no município de Paraopeba, estado de Minas Gerais, Brasil, com coordenadas 19° 16' 54'' de latitude sul e 44° 24' 32'' de longitude oeste. O clone 1 é um híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis* e o clone 2 híbrido de *E. urophylla*. Os indivíduos coletados possuíam sete anos.

As cascas, após coletadas, foram secas ao ar livre e moídas em moinho de martelo com uma peneira de abertura de 1 mm<sup>2</sup>. Para as análises do conteúdo fenólico nos extratos, as amostras foram peneiradas em 40 e 60 mesh. As amostras foram armazenadas em sacos plásticos escuros para proteção da luz e posteriormente foi determinada a umidade.

As extrações dos taninos foram feitas no Laboratório de Anatomia da Madeira, da Universidade Federal de Lavras/ Lavras-MG. As análises químicas, dos compostos fenólicos e taninos, foram realizadas no Laboratório de Anatomia do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa, Portugal.

### 2.2 Conteúdo fenólico no extrato da casca

Aproximadamente 1 g de amostra de casca foi extraída com etanol/água (50/50, v/v) com uma razão sólido-líquido 1:10 (m/v) durante 60 min a 50 °C utilizando um banho de ultrassons. Os materiais insolúveis foram removidos por filtração e o extrato de sobrenadante foi armazenado a 4 °C. O resíduo sólido foi seco e o rendimento de extração foi calculado em percentagem com relação à

massa inicial de material. Fenóis totais, flavonoides e taninos, e atividade antioxidante foram determinadas no extrato hidroalcolico.

O teor de fenóis totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu. Para isso, misturou-se 100  $\mu\text{L}$  de extrato com 4 mL de reagente Folin-Ciocalteu e após 6 minutos adicionou 4 mL de solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a 7%. A mistura foi levada em banho de termostatizado por 15 minutos a 45 °C e após, feita a medida da absorbância a 760 nm. A curva de calibração foi preparada utilizando ácido gálico como um padrão (0-150 mg/mL). O teor de fenol total foi expresso em miligramas de equivalentes de ácido gálico (GAE)/100 g do extrato da casca seca.

Já o conteúdo de flavonoides foi determinado por um ensaio colorimétrico com cloreto de alumínio. Uma alíquota de 1,0 mL do extrato foi misturada com 4,0 mL de água deionizada, seguido por 0,3 mL de uma solução de  $\text{NaNO}_2$  a 5%. Após 5 minutos, adicionaram-se 0,3 mL de uma solução de  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  10%. Após mais 5 minutos adicionaram-se 2,0 mL de solução de  $\text{NaOH}$  1 mol  $\text{L}^{-1}$ , e o volume total foi ajustado para 10,0 mL com água deionizada. A absorbância foi medida a 510 nm, e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de (+)-catequina (CE)/100 g do extrato da casca seca.

O teor de taninos foi obtido pelo método de vanilina- $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Uma alíquota de 1,0 mL do extrato foi misturada com 2,5 mL de solução de vanilina em metanol a 1,0% (m/v) e depois com 2,5 mL de solução de ácido sulfúrico em metanol absoluto a 25% (v/v) para a reação com os polifenóis presentes no extrato e a vanilina. Após 15 minutos, as absorbâncias foram medidas a 500 nm, e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de (+)-catequina (CE)/100 g de extrato de casca seca.

### 2.3 Atividade antioxidante do extrato da casca

A atividade antioxidante dos extratos foi determinada utilizando-se 2,2-difenil-1-picril-hidrazina (DPPH) e expressa em termos da quantidade de extrato requerido para reduzir de 50% a concentração de DPPH (IC50) e de equivalentes de Trolox (TEAC) sobre uma base de extrato seco (mg Trolox/mg extrato seco). Em primeiro lugar, diferentes diluições do extrato inicial e do Trolox (0,2 mg mL<sup>-1</sup>) em metanol foram preparados. Alíquotas de 100 µL de cada solução metanólica do extrato e de Trolox foram adicionadas a 3,9 mL de uma solução metanólica de DPPH (24 µg mL<sup>-1</sup>). A amostra em branco consistiu em 100 µL de metanol adicionados a 3,9 mL de solução de DPPH. Após uma incubação de 30 minutos no escuro e à temperatura ambiente, foi medida a absorbância a 515 nm.

A atividade de eliminação de radicais de cada amostra foi calculada pelo percentual de inibição de DPPH como se segue:  $I\% = [(Abs0 - ABS1) / Abs0] \times 100$ , em que a absorbância Abs0 corresponde ao branco e ABS1 a absorbância na presença do extrato em diferentes concentrações.

A concentração de inibição de IC50, que representa a concentração de uma amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais DPPH, foi obtida através da representação gráfica da percentagem de inibição *versus* a concentração do extrato.

O efeito de eliminação do radical DPPH do extrato também foi expresso como capacidade antioxidante equivalente Trolox (TEAC) calculado a partir da curva de calibração com solução de Trolox e a percentagem de efeito de eliminação na DPPH radical como:

$TEAC \text{ (mg Trolox equivalente/extrato mg ou casca)} = [(\% \text{ inhibitionsample} + n) / sxm]$ , em que n e s representam a interceptação e a inclinação da curva de calibração Trolox para DPPH e m é a quantidade de amostra em base seca (mg).

## **2.4 Rendimento gravimétrico em taninos condensados**

A extração dos taninos foi realizada com uma relação licor/casca de 15/1, em que foram levados em banho-maria a 70 °C por três horas. Para cada material genético a extração foi realizada em água pura e com emprego de sulfito de sódio a 5%, com relação à massa seca da casca. Após a extração, o material foi filtrado em uma flanela com malha de cerca de 1,0 mm<sup>2</sup> e em seguida filtrado a vácuo em funil de vidro sinterizado de porosidade nº 1.

Os extratos, após filtrados, foram concentrados por evaporação em chapa de aquecimento até um volume de aproximadamente 150 mL. Foram determinadas as massas dos extratos e retiradas duas amostras de 10 g para a determinação do teor de sólidos e duas amostras de 20 g para determinação do índice de Stiasny. A reação de Stiasny consiste na reação dos taninos com o formaldeído em meio ácido. O Índice de Stiasny foi determinado empregando-se o procedimento adotado por Mori (2000).

## **2.5 Obtenção dos taninos em pó**

Após extração em banho-maria e filtração em peneira de malha e em cadinho sinterizado, os extratos foram distribuídos em bandejas de vidro e levados à estufa à uma temperatura de 40 °C até secagem total. Em seguida, foram moídos até uma granulometria de 200 mesh.

## **2.6 Modificação química dos taninos**

Os taninos em pó foram solubilizados em água (1 parte de taninos: 1,5 de água) com 3% de sulfito de sódio, com relação à massa seca de taninos e hidrolisados com ácido clorídrico concentrado. O controle da extensão da

hidrólise foi feito, ajustando-se o pH dos taninos em 4 e 2. O tempo de reação foi de 30 minutos.

O delineamento dos tratamentos está representados na Tabela 1.

**Tabela 1** Delineamento das modificações químicas dos taninos

Tratamentos	Clones	Condições
1	1	Extração com 5% de sulfito de sódio
2		Extração em água pura
3		Extração com 5% de sulfito de sódio, hidrólise em pH 4
4		Extração com 5% de sulfito de sódio, hidrólise em pH 2
5		Extração em água pura, com hidrólise em pH 4
6		Extração em água pura, com hidrólise em pH 2
7	2	Extração com 5% de sulfito de sódio
8		Extração em água pura
9		Extração com 5% de sulfito de sódio, hidrólise em pH 4
10		Extração com 5% de sulfito de sódio, hidrólise em pH 2
11		Extração em água pura, com hidrólise em pH 4
12		Extração em água pura, com hidrólise em pH 2

## 2.7 Análises dos taninos utilizando a técnica de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram realizados para verificar diferenças entre os tratamentos. Para isso, os taninos foram secos em estufa a vácuo a 40 °C e triturados em moinho vibratório do tipo bola, juntamente ao brometo de potássio. Para que ocorresse uma mistura mais uniforme, foram triturados em moinho de bola 400 mg de brometo de potássio com 3 mg de cada amostra, sendo utilizadas para a confecção das pastilhas 200 mg da mistura. Os espectros FTIR foram obtidos em aparelho BioRad FTS 156, com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ , equipado com um detector DTGS, conforme técnicas espectrométricas descritas por Rodrigues, Faix e Pereira (1998).

A espectroscopia de absorção no infravermelho tem como finalidade determinar grupos funcionais de um composto químico que absorve em diferentes frequências de radiação no IV. Esses grupos de átomos originam bandas, que são informações necessárias para identificar a substância em análise (CIENFUEGOS; VAITSMAN; 2000).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios de rendimento da extração, conteúdo de fenóis totais, taninos e flavonoides e de capacidade antioxidante dos extratos etanólicos (50% v/v) das cascas dos dois clones estudados estão representados na Tabela 2.

**Tabela 2** Valores médios de rendimento em extração, fenóis, taninos, flavonoides e capacidade antioxidante dos extratos das cascas dos dois clones comerciais de *Eucalyptus*

	1	2
Rendimento extração (%)	11,75	7,15
Conteúdo de Fenol Total (mg EAG/g de extrato)	360,51	401,21
Flavonoides (mg catequina/g de extrato)	203,98	152,77
Taninos (mg catequina/g de extrato)	74,25	61,21
Capacidade antioxidante TEAC (mg Trolox/g de extrato)	511,05	659,87
Capacidade antioxidante TEAC (mg Trolox/g de casca)	59,92	47,19
Valor IC <sub>50</sub> (µg extrato/ mL)	5,87	4,89
Valor IC <sub>50</sub> Trolox em etanol-água (µg Trolox/mL)	2,63	2,63

O rendimento médio da extração foi de 11,75 e 7,15%, o que está relacionado com os extrativos polares solúveis em etanol/água, como por exemplo, os extrativos de composição fenólica como os taninos, flavonoides, fenóis simples. Fenóis totais variaram de 360,51 e 401,21 mg EAG/g de extrato, taninos de 74,25 e 61,21 mg EC/g de extrato e flavonoides de 203,98 e 152,77 mg EC/g de extrato.

Esses valores são semelhantes quando comparados com aqueles encontrados na literatura para o teor de compostos fenólicos totais presentes em extratos de cascas de espécies de *Eucalyptus*. Santos et al. (2012), em extratos de metanol:água (1:1 v/v) de cascas de *E. grandis*, *E. urograndis* e *E. maidenii* encontraram para fenóis totais valores de 385,6; 346,7 e 203,9 mg de EAG/g de

extrato, respectivamente (40,6, 56,9 e 27,0 mg EAG/g de casca). Santos et al. (2011) relataram o conteúdo de fenóis totais em extratos de água, metanol e metanol:água de cascas de *E. globulus*, como 115,3, 409,7 e 413,8 mg de EAG/g de extrato, respectivamente. Vázquez et al. (2008) relataram para cascas de *E. globulus* extraídas com etanol:água e metanol:água, ambos 50:50 (v/v), rendimentos de 223 mg EAG/g de extrato e 201 mg EAG/g de extrato, respectivamente, e Luís et al. (2014) em extrato etanol: água (75:25 v/v) de cascas de *E. globulus* encontraram rendimento de 253,1 mg EAG/g de extrato. Puttaswamy et al. (2014) relataram para extratos de metanol:água de cascas de *E. tereticornis* rendimento na ordem de 198 mg EAG/g de extrato, valores esses referenciados menores do que o encontrado neste estudo para os dois clones.

A concentração de flavonoides foi bastante superior aos valores encontrados na literatura. Luís et al. (2014) relataram em extratos etanólicos de cascas de *E. globulus* concentração de 8,8 mg equivalente quercetina/g de extrato, já em extratos de etanol:água 75:25 (v/v) os autores verificaram concentração de 12,1 mg equivalente quercetina/g de extrato. Puttaswamy et al. (2014) encontraram para cascas de *E. tereticornis* 160 µg de rutina/mg de extrato.

O teor de taninos nos extratos das cascas dos clones de *Eucalyptus* também foi superior quando comparado aos valores encontrados na literatura para extratos de cascas de espécies de *Eucalyptus*, como 40,0 mg EAG/g de extrato em etanol:água (75:25) em cascas de *E. globulus* (LUÍS et al., 2014), e 103 µg de ácido tânico/mg de extrato metanol:água em cascas de *E. tereticornis* (PUTTASWAMY et al., 2014).

Os resultados mostram que o extrato de etanol:água possui uma fraca atividade de eliminação de radicais livres com um valor de IC50 médio de 5,87 e 4,89 µg ml<sup>-1</sup>, em comparação com Trolox (IC50 de 2,63 µg ml<sup>-1</sup>) que é usado como padrão. No entanto, essa atividade antioxidante foi semelhante à relatada na literatura para extratos metanol:água de cascas de *E. grandis*, *E. urograndis* e

*E. maidenii* em que os valores de IC50 foram, respectivamente, 6,3  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , 6,1  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e 8,2  $\mu\text{g mL}^{-1}$  em comparação com 2,2  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para o ácido ascórbico (SANTOS et al., 2012). Luís et al. (2014) determinaram a atividade de eliminação do extrato em etanol de cascas de *E. globulus* que mostra a atividade antioxidante comparativamente maior com um valor de IC50 de 11,3 ( $\text{mg L}^{-1}$  em comparação com 2,2  $\text{mg L}^{-1}$  para o ácido gálico e 4,3  $\text{mg/L}$  para a quercetina).

A atividade antioxidante, expressa em mg de Trolox/g de casca (59,92 e 47,19 mg Trolox/g de casca de árvore, correspondendo a 511,05 e 659,87 mg Trolox/g extrato) mostra semelhança aos relatados para *E. grandis*, *E. urograndis* e *E. maidenii* expressos em termos de equivalentes de ácido ascórbico (EAA) em uma base de casca, respectivamente de 36,7, 53,2 e 34,5 mg AAE/g de casca (SANTOS et al., 2012). Com relação ao rendimento gravimétrico em taninos condensados, os resultados obtidos para os dois clones comerciais estão representados na Tabela 3.

**Tabela 3** Valores médios de rendimento gravimétrico em taninos condensado (TTC%), Teor de sólidos totais (TST%), Índice de Stiasny (IS%) e Teor de compostos não tânico (TNT%)

Tratamentos de extração	TST (%)	IS (%)	TTC (%)	TNT (%)
Clone 1 Água pura	4,97	43,41	3,45	4,50
Clone 1 5% de sulfito de sódio	7,61	44,79	5,81	7,17
Clone 2 Água pura	3,94	20,13	1,18	4,69
Clone 2 5% de sulfito de sódio	4,99	27,47	2,02	5,34

Nota-se que ao empregar o sulfito de sódio, obteve-se aumento no rendimento em teor de sólidos de 53 e 27%, 3 e 36% de aumento para o Índice de Stiasny, 68 e 71% de aumento no rendimento em taninos condensados e de 59 e 14% de aumento no rendimento em compostos não tânico para os clones 1 e 2, respectivamente.

O clone 1 possui maiores rendimentos de extração em taninos condensados, sólidos totais e Índice de Stiasny, o que pode também ser confirmado pelos maiores rendimentos em extração e em flavonoides e taninos, como visto na Tabela 2.

Mori et al. (1999), estudaram taninos de *Eucalyptus grandis*, para a produção de adesivos e confecções de painéis compensados. Nesse trabalho, os autores verificaram que extração realizada com 2% de sulfito de sódio resultou em maiores rendimentos em taninos e em compostos não tânicos (8,3% e 5,15 respectivamente), o maior Índice de Stiasny (69,7%) foi encontrado com a extração feita em água.

Para *Eucalyptus urophylla*, Mori et al. (2001), ao empregarem 3% de sulfito de sódio à uma temperatura de extração de 70 °C, encontraram rendimento em taninos de 14,07%, rendimento em substâncias não tânicas de 1,72% e Índice de Stiasny de 89,09%. A espécie apresentou um baixo rendimento em compostos não tânicos, o que é vantajoso para a síntese de adesivos naturais.

Carneiro (2002) encontrou para cascas de *Eucalyptus grandis* maior rendimento em taninos com extração a 70 °C, com o emprego de 4,5% de sulfito de sódio, que foi de 18,6% e para *Eucalyptus pellita* 4,5% de sulfito de sódio a 100 °C, que foi de 11,38%. Já os maiores Índices de Stiasny, foi obtido com o emprego de água a 70 °C para *E. grandis*, de 73,2%, e para *E. pellita* com o emprego de água a 100 °C, que foi de 73,01%. Vital et al. (2004), também encontraram para essas espécies um maior rendimento em taninos com o emprego de 4,5% de sulfito de sódio na extração, que foi de 10,67% para *E. pellita* (100 °C) e 17,2% para *E. grandis* (70 °C). Os autores salientaram a potencialidade de uso desses adesivos para a indústria de painéis, para aplicação em interiores, em que a resistência à umidade não é exigida.

Vázquez et al. (2009), testaram diferentes tipos e concentrações de sais de extração, e encontraram baixos valores de Índice de Stiasny para taninos das cascas de *Eucalyptus globulus*. Maiores rendimentos foram encontrados com o emprego de água pura, seguido de 2,5% de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> e 2,5% de NaOH, todos a 90 °C, com índices de 37,6%, 35,5% e 23,5%, respectivamente.

Para as espécies *E. citriodora*, *E. pellita* e *E. grandis* x *E. urophylla*, Silva (2001) encontrou maior rendimento em taninos com o emprego de 9% de sulfito de sódio, que foi de 18,19%, 12,99% e 13%, respectivamente.

### **3.1 Espectro na região de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)**

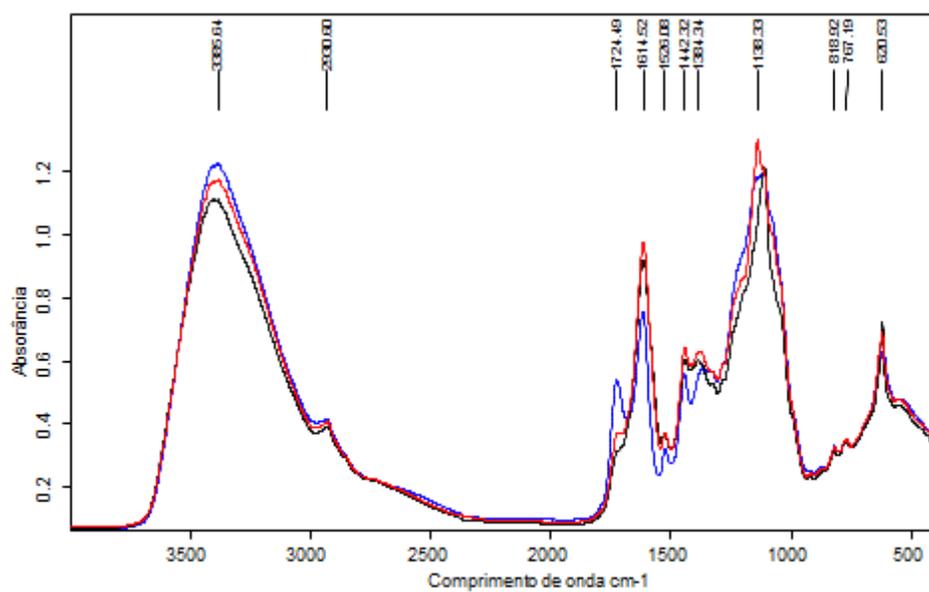
Ligações covalentes presentes em moléculas vibram constantemente e essa vibração ocorre em movimentos axiais e angulares, em uma frequência particular que na incidência da radiação são absorvidas pela molécula (BRUICE, 2006).

A Tabela 4 representa as principais bandas dos taninos, segundo Fernández e Agostin (2007), Ping et al. (2012) e Silverstein, Webster e Kiemle (2007).

**Tabela 4** Grupos funcionais e atribuições de frequência para os espectros de FTIR de taninos

Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuições
900 – 675	Deformação angular de C – H fora do plano de curvatura
950-1225	Deformação angular de C-H aromático no plano de curvatura
1066	Vibração de alongamento de C-O
1180 - 1260	Deformação axial de C – O
1390 – 1330	Deformação angular de O – H em fenóis
1439	CH deformação e vibração do anel aromático
1520 - 1540	Estiramento do anel aromático
1600 – 1585 e de 1500 – 1400	Vibrações do esqueleto do anel aromático para deformação axial das ligações C=C
1660-2000	Bandas de combinação aromáticas
1878	C=O vibração de alongamento
2973, 2931	-CH <sub>3</sub> , -CH <sub>2</sub> vibração de alongamento
3070-3130	Estiramento C-H aromático
3200-3400; 3200-3570	Deformação axial de O-H

A Figura 1 demonstra o espectro de FT-IR dos tratamentos 1, 3 e 4, extratos do clone 1 com emprego de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, e com modificação de pH em 4 e 2 e a Figura 2 demonstra nas mesmas condições para o clone 2, os tratamentos 7, 9 e 10. Nota-se para os clones, que a alteração no pH com hidrólise resultou em modificação no espectro, nas bandas de 1724, 1725, 1715 e 1718 cm<sup>-1</sup> (para os clones 1 e 2 com e sem sulfito na extração).

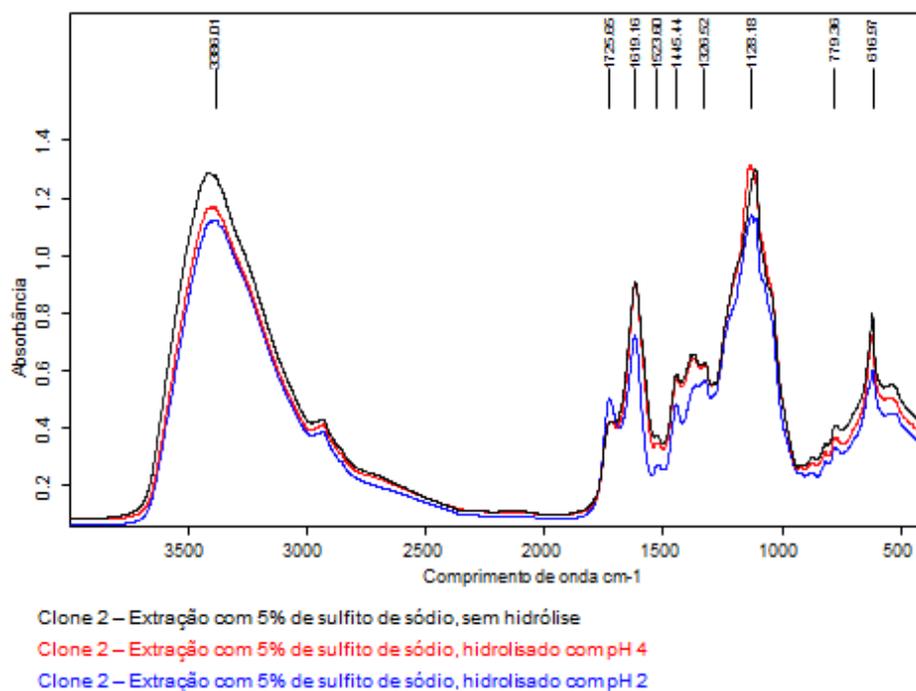
**Figura 1** Espectro FT-IR do clone 1 com emprego de sulfito de sódio

Clone 1 – Extração com 5% de sulfito de sódio, sem hidrólise

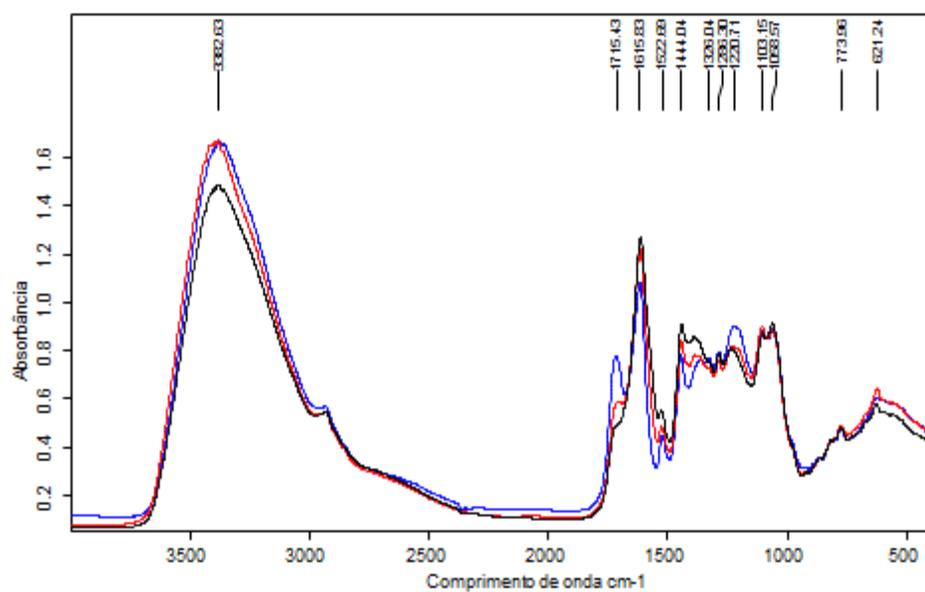
Clone 1 - Extração com 5% de sulfito de sódio, hidrolisado com pH 4

Clone 1 – Extração com 5% de sulfito de sódio, hidrolisado com pH 2

**Figura 2** Espectro FT-IR do clone 2 com emprego de sulfito de sódio



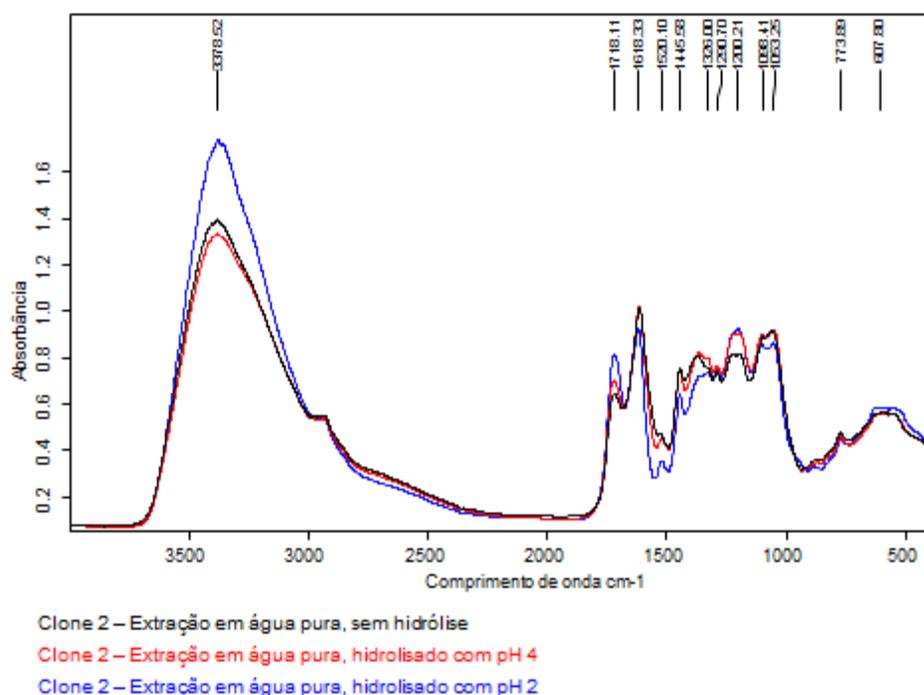
Na Figura 3 estão representados os espectros dos tratamentos 2, 5 e 6, correspondentes aos extratos de taninos do clone 1 em água pura, e com modificações de pH em 4 e 2 e na Figura 4, os tratamentos 8, 11 e 12, correspondente às mesmas condições para o clone 2. As zonas com maiores picos para o tratamento 6 (clone 1, água pura e pH2) foi em 1715 e 1220  $\text{cm}^{-1}$ , e de 1718  $\text{cm}^{-1}$  para o tratamento 12 (clone 2, água pura e pH2) e 1220  $\text{cm}^{-1}$  para os tratamentos 11 e 12.

**Figura 3** Espectro FT-IR do clone 1 em extração em água pura

Clone 1 – Extração em água pura, sem hidrólise

Clone 1 - Extração em água pura, hidrolisado com pH 4

Clone 1 - Extração em água pura, hidrolisado com pH 2

**Figura 4** Espectro FT-IR do clone 2 em extração em água pura

Os espectros dos taninos extraídos com emprego de sulfito de sódio possuem acentuadas bandas intensas em 3385, 1614, 1138 e 620  $\text{cm}^{-1}$  para o clone 1 (Figura 2) e de 3386, 1619, 1128 e 616  $\text{cm}^{-1}$  para o clone 2 (Figura 3). Já para os tratamentos extraídos em água pura, as bandas mais acentuadas foram verificadas em 3382 e 1615  $\text{cm}^{-1}$  para o clone 1 (Figura 4) e de 3378 e 1618  $\text{cm}^{-1}$  para o clone 2 (Figura 5).

Ping et al. (2012) encontraram deformações em 3318  $\text{cm}^{-1}$ , correspondentes a grupos -OH em taninos condensados do bagaço da uva. Os autores salientaram que essa banda larga de grupos OH é devida aos grupos fenólicos e açúcares. Para Chupin et al. (2013), essa mesma deformação foi identificada em 3300  $\text{cm}^{-1}$  para o *Pinus pinaster*, por Fernández e Agostim (2007), em taninos de vinho em 3400  $\text{cm}^{-1}$  e para todos os tratamentos desse

trabalho, em 3385 e 3382  $\text{cm}^{-1}$  para o clone 1 com e sem sulfito de sódio (Figuras 2 e 4) e de 3386 e 3378  $\text{cm}^{-1}$  para o clone 2 com e sem sulfito de sódio, respectivamente (Figuras 3 e 5). Segundo Borges (2004), deformações de 3200 – 3500  $\text{cm}^{-1}$  correspondem aos grupos hidroxila que estão ligados ao anel aromático.

Ping et al. (2012) encontraram uma pequena banda em 2973  $\text{cm}^{-1}$ , os quais atribuíram a vibração de alongamento C-H atribuído ao metil e a grupos metilênicos.

Sen et al. (2012), encontraram deformações em 3425  $\text{cm}^{-1}$ , em cortiça e cascas de *Quercus*, que segundo esses autores corresponde a vibrações de anéis aromáticos.

Nota-se que o aumento da hidrólise, ou seja, com a redução do pH, foi verificado aumento no pico nas bandas de 1724 e 1725  $\text{cm}^{-1}$  (clone 1 extraído com sulfito de sódio e extraído em água), 1715 e 1718  $\text{cm}^{-1}$  (clone 2 extraído com sulfito de sódio e extraído em água). Possivelmente a hidrólise resultou em aumento dos ácidos carboxílicos.

A região de 1600  $\text{cm}^{-1}$  apresenta uma banda estreita e de intensidade média que é normalmente destinada aos movimentos vibracionais das ligações C=C do anel aromático (1500 – 1615  $\text{cm}^{-1}$ ) (BORGES, 2004; FERNANDÉZ; AGOSTIM, 2007). Esse comportamento foi verificado em todos os tratamentos em 1614 e 1615  $\text{cm}^{-1}$  para o clone 1 com e sem sulfito de sódio (Figuras 2 e 4) e de 1619 e 1618  $\text{cm}^{-1}$  para o clone 2 com e sem sulfito de sódio, respectivamente (Figura 3 e 5).

Segundo Fernández e Agostim (2007), as ligações C=C também são encontradas em comprimentos de 1450 – 1510  $\text{cm}^{-1}$ . Foram verificados nesse trabalho, pequenas bandas em 1442 e 1444  $\text{cm}^{-1}$  para o clone 1 extraídos com e sem sulfito de sódio (Figuras 2 e 4) e 1445  $\text{cm}^{-1}$  para o clone 2 extraídos com e sem sulfito de sódio (Figuras 3 e 5).

Segundo Foo (1981), bandas entre 1540-1520  $\text{cm}^{-1}$  são responsáveis pelo estiramento do anel aromático, sendo que nessa região as catequinas e os

galotaninos podem ser diferenciados, pois as catequinas possuem duas ligações -OH e banda em  $1520\text{ cm}^{-1}$ , enquanto os galotaninos possuem três ligações -OH com banda em  $1535\text{ cm}^{-1}$ . Foram verificadas, nos espectros dos taninos, pequenas bandas em todos os tratamentos nas faixas de  $1525, 1522\text{ cm}^{-1}$  para o clone 1 extraídos com e sem sulfito de sódio (Figura 2 e 4) e de  $1523$  e  $1520\text{ cm}^{-1}$  para clone 2 extraídos com e sem sulfito de sódio, respectivamente (Figura 3 e 5), que podem corresponder a procianidinas que são monômeros do tipo catequina.

Ping et al. (2012) encontraram bandas em  $1308, 1264$  e  $1212\text{ cm}^{-1}$ , e atribuíram a ligações C – C saturadas, atribuídas por CR2, CHR e  $\text{CR}(\text{SO}_3^{2-})$ , estruturas, causadas pela abertura do anel de pirano durante sulfitação dos flavonoides dos taninos, porém nesse estudo bandas em tais comprimentos não foram verificadas, foi encontrada uma diferença acentuada em  $1138$  (Figura 2) e  $1128\text{ cm}^{-1}$  (Figura 3) para os clones 1 e 2 extraídos com sulfito de sódio.

Segundo Cao et al. (2002) bandas de  $1030$  a  $1275\text{ cm}^{-1}$  correspondem ao estiramento de C=S. Nesse trabalho, nos tratamentos extraídos com o emprego de sulfito de sódio, foram verificadas bandas nas faixas de  $1140\text{ cm}^{-1}$ , o que diferiu fortemente dos tratamentos extraídos somente com água.

Ping et al. (2012), verificaram bandas em  $1066\text{ cm}^{-1}$ , as quais, segundo esses autores, é atribuída a vibração de alongamento de C – O, e nesse trabalho tais bandas são vistas somente nos tratamentos de taninos extraídos em água pura, em que foi de  $1058$  e  $1053\text{ cm}^{-1}$  para os clones 1 e 2, respectivamente (Figuras 4 e 5).

As bandas na faixa de  $900 - 700\text{ cm}^{-1}$  são influenciadas pela hidroxilação do anel B dos taninos. Foo (1981) cita que essa hidroxilação apresenta bandas entre  $780-730\text{ cm}^{-1}$  e também diferenciam as catequinas ( $780-770\text{ cm}^{-1}$ ) das galocatequinas ( $730\text{ cm}^{-1}$ ). No espectro dos diferentes tratamentos de taninos, bandas na região próxima de  $767$  e  $773\text{ cm}^{-1}$  para o clone 1 com e sem sulfito de sódio (Figuras 1 e 3) e  $779$  e  $773\text{ cm}^{-1}$  para o clone 2 com e sem

sulfito de sódio (Figuras 2 e 4), podendo identificar que esses taninos são do tipo procianidinas que correspondem monômeros do tipo catequina.

Fernández e Agostin (2007) atribuem estiramento C-O do anel pirano presente nos flavonoides em  $1285\text{ cm}^{-1}$ , os quais indicam uma característica de taninos à base de flavonoides. O grupamento - OH ligado ao anel aromático produz outras bandas em  $1300$  e  $1180\text{ cm}^{-1}$  devido às vibrações da ligação -C-O do fenol (BORGES, 2004). Nesse estudo as bandas foram encontradas somente nos tratamentos extraídos em água pura, com pequenas bandas em  $1286$  e  $1290\text{ cm}^{-1}$ , para os clones 1 e 2, respectivamente (Figuras 3 e 4), similar ao encontrado por Fernández e Agostin (2007). Os autores também verificaram comportamento similar em taninos presentes em vinho, com uma banda larga em torno de  $3500\text{ cm}^{-1}$  com uma pequena banda em  $2900\text{ cm}^{-1}$ , com espectro similar aos encontrados neste trabalho para os clones extraídos em água pura.

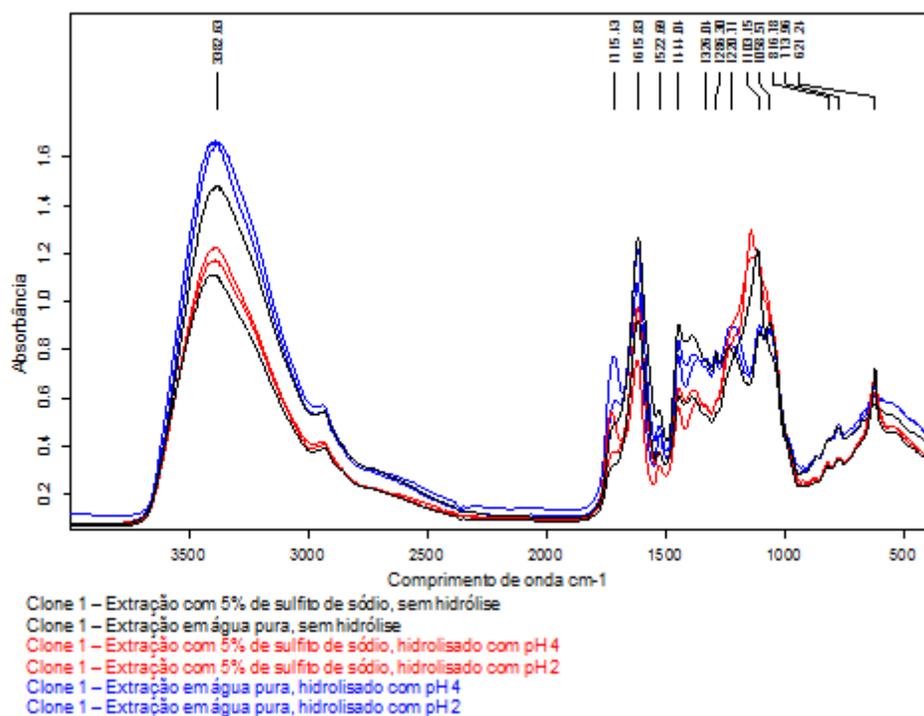
Segundo Kim e Kim (2003) picos na região de  $1611\text{ cm}^{-1}$  indicaria um elevado número de ligações interflavonoides, ou seja, a polimerização dos flavonoides na formação dos taninos condensados. O que foi verificado nos espectros dos taninos desse estudo, em  $1614$  e  $1615\text{ cm}^{-1}$  para o clone 1 extraídos com e sem sulfito de sódio (Figuras 1 e 3), e de  $1619$  e  $1618\text{ cm}^{-1}$  para o clone 2 extraídos com e sem sulfito de sódio (Figuras 2 e 4). Para a maioria dos tratamentos, maiores picos foram verificados para os tratamentos sem hidrólise, seguidos de pH4 e pH2, o que afirma a quebra das ligações interflavonoides com o ácido. Já o tratamento com maior intensidade de pico foi o Clone 2, extraído em água pura, o que indica uma maior condensação dos flavonoides e formação dos taninos condensados.

Segundo Falcão e Araújo (2013), taninos condensados, apresentam uma banda forte característica em:  $1288 - 1282\text{ cm}^{-1}$  (vibração de C-O assimétrico do anel pirano), enquanto os taninos hidrolisáveis (galotaninos e elagitaninos) apresentam bandas em  $1731-1704\text{ cm}^{-1}$  (vibração de alongamento da função

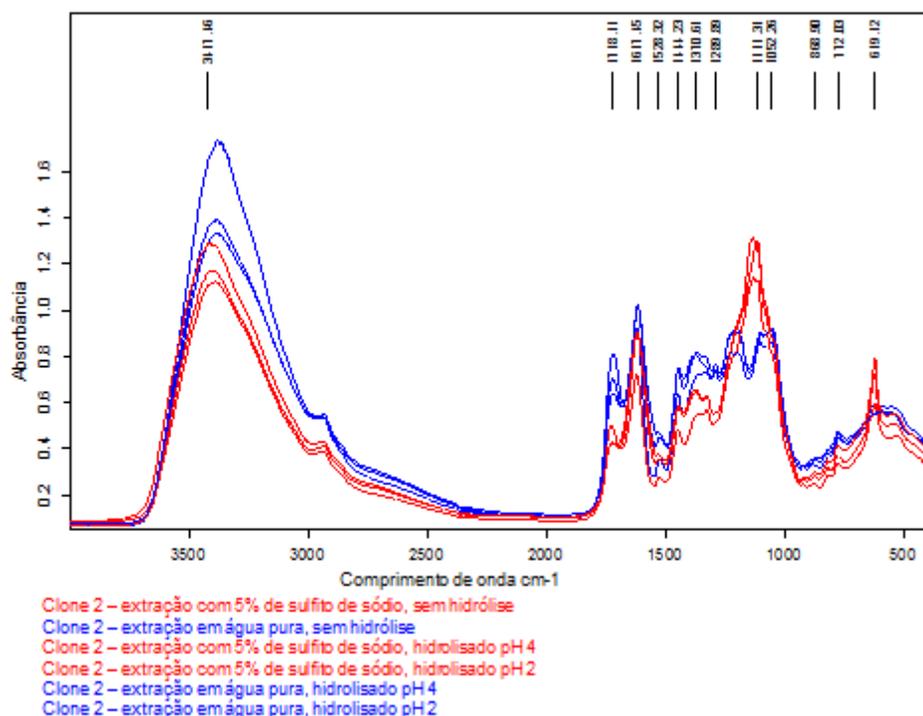
carbonila) e  $1325-1317\text{ cm}^{-1}$  (estiramento simétrico da ligação C-O da função éster). Tais bandas foram encontradas somente nos tratamentos de extração em água pura.

A Figura 5, assim como a Figura 6, reforçam a diferença dos espectros com relação à condição de extração dos taninos para o clone 1 e 2 respectivamente, mostrando a semelhança do espectro entre os valores de pH. Uma comparação entre os sinais de IR para os seis tratamentos e as intensidades relativas indicam a semelhança entre os clones e pH, a diferença só é vista quando comparados os tratamentos extraídos em água pura e com emprego de sulfito de sódio, razão pela qual é devido à abertura de anel heterocíclico da unidade do flavonoide.

**Figura 5** Espectro FT-IR do clone 1 em extração em água pura e com emprego de sulfito de sódio



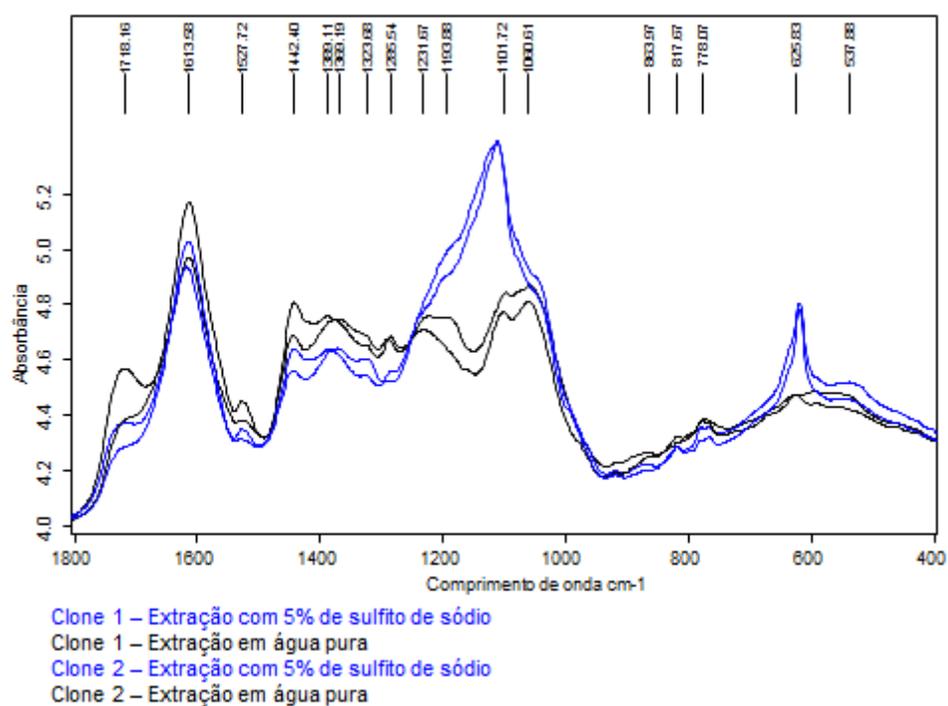
**Figura 6** Espectro FT-IR do clone 2 em extração em água pura e com emprego de sulfito de sódio



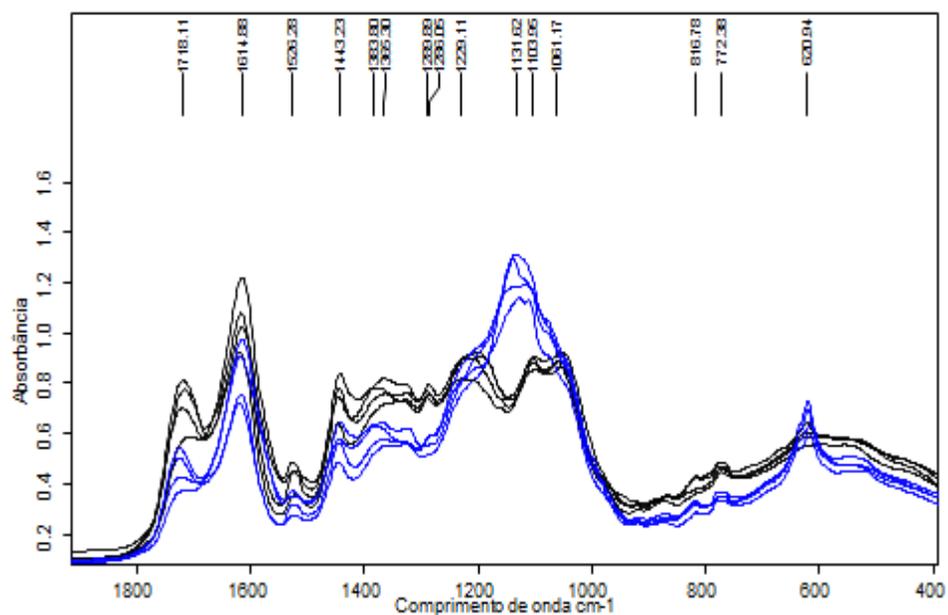
Já as Figuras 7 e 8 apresentam a comparação entre os clones. Na figura 8, é nítida a semelhança no espectro de FT-IR entre os clones 1 e 2. As diferenças são vistas somente com relação às condições de extração, quando emprega o sulfito de sódio na água de extração (em azul) e extração em água pura (em preto). Os taninos extraídos em água pura e com emprego de sulfito de sódio, devido à modificação de sua estrutura molecular mediante o processo de sulfitação na extração, resultaram em espectros diferentes. Segundo Fechtal e Rield (1993), a sulfitação dos taninos promove a eliminação do grupamento éter no anel heterocíclico, que é hidrofóbico; a introdução de grupamentos sulfonatos e outra hidroxila nas unidades flavonoides, aumentando também seu caráter hidrofílico; decréscimo da rigidez das moléculas de taninos e do número de

ligações de hidrogênio intermoleculares, através da abertura do anel heterocíclico; e hidrólise dos açúcares e gomas hidrocoloidais e hidrólise das ligações interflavonoides.

**Figura 7** Espectro FT-IR dos clones 1 e 2 em extração em água pura e com emprego de sulfito de sódio



**Figura 8** Espectro FT-IR do clone 1 e 2 em extração em água pura e com emprego de sulfito de sódio



Clone 1 – Extração com 5% de sulfito de sódio, hidrolisado com pH 4	Clone 2 – Extração com 5% de sulfito de sódio, hidrolisado com pH 4
Clone 1 – Extração com 5% de sulfito de sódio, hidrolisado com pH 2	Clone 2 – Extração com 5% de sulfito de sódio, hidrolisado com pH 2
Clone 1 – Extração em água pura, hidrolisado com pH 4	Clone 2 – Extração em água pura, hidrolisado com pH 4
Clone 1 – Extração em água pura, hidrolisado com pH 2	Clone 2 – Extração em água pura, hidrolisado com pH 2

#### 4 CONCLUSÃO

Levando em conta a grande quantidade da matéria-prima, somados ao baixo preço, as cascas residuais de clones comerciais de *Eucalyptus* possuem potencial para extração de compostos bioativos, que constituem matéria-prima para os setores farmacêuticos e de cosméticos, o que irá agregar valor e reduzir quantidades expressivas de resíduos.

Como já testado em trabalhos anteriores, sabe-se da inviabilidade dos taninos de *Eucalyptus* para a produção de adesivos, devido ao seu elevado peso molecular. Propõem-se estudos para verificar a massa molecular dos taninos das cascas dos clones comerciais e verificar a viabilidade para a sua utilização em outras aplicações, como por exemplo, em tratamentos de água e efluentes.

## REFERÊNCIAS

BORGES, S. G. **Síntese e caracterização de resinas fenólicas líquidas do tipo Novolaca aplicáveis no processo de pultrusão**. 2004. 112 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

BRUCE, P. Y. **Química orgânica**. 4. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2006. v. 1.

CAO, P. G. et al. Comparative study of inhibition effects of benzotriazole for metals in neutral solutions as observed with surface-enhanced Raman spectroscopy. **Langmuir**, Washington, v. 18, n. 1, p 100–104, 2002.

CARNEIRO, A. C. O. **Efeito da sulfitação dos taninos de E. grandis e E. pellita para a produção de chapas de flocos**. 2002. 90 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2002.

CARNEIRO, A. C. O. et al. Determinação da massa molar de taninos vegetais através da técnica da cromatografia de permeação em gel. **Science Forestaly**, Piracicaba, v. 38, n. 87, p. 419-429, set. 2010.

CHUPIN, L. et al. Characterisation of maritime pine (*Pinus pinaster*) bark tannins extracted under different conditions by spectroscopic methods, FTIR and HPLC. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 49, p. 897-903, 2013.

CIENFUEGOS, F.; VAISTMAN, D. **Análise Instrumental**. Rio de Janeiro: Interciência, 2000.

FALCÃO, L.; ARAÚJO, M. E. M. Tannins characterisation in new and historic vegetable tanned leathers fibres by spot tests. **Journal of Cultural Heritage**, Oxford, v. 12, p. 149-156, 2013.

FECHTAL, M.; RIEDL, B. Use of Eucalyptus and Acacia molissima bark extract-formaldehyde adhesives in particleboard manufacture. **Holzforschung**, Berlin, v. 47, n. 4, p. 349-357, 1993.

FERNÁNDEZ, K.; AGOSTIN, E. Quantitative analysis of red wine tannins using Fourier-Transform Mid-Infrared spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 55, p. 7294-7300, 2007.

FOO, L. Y. Proanthocyanidins: gross chemical structures by infrared spectra. **Phytochemistry**, New York, v. 20, n. 6, p. 1397-1402, 1981.

KIM, S.; KIM, H. J. Curing behavior and viscoelastic properties of pine and wattle tannin-based adhesives studied by dynamic mechanical thermal analysis and FT-IR-ATR spectroscopy. **Journal Adhesion Science and Technology**, Utrecht, v. 17, p. 1369–1383, 2003.

LIMA, R. J. C. et al. Taninos hidrolisáveis em Bixa orellana L. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 3, p. 507-509, 2006.

LUÍS, A. et al. Stumps of *Eucalyptus globulus* as a source of antioxidant and antimicrobial polyphenols. **Molecules**, Washington, v. 19, p. 16428-16446, 2014.

MORI, F. A. **Caracterização parcial dos taninos da casca e dos adesivos de três espécies de eucaliptos**. 2000. 73 p. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2000.

MORI, F. A. et al. Estudo de taninos da casca de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake para produção de adesivos. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 25, n. 2, p. 257-263, 2001.

MORI, F. A. et al. Utilização de resinas à base de taninos da casca de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden na produção de painéis compensados. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 23, n. 4, p. 455-461, 1999.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal Chromatography**, New York, v. 1/2, n. 1054, p. 95-111, 2004.

PING, L. et al. Condensed tannins from grape pomace: Characterization by FTIR and MALDI TOF and production of environment friendly wood adhesive . **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 40, p. 13-20, 2012.

PIZZI, A. **Advanced wood adhesives technology**. New York: M. Dekker, 1994. 289 p.

PUTTASWAMY, N. Y. et al. Phytochemical composition and in vitro anti-hyperglycemic potency of *Eucalyptus tereticornis* bark. **Indian Journal of Nutrition**, Coimbatore, v. 1, p. 102-107, 2014.

RODRIGUES, J.; FAIX, O.; PEREIRA, H. Determination of lignin content of *Eucalyptus globulus* wood using FTIR spectroscopy. **Holzforschung**, Berlin, v. 52, n. 1, p. 46-50, Sept. 1998.

SAAD, H. et al. Characterization of tunisian aleppo pine tannins for a potential use in wood adhesive formulation. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 61, p. 517-525, 2014.

SANTOS, S. A. O. et al. Characterization of phenolic components in polar extracts of *Eucalyptus globulus* Labill. bark by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 59, p. 9386-9393, 2011.

SANTOS, S. A. O. et al. Phenolic composition and antioxidant activity of *Eucalyptus grandis*, *E. urograndis* (*E. grandis*×*E. urophylla*) and *E. maidenii* bark extracts. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 39, p. 120-127, 2012.

SEN, A. et al. Study of thermochemical treatments of cork in the 150–400 °C range using colour analysis and FTIR spectroscopy. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 38, p. 132– 138, 2012.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics**: sources, chemistry, effects and applications. Lancaster: Technomic, 1995.

SILVA, R. V. **Uso de taninos da casca de três espécies de eucalipto na produção de adesivos para madeira**. 2001. 46 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

SILVERSTEIN, R. M. et al. **Spectrometric identification of organic compounds**. New York: J. Wiley, 1981. p. 95-137.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 715 p.

VÁZQUEZ, G. et al. Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 28, p. 279–285, 2008.

VÁZQUEZ, G. et al. Evaluation of potential applications for chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 29, p. 364–370, 2009.

VITAL, B. R. et al. Adesivos à base de taninos das cascas de duas espécies de eucalipto para produção de chapas de flocos. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 28, n. 4, p. 571-582, 2004.