



**DEISE MORONE PERÍGOLO**

**QUANTIFICAÇÃO DE MONOSSACARÍDEOS  
DE MADEIRAS E POLPAS CELULÓSICAS POR  
HPLC/DAD UTILIZANDO DERIVATIZAÇÃO  
COM 1-FENIL-3-METIL-5-PIRAZOLONA (PMP)**

**LAVRAS - MG**

**2014**

**DEISE MORONE PERÍGOLO**

**QUANTIFICAÇÃO DE MONOSSACARÍDEOS DE MADEIRAS E  
POLPAS CELULÓSICAS POR HPLC/DAD UTILIZANDO  
DERIVATIZAÇÃO COM 1-FENIL-3-METIL-5-PIRAZOLONA (PMP)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração em Agroquímica, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Maria Lucia Bianchi

**LAVRAS – MG**

**2014**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e  
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Perígolo, Deise Morone.

Quantificação de monossacarídeos de madeiras e polpas  
celulósicas por HPLC/DAD utilizando derivatização com 1-fenil-3-  
metil-5-pirazolona (PMP) / Deise Morone Perígolo. – Lavras:  
UFLA, 2014.

81 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Maria Lucia Bianchi.

Bibliografia.

1. Hemiceluloses. 2. Polpação kraft. 3. Lignina. 4. Celulose I.  
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 676.121

**DEISE MORONE PERÍGOLO**

**QUANTIFICAÇÃO DE MONOSSACARÍDEOS DE MADEIRAS E  
POLPAS CELULÓSICAS POR HPLC/DAD UTILIZANDO  
DERIVATIZAÇÃO COM 1-FENIL-3-METIL-5-PIRAZOLONA (PMP)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração em Agroquímica, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 21 de fevereiro de 2014.

Dra. Eliane Cristina de Resende      UFLA

Dra. Josefina Aparecida de Souza      UFLA

Dra. Maria Lucia Bianchi

Orientadora

**LAVRAS – MG**

**2014**

*A minha família: mãe, pai, De, Gui e Ta,  
minha fonte de força!*

*Ao meu namorado, Paulo Henrique, com carinho.*

DEDICO.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, por estar sempre me guiando e por todas as graças recebidas.

Aos meus amados pais e irmãos, pelo amor incondicional e por acreditarem em mim.

A minha família, pelo incentivo e apoio.

Ao PH, por todo carinho e compreensão.

Aos amigos, pelos excelentes momentos, companheirismo e amizade.

À professora Malu, por ser mais que orientadora, pela paciência durante estes anos, a amizade, as oportunidades e por ter confiado em mim.

Ao professor Guerreiro, pelos valiosos ensinamentos.

A Lidiany, pela grandiosa ajuda.

À professora Maria das Graças, pela colaboração.

Aos professores e funcionários do Departamento de Química, pela dedicação.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Química, pela oportunidade de cursar o mestrado.

Ao Departamento de Ciências Florestais, pela utilização dos laboratórios.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a conclusão deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

## **RESUMO GERAL**

A madeira é um material heterogêneo e fibroso, constituído basicamente de celulose, hemiceluloses e lignina. As hemiceluloses, cadeias de carboidratos presentes na fibra vegetal, são uma mistura de polissacarídeos de baixa massa molecular, os quais estão associados com a celulose nos tecidos das plantas. Na produção de polpas kraft e papel as hemiceluloses são muito importantes pois além de contribuir para o aumento do rendimento elas melhoram a qualidade do papel produzido. Ainda são restritos na literatura, pesquisas com hemiceluloses na produção de barris de madeira para o armazenamento de bebidas destiladas. O estudo das hemiceluloses, envolvendo identificação e quantificação dos açúcares podem ser realizados por diversos métodos, entre eles a cromatografia líquida utilizando derivatização.

Palavras-chave: Hemiceluloses. Polpação kraft. Lignina. Celulose

## **GENERAL ABSTRACT**

Wood is a heterogeneous and fibrous material consisting primarily of cellulose, hemicellulose and lignin. The hemicellulose carbohydrate chains present in the vegetable fiber is a mixture of low molecular weight polysaccharides, which are associated with cellulose in plant tissues. In the kraft's production, pulp and paper hemicelluloses are very important as well as contributing to the increased income they improve the quality of the paper produced. Research on hemicellulose production of wooden barrels for storage of liquor are limited in the literature. The study of hemicelluloses, involving identification and quantification of sugars can be done by several methods, including liquid chromatography using derivatization.

Keywords: Hemicelluloses. Kraft pulping. Lignin. Celulose.



## LISTA DE FIGURAS

### PRIMEIRA PARTE

Figura 1	Estrutura de uma fibra vegetal. A imagem da MEV se refere a uma fibra de eucalipto (SILVA et al., 2009).....	17
Figura 2	Precusores primários da lignina (BARBOSA et al., 2008) .....	17
Figura 3	Estrutura da cadeia de celulose (ALMEIDA, 1988).....	18
Figura 4	Açúcares que compõem as hemiceluloses (ALMEIDA, 1988) .....	19
Figura 5	Metil glucuronoxilanas de madeira de folhosas. Adaptado de Tame, Dlugogorski e Kennedy (2007) .....	20
Figura 6	Reações de peeling (LISBOA, 2008) .....	22
Figura 7	Reação de stopping (FENGEL; WEGENER, 1989). .....	23
Figura 8	Hidrólise das ligações glicosídicas em meio alcalino (FENGEL; WEGENER, 1989) .....	24

### SEGUNDA PARTE

#### ARTIGO 1

Figura 1	Derivatização de carboidrato com PMP em soluções alcalinas (HONDA; SUZUKI; TAGA, 2003).....	47
Figura 2	Cromatograma de HPLC obtidos dos padrões de seis monossacarídeos derivatizados com PMP. A: picos referentes aos monossacarídeos derivatizados e ao reagente PMP. B: região expandida do cromatograma (A). Picos: 1-ácido glucurônico, 2-galactose, 3-glicose, 4-arabinose, 5-xilose e 6-manose.....	49
Figura 3	A - cromatograma da madeira de eucalipto. B - cromatograma de polpa de eucalipto. Picos: 1-ácido glucurônico, 2-galactose, 3-glicose, 4-arabinose, 5-xilose e 6-manose .....	51
Figura 4	Correlação linear entre a quantidade de glicose e xilose na madeira .....	55
Figura 5	Correlação linear entre a quantidade de ácido glucurônico e glicose na polpa celulósica .....	56

#### ARTIGO 2

Figura 1	Cromatograma de HPLC obtidos dos padrões de seis monossacarídeos derivatizados com PMP. (A): picos referentes	
----------	---	--

	aos monossacarídeos derivatizados ao reagente PMP. (B): região expandida do cromatograma: 1. ácido glucurônico, 2.galactose, 3. glicose, 4. arabinose, 5.xilose e 6.manose .....	73
Figura 2	Cromatogramas obtidos das madeiras amazônicas: 1 – angelim- pedra, 2 – cumarurana, 3 - jatobá e 4 - louro-Vermelho.....	74
Figura 3	Cromatogramas obtidos por Santana e Okira (2007). Cromatograma a: padrões. Cromatograma b: uma amostra hidrolisada. Picos: 1-glicose, 2-xilose, 3-galactose, 4-arabinose e 5-manose.....	75

## SUMÁRIO

	<b>PRIMEIRA PARTE .....</b>	<b>11</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>14</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>27</b>
	<b>SEGUNDA PARTE -ARTIGOS.....</b>	<b>34</b>
	<b>ARTIGO 1 Quantificação de monossacarídeos da madeira de clones de eucalipto e polpas kraft desses clones por hplc, utilizando derivatização com 1-fenil-3-metil-5-pirazolona (PMP) .</b>	<b>34</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>37</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>39</b>
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>45</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>57</b>
	<b>ARTIGO 2 estudo do potencial de espécies amazônicas na produção de barris para o armazenamento de bebidas.....</b>	<b>62</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>65</b>
<b>2</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>68</b>
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>72</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>77</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>78</b>

## **PRIMEIRA PARTE**

### **1 INTRODUÇÃO**

A produção de derivados a partir de matérias-primas vegetais envolve tanto a utilização de seus componentes principais (celulose, polioses, lignina e extrativos) como a transformação destes componentes, sem prévia separação, em produtos de maior valor agregado.

Devido ao crescimento das empresas florestais brasileiras e das demandas internacionais, o Brasil tem se tornado um dos maiores países no ranking de exportadores do mercado internacional de produtos florestais, conquistando posição e ganhando competitividade de países tradicionais no ramo de celulose, como a Finlândia e a Suécia.

Mudanças significativas vêm ocorrendo, ao longo dos anos, no mercado doméstico e internacional de produtos florestais. A expansão dos já existentes e o surgimento de novos mercados e produtos que utilizam, basicamente, a madeira de reflorestamento, foram se consolidando aqui e no exterior. Internamente, as indústrias de celulose crescem vertiginosamente, as siderúrgicas estão trabalhando no limite da sua capacidade e as serrarias se multiplicam, bem como as indústrias de compensados.

A região amazônica é uma das principais produtoras de madeira tropical do mundo, e a exploração e o processamento industrial de madeira estão entre suas principais atividades econômicas.

Entre as madeiras de reflorestamento no Brasil, o eucalipto é a principal madeira utilizada como fonte de matéria-prima para a produção de polpa celulósica e papel.

O setor de papel e celulose é um importantíssimo segmento da economia brasileira e contribui de modo significativo com as exportações do país. No ano

de 2013, a indústria de papel e celulose foi responsável por mais de 7 milhões de dólares, referentes a exportações, sendo as importações do mesmo setor de menos de 2 milhões de dólares (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CELULOSE E PAPEL - BRACELPA, 2014).

Papel e celulose são fabricados a partir de matérias-primas que contenham fibras de celulose (polímero formado por unidade de glicose), geralmente de madeira, papel reciclado e os resíduos (IBRAHIM; EL-ZAWAWY; NAWWAR, 2012).

Na produção de papel estão envolvidos vários processos químicos e físicos que objetivam isolar as fibras de celulose e, assim, com os tratamentos adequados, chegar aos diversos tipos de papel. O processo empregado, genericamente, para a produção de polpas celulósicas é descrito como polpação (JONES; BENSON; ROUX, 2013).

O processo kraft de polpação, que é o processo mais utilizado no Brasil, utiliza NaOH e Na<sub>2</sub>S como reagentes químicos. A polpa kraft de celulose de eucalipto é uma das polpas utilizadas para fabricar papéis de escrita (imprimir e escrever) de alta qualidade (BARNETO et al., 2011).

O objetivo do processo kraft é promover a decomposição da lignina (macromolécula, formada por unidades de álcool coniferílico, álcool sinapílico e álcool *p*-cumarílico). Entretanto, os reagentes químicos acabam degradando uma fração dos polissacarídeos, afetando as características da polpa celulósica (SHI; YANG; LIN, 2014). Alta concentração de hemiceluloses na polpa é desejável para aumentar as propriedades de resistência da mesma (DEUTSCHLE et al., 2014).

O comportamento das hemiceluloses (açúcares da madeira) durante o processo kraft depende de diferentes fatores, como o tipo de madeira, a quantidade e os tipos de hemiceluloses presentes (LISBOA, 2008).

As características do papel produzido estão diretamente relacionadas às hemiceluloses e, assim, é de interesse da indústria papelreira estudar os carboidratos presentes na madeira e o comportamento deles frente ao processo de produção de polpa e papel.

O presente trabalho foi dividido em três partes: parte introdutória/revisão e artigos 1 e 2. No primeiro artigo avaliam-se os monossacarídeos presentes nas madeiras de clones de eucalipto e polpas celulósicas dessas madeiras, buscando possíveis correlações entre esses açúcares. O segundo artigo consiste de um estudo das hemiceluloses de espécies amazônicas (angelim-pedra, cumarurana, jatobá e louro-vermelho) para a produção de barris destinados ao envelhecimento de bebidas destiladas.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Produção madeireira no Brasil**

De acordo com a Organización Internacional de las Maderas Tropicales - OIMT (2011), a região amazônica é uma das principais regiões produtoras de madeira tropical do mundo, ficando atrás apenas de países como Malásia e Indonésia. Dentre as principais atividades econômicas estão a exploração e o processamento industrial de madeira, além da mineração e da agropecuária (VERÍSSIMO et al., 2006). O setor madeireiro impulsiona de forma direta a economia de dezenas de municípios da Amazônia.

Em 2009, na Amazônia Legal, que compreende os estados do Pará, Amazonas, Maranhão, Goiás, Mato Grosso, Acre, Amapá, Rondônia, Roraima e Tocantins, foram identificadas 2.226 empresas madeireiras. Essas empresas extraíram em torno de 14,2 milhões de metros cúbicos de madeira nativa, o equivalente a 3,5 milhões de árvores. A indústria madeireira, em 2009, gerou uma receita bruta de, aproximadamente, R\$ 5 bilhões. Foram criados aproximadamente 204 mil empregos, dos quais 66 mil eram diretos (processamento e exploração florestal) e 137 mil, indiretos (IMAZON, 2010).

Além da exploração das inúmeras espécies amazônicas, o Brasil também se destaca como maior produtor mundial de celulose produzida de eucalipto (reflorestamento). Segundo dados da BRACELPA (2014), em 2012, o Brasil produziu cerca de 13,9 milhões toneladas de polpa celulósica, sendo, do total dessa produção, 11,8 milhões de toneladas produzidas a partir de madeira de fibra curta (eucalipto).

### 2.1.1 Espécies madeireiras

O gênero *Eucalyptus* pertence à família Myrtaceae, apresentando cerca de 600 espécies, muitas variedades e híbridos. Tem grande potencial para a indústria papelreira, devido ao seu rápido crescimento, à boa adaptação às condições ambientais brasileiras e à produção de madeira de boas propriedades físicas e mecânicas (ANDRADE, 1961; LIMA et al., 2006).

As espécies madeireiras amazônicas angelim-pedra (*Hymenolobium petraeum* Ducke), Fabaceae; cumarurana (*Dipteryx polyphylla* (Huber) Ducke), Fabaceae; jatobá (*Hymenaea courbaril* L.), Fabaceae e louro-vermelho (*Nectandra rubra* (Mez) C.K. Allen), Lauraceae são utilizadas, principalmente, na construção civil. Elas são altamente resistentes ao ataque de fungos apodrecedores e apresentam textura média e grã reversa, exceto o louro-vermelho, que tem grã regular.

O louro-vermelho caracteriza-se por ter aspecto semelhante ao do mogno e do cedro. A madeira de cumarurana é moderadamente fácil de serrar e difícil de aplinar e é refratária ao tratamento com produtos químicos hidrossolúveis. A madeira do jatobá tem um lenho pesado, resistente, muito sólido, durável e moderadamente difícil de ser trabalhado. Já a madeira do angelim-pedra é difícil de trabalhar, recebe bom acabamento, é pouco resistente a térmitas, fácil de secar, podendo ocorrer empenamentos e rachaduras leves, moderadamente fácil de preservar, apresentando penetração parcial periférica do preservante (ÁVILA; SILVA; LEÃO, 2006; BRAGA, 1960; CLAY; SAMPAIO; CLEMENT, 2000; FEDALTO; MENDES; CORADIN, 1989; LOUREIRO; FREITAS; FREITAS, 1997; LOUREIRO; SILVA, 1968; LOUREIRO; SILVA; ALENCAR, 1979; MAINIERI; CHIMELO, 1989;



RAMOS, 1992; RIZZINI, 1971; SANTOS, 1987; VASCONCELLOS et al., 2001).

## 2.2 Componentes químicos da madeira

Quimicamente, a madeira é um material heterogêneo, consistindo, principalmente, de três componentes: celulose, hemiceluloses e lignina. Os demais componentes da madeira, presentes em menor quantidade, são compostos de baixo peso molecular, denominados extrativos (ALMEIDA, 1988). A estrutura de uma fibra vegetal é apresentada na Figura 1.

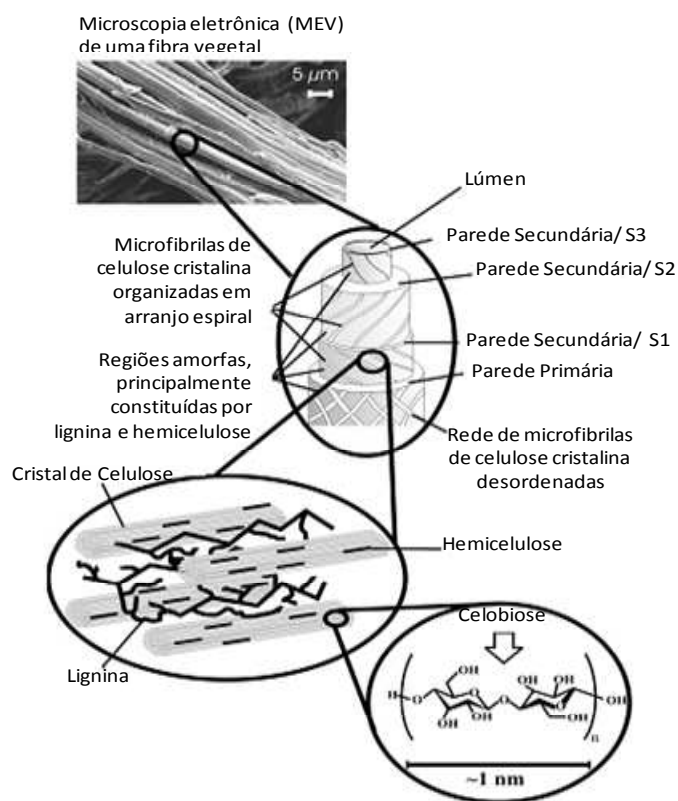


Figura 1 Estrutura de uma fibra vegetal. A imagem da MEV se refere a uma fibra de eucalipto (SILVA et al., 2009)

### 2.2.1 Lignina

A lignina é uma substância química que fornece rigidez à parede da célula e, nas partes da madeira, age como um agente permanente de ligação entre as células. Os principais componentes da lignina (Figura 2) são os álcoois coniferílico, sinapílico e *p*-cumárico, com quantidades normalmente menores de álcool *p*-cumárico (ZHANG; ZHOU, 2012).

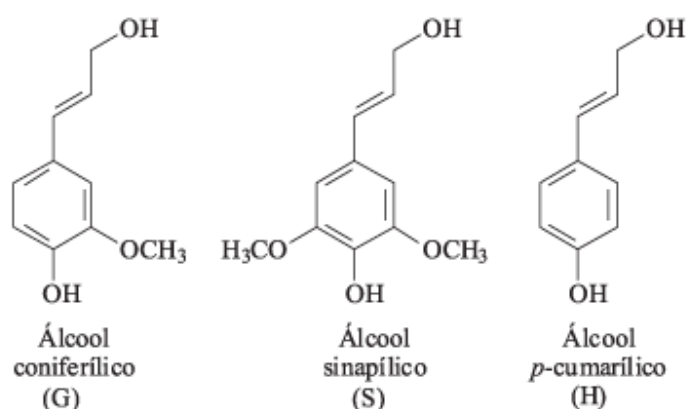


Figura 2 Precursores primários da lignina (BARBOSA et al., 2008)

A lignina é a principal responsável pela cor escura de polpas, devido à grande variedade de cromóforos naturalmente presentes na madeira ou gerada durante o processamento da polpa (VANHOLME et al., 2010).

A estrutura química e a composição da madeira, em particular o teor de lignina e seus constituintes em termos de *p*-hidroxifenil (H), guaiacil (G) e siringil (S), são parâmetros importantes na produção de polpa celulósica, no que

se refere às taxas de deslignificação, consumo de produtos químicos e branqueamento (PRINSEN et al., 2012).

### 2.2.2 Holoceluloses

O termo holocelulose compreende o conteúdo total de polissacarídeos da madeira, representado pela fração de celulose e hemiceluloses. Pode compreender até 80% de toda porção da madeira e está presente, principalmente, na parede celular. Esta proporção é, normalmente, diferente entre as várias espécies dos grupos vegetais (GULLICHSEN; PAULAPURO, 2000).

#### 2.2.2.1 Celulose

A celulose (Figura 3) é um polissacarídeo formado por unidades do monossacarídeo  $\beta$ -D-glucose que se ligam entre si por meio dos carbonos 1 e 4, dando origem a um polímero linear (ALMEIDA, 1988).

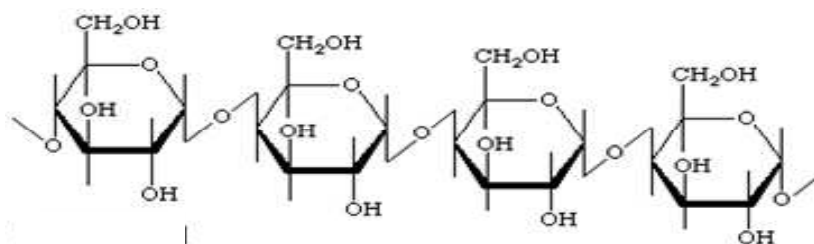


Figura 3 Estrutura da cadeia de celulose (ALMEIDA, 1988)

#### 2.2.2.2 Hemiceluloses

As hemiceluloses, também chamadas de polioses, são importantes cadeias de carboidratos presentes na madeira (HAN et al., 2012). O termo hemiceluloses refere-se a uma mistura de polissacarídeos de baixa massa

molecular, os quais estão associados com a celulose nos tecidos das plantas. Diferente da celulose, que é um polímero de D-glucose, na composição das hemiceluloses podem aparecer, condensadas em diferentes proporções, as seguintes unidades de açúcares (Figura 4):  $\beta$ -D-xilose,  $\beta$ -D-manose,  $\beta$ -D-glucose,  $\alpha$ -L-arabinose,  $\alpha$ -D-galactose, ácido  $\beta$ -D glucourônico, ácido  $\beta$ -D-galactourônico e ácido  $\alpha$ -D-4-O-metilglucurônico (MARQUES et al., 2010).

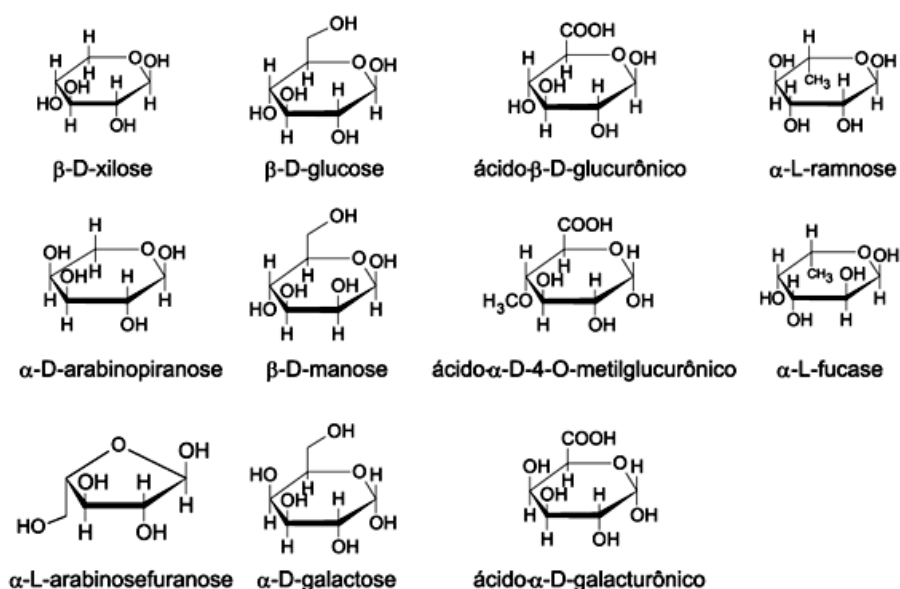


Figura 4 Açúcares que compõem as hemiceluloses (ALMEIDA, 1988)

Madeira de folhosas (eucalipto) têm hemiceluloses formadas por xilanas e coníferas (pinus) por glucomanas, embora existam xilanas em coníferas e glucomanas em folhosas (BAI; HU; XU, 2012). Hemiceluloses de coníferas são constituídas de pentoses e hexoses, enquanto hemiceluloses de folhosas têm, em sua estrutura, principalmente pentoses (HAMZEH et al., 2013).

As hemiceluloses isoladas da madeira são misturas complexas de polissacarídeos, dos quais os mais importantes são: glucouranoxilanas (Figura

5), arabinoglucouranoxilanas, glucomanas, arabinogalactanas e galactoglucomanas (ALMEIDA, 1988).

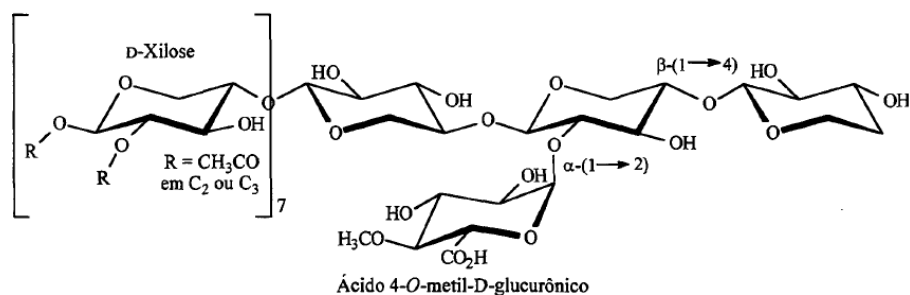


Figura 5 Metil glucuronoxilanas de madeira de folhosas. Adaptado de Tame, Dlugogorski e Kennedy (2007)

Durante o processo de polpação (kraft ou sulfato), as hemiceluloses, que representam cerca de 25% da matéria-prima, são parcialmente dissolvidas. As severas condições de pH e de temperatura do processo kraft objetivam degradar a lignina, contudo, parte das hemiceluloses também é perdida nessa etapa (MENDES et al., 2009).

### 2.3 Processo de polpação kraft ou sulfato

O processo de polpação kraft consiste no cozimento dos cavados de madeira em uma solução alcalina de sulfeto de sódio, denominada de licor branco. A presença de sulfeto no licor de cozimento oferece vantagens, tais como rapidez na deslignificação e menor exposição da madeira à solução alcalina, permitindo a produção de polpas mais resistentes em função da menor degradação de celulose e de hemiceluloses (PERISSOTO, 2005). A polpação kraft tem como objetivo remover a lignina, preservando, tanto quanto possível, os carboidratos da madeira (LONGUE JÚNIOR et al., 2009; SIMÃO; CARVALHO; BAPTISTA, 2011).

Durante o cozimento kraft, os polissacáridos de madeira podem ser também parcialmente dissolvidos e/ou degradados, principalmente por meio de hidrólise alcalina e eliminação sequencial de grupos terminais, afetando o desempenho do processo e a qualidade das fibras. A degradação parcial e a dissolução de hemiceluloses de folhosas, durante o processo kraft, é altamente responsável por um consumo significativo de produtos químicos e uma diminuição do rendimento de celulose e as propriedades de polpa de produção de papel também são afetadas (PINTO; EVTUGUIN; PASCOAL NETO, 2005).

Alguns grupos presentes nas hemiceluloses podem ter comportamento diferente dos descritos, quando levados ao cozimento kraft. O ácido 4-O-metilglucurônico presente nas xilanas libera metanol durante o cozimento alcalino, originando o ácido hexenurônico (CADENA; VIDAL; TORRES, 2010).

### **2.3.1 Reações dos carboidratos no processo kraft**

Durante o processo de polpação, os carboidratos da madeira reagem, causando efeitos importantes no consumo dos reagentes, no rendimento do processo e nas propriedades físicas da polpa celulósica. Os polissacarídeos podem responder de diferentes maneiras ao processo kraft, podendo ser dissolvidos no licor de cozimento, degradar e formar produtos de baixo peso molecular, permanecer nos elementos fibrosos ou manter sua forma original. A reatividade dos polissacarídeos depende, essencialmente, da sua estrutura e da acessibilidade do licor de cozimento (DUEÑAS, 1997; SJÖSTRÖM, 1981).

As reações de “peeling” (Figura 6), que acontecem no início do cozimento, são responsáveis pela degradação dos carboidratos, que resultam na quebra das ligações glicosídicas dos grupos terminais redutores e no rearranjo

dos íons enolatos, com a eliminação dos açúcares adjacentes (FENGEL; WEGENER, 1989; GIERER, 1980).

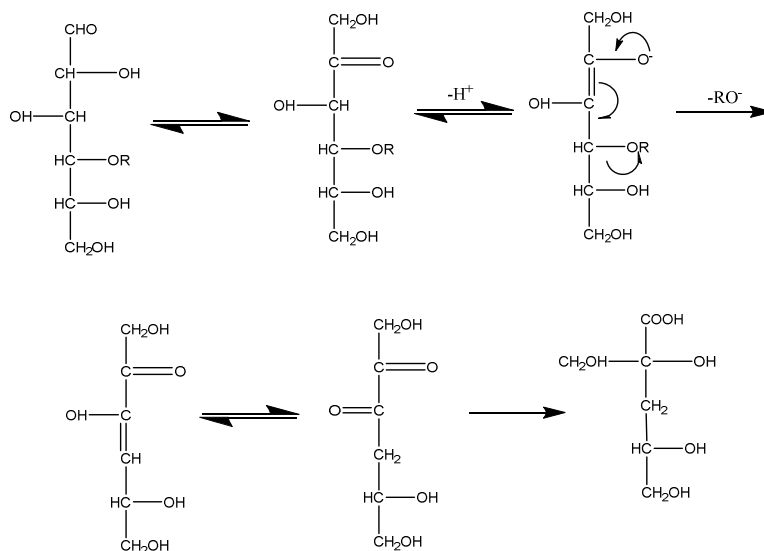


Figura 5 Reações de peeling (LISBOA, 2008)

Após a eliminação de algumas unidades terminais, a reação de *peeling* é interrompida por uma reação de *stopping* (Figura 7), que converte o terminal redutor num ácido carboxílico, não permitindo que o *peeling* prossiga (FENGEL; WEGENER, 1989).

Além da reação de *peeling*, a hidrólise alcalina das ligações glicosídicas é outra forma de quebra dos polissacarídeos.

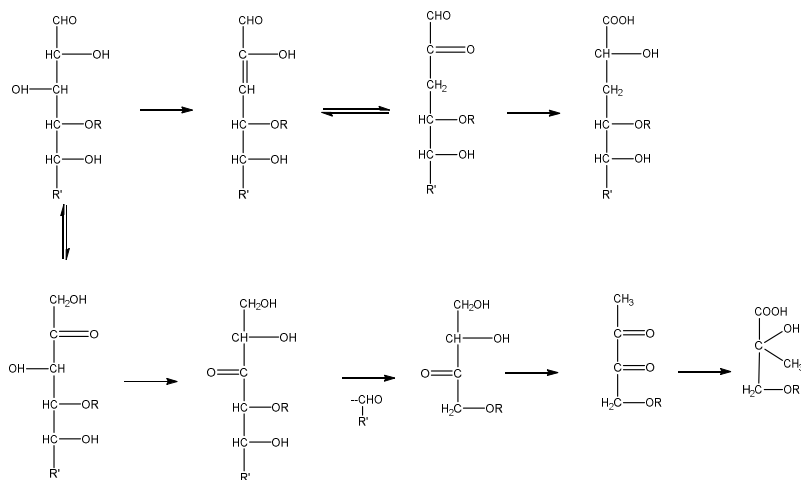


Figura 6 Reação de stopping (FENGEL; WEGENER, 1989).

A hidrólise acontece em temperaturas elevadas (140 °C-150 °C, no mínimo) de forma aleatória e quebra os polissacarídeos ao meio, diminuindo, assim, o grau de polimerização, tornando-os mais solúveis. Ela envolve a ionização da hidroxila do C2, a eliminação do grupo alcóxi por  $\beta$  eliminação e a formação de epóxido (LISBOA, 2008). O aumento da concentração de hidroxila aumenta a velocidade da reação de hidrólise até um máximo, a partir do qual a velocidade fica constante.

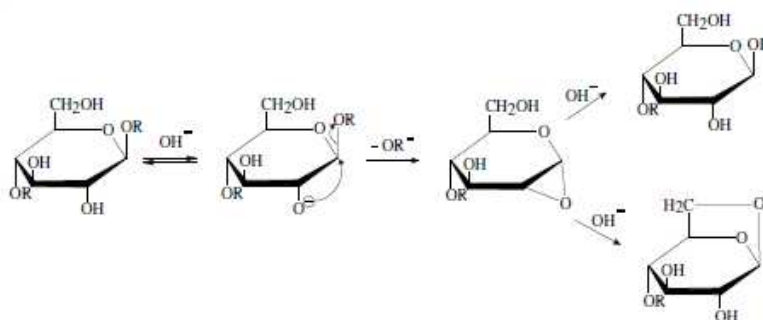




Figura 7 Hidrólise das ligações glicosídicas em meio alcalino (FENGEL; WEGENER, 1989)

#### **2.4 Identificação e quantificação de açúcares**

Diferentes métodos têm sido utilizados para a identificação de quantificação de carboidratos, e os mais precisos são os métodos cromatográficos: a cromatografia em camada delgada (CCD), a cromatografia gasosa (CG) e a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC - *high performance liquid chromatography*). Os carboidratos podem ser também separados por eletroforese (LI et al., 2013; PALMEIRAS et al., 2010; TAVARES et al., 2010).

##### **2.4.1 Cromatografia líquida**

A cromatografia líquida de alta eficiência é um importante processo entre todas as técnicas de separação, pois pode separar misturas que contêm um grande número de compostos similares. Quando associada com detectores por absorvância no ultravioleta e no visível, é uma técnica de separação sensível e rápida, porém seletiva, porque só detecta os compostos que absorvem no comprimento de onda em que opera o detector (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006).

Os detectores por absorvância no ultravioleta e no visível são os mais encontrados nos aparelho de HPLC. Quando formados por arranjo de diodos, podem realizar análises em diferentes comprimentos de onda. Em ótimas condições, pode-se atingir detectabilidade até 0,001 unidade de absorvância e, se o composto absorve intensamente na faixa do ultravioleta, é possível detectar quantidades de amostras da ordem de décimos de nanograma (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006).

Para solutos que não absorvem no UV ou visível, como os açúcares e, conseqüentemente não são detectados pelos detectores espectrofotométricos, uma escolha é o detector por índice de refração. Porém, este detector tem uma detectabilidade moderada, geralmente da ordem de micrograma ( $10^{-6}$  g). Esse nível de concentração corresponde a uma diferença no índice de refração entre a amostra e a fase móvel de, aproximadamente,  $10^{-7}$  unidade de índice de refração. Para observar essa diferença, é necessário um controle de temperatura de mais ou menos 0,001 °C, de uma boa fonte termostatizada. Além desse problema com a temperatura, existem ainda outros, como a sensibilidade às variações de vazão e as mudanças na composição da fase móvel, que impedem o uso de gradientes, por ser difícil encontrar um par de solventes com índices de refração idênticos.

#### **2.4.1.1 Derivatização**

Os carboidratos podem ser determinados utilizando-se cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com combinações apropriadas da fase estacionária e do sistema da detecção.

Como os carboidratos não apresentam ligações  $\pi$  conjugadas, não podem ser diretamente detectados por espectroscopia no ultravioleta visível (UV-VIS), requerendo, assim, derivatizações capazes de gerar subprodutos

fotometricamente ativos (DOMINGUES et al., 2014; PAULI; CRISTIANO; NIXDORF, 2011).

O reagente de 1-fenil-3-metil-5-pirazolona (PMP), com forte absorvância no UV a 245 nm, é um derivatizante para análises por HPLC, pois pode reagir com açúcares sob condições suaves, sem necessidade de catalisadores ácidos e que não provoca isomerização (DAI et al., 2010; WU et al., 2014). Por isso, nos últimos anos, tem sido amplamente utilizado para análise de monossacarídeos (LV et al., 2009; STEPAN; SATAUDACHER, 2011; STRYDOM, 1994; WU et al., 2014; YANG et al., 2012; ZHANG et al., 2013).

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. L. O. d'. **Celulose e papel**: tecnologia de fabricação de pasta celulósica. 2. ed. São Paulo: Instituto de Pesquisas do Estado de São Paulo, 1988. 2 v.

ANDRADE, E. N. **O eucalipto**. 2. ed. Jundiaí: Companhia Paulista de Estradas de Ferrop, 1961. 667 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CELULOSE E PAPEL. **Estatísticas Bracelpa**. Disponível em: <<http://Bracelpa.org.br>>. Acesso em: 10 jan. 2014.

ÁVILA, F.; SILVA, S.; LEÃO, N. V. M. **Árvores da Amazônia**. São Paulo: Empresa das Artes, 2006. 243 p.

BAI, L.; HU, H.; XU, J. Influences of configuration and molecular weight of hemicelluloses on their paper-strengthening effects. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 88, n. 4, p. 1258-1263, May 2012.

BARBOSA, L. C. A. et al. Determinação da relação siringila/guaiacila da lignina em madeiras de eucalipto por pirólise acoplada à cromatografia gasosa e espectrometria de massas (PI-CG/EM). **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 8, p. 2035-2041, 2008.

BARNETO, A. G. et al. Thermogravimetry study of xylanase- and laccase/mediator-treated eucalyptus pulp fibres. **Bioresource Technology**, Essex, v. 102, n. 19, p. 9033-9039, Oct. 2011.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste**: especialmente do Ceará. 4. ed. Natal: UFRN, 1960. 540 p.

CADENA, E. M.; VIDAL, T.; TORRES, A. L. Influence of the hexenuronic acid content on refining and ageing in eucalyptus TCF pulp. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, n. 10, p. 3554-3560, May 2010.

CLAY, J. W.; SAMPAIO, P. T. B.; CLEMENT, C. R. **Biodiversidade amazônica: exemplos e estratégia de utilização**. Manaus: SEBRAE/INPA, 2000. 409 p.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: UNICAMP, 2006. 452 p.

DAI, J. et al. Sugar compositional determination of polysaccharides from *Dunaliella salina* by modified RP-HPLC method of precolumn derivatization with. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 82, n. 4, p. 629-635, Nov. 2010.

DEUTSCHLE, A. L. et al. Effects of cationic xylan from annual plants on the mechanical properties of paper. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 102, p. 627-635, Feb. 2014.

DOMINGUES, D. S. et al. Detection of roasted and ground coffee adulteration by HPLC by amperometric and by post-column derivatization UV-Vis detection. **Food Chemistry**, London, v. 146, n. 1, p. 353-362, Mar. 2014.

DUEÑAS, R. S. **Obtención de pulpas y propiedades de las fibras para papel**. Guadalajara: Universidad de Guadalajara, 1997. 293 p.

FEDALTO, L. C.; MENDES, I. C. A.; CORADIN, V. T. R. **Madeiras da Amazônia: descrição do lenho de 40 espécies ocorrentes na Floresta Nacional do Tapajós**. Brasília: IBAMA, 1989. 156 p.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood chemistry: ultrastructure, reactions**. Berlin: Walter de Gruyter, 1989. 613 p.

GIERER, J. Chemical aspects of Kraft pulping. **Wood Science and Technology**, Zurich, v. 14, p. 241-266, 1980.

GULLICHSEN, J.; PAULAPURO, H. B. **Papermaking science and technology**: forest products chemistry. Helsinki: FAPET, 2000. 300 p.

HAMZEH, Y. et al. Pre-extraction of hemicelluloses from bagasse fibers: effects of dry-strength additives on paper properties. **Industrial Crops and Products**, London, v. 43, p. 365-371, May 2013.

HAN, W. et al. Study on the modification of bleached eucalyptus kraft pulp using birch xylan. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 88, n. 2, p. 719-725, Apr. 2012.

IBRAHIM, M. M.; EL-ZAWAWY, W. K.; NAWWAR, G. A. M. Modified kaolin and polyacrylic acid-g-cellulosic fiber and microfiber as additives for paper properties improvements. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 88, n. 3, p. 1009-1014, Apr. 2012.

INSTITUTO DO HOMEM E MEIO AMBIENTE DA AMAZÔNIA. **A atividade madeireira na Amazônia brasileira**: produção, receita e mercados. Belém, 2010. 32 p.

JONES, K. et al. The forensic analysis of office paper using carbon isotope ratio mass spectrometry: part 3, characterizing the source materials and the effect of production and usage on the  $\delta^{13}\text{C}$  values of paper. **Forensic Science International**, Lausanne, v. 233, n. 1/3, p. 355-364, Dec. 2013.

LI, S. et al. Carbohydrates analysis in herbal glycomics. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 52, p. 155-169, Dec. 2013.

LIMA, I. L. et al. Efeito do desbaste e da fertilização nas tensões de crescimento em *Eucalyptus grandis*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 70, p. 171-183, 2006.

LISBOA, S. A. B. **Dissolução e precipitação de xilanas durante o cozimento kraft de *E. Globulus***. 2008. 232 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade de Aveiro, Aveiro, 2008.

LONGUE JÚNIOR, D. et al. Effect of wood dissolved solids on kraft process performance. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 37, n. 84, p. 405-413, 2009.

LOUREIRO, A. A.; FREITAS, J. A.; FREITAS, C. A. A. **Essências madeireiras da Amazônia**. Manaus: MCT/INPA-CPPF, 1997. v. 3, 103 p.

LOUREIRO, A. A.; SILVA, M. F. **Catálogo das madeiras da Amazônia**. Belém: SUDAM, 1968. v. 1, 433 p.

LOUREIRO, A. A.; SILVA, M. F.; ALENCAR, J. C. **Essências madeireiras da Amazônia**. Manaus: INPA, 1979. v. 1, 432 p.

LV, Y. et al. Separation and qualification of component monosaccharides of the tea polysaccharides from *Gynostemma pentaphyllum* by HPLC with indirect UV detection. **Food Chemistry**, London, v. 112, n. 3, p. 742-746, Nov. 2009.

MAINIERI, C.; CHIMELO, J. P. **Fichas de características das madeiras brasileiras**. 2. ed. São Paulo: IPT, 1989. 420 p.

MARQUES, G. et al. Acetylated heteroxylan from *Agave sisalana* and its behavior in alkaline pulping and TCF/ECF bleaching. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 81, n. 3, p. 517-523, July 2010.

MENDES, C. V. T. et al. Valorisation of hardwood hemicelluloses in the kraft pulping process by using an integrated biorefinery concept. **Food and Bioproducts Processing**, Rugby, v. 87, n. 3, p. 197-207, Sept. 2009.

ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE LAS MADERAS TROPICALES. **Actualidad florestal tropical**. Yokohama, 2011. 27 p.

PALMEIRAS, L. P. S. et al. Análise comparativa entre os vários métodos de quantificação de hemiceluloses da madeira de eucalipto. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 7, p. 1569-1571, 2010.

PAULI, E. D.; CRISTIANO, V.; NIXDORF, S. L. Método para determinação de carboidratos empregado na triagem de adulterações em café. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 4, p. 689-694, 2011.

PERISSOTO, D. O. **Estudo comparativo das propriedades químicas de polpas kraft convencionais e mcc de eucalipto**. 2005.127 p. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

PINTO, P.; EVTUGUIN, D.; PASCOAL NETO, C. Structure of hardwood glucuronoxylans: modifications and impact on pulp retention during wood kraft pulping. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 60, n. 4, p. 489-497, June 2005.

PRINSEN, P. et al. Morphological characteristics and composition of lipophilic extractives and lignin in Brazilian woods from different eucalypt hybrids. **Industrial Crops and Products**, London, v. 36, n. 1, p. 572-583, Mar. 2012.

RAMOS, K. B. L. **Estudo anatômico macro e microscópico do lenho de seis espécies do gênero *Dipteryx* Schreber (Fabaceae) da Amazônia brasileira**. 1992. 90 p. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 1992.

RIZZINI, C. T. **Plantas do Brasil: árvores e madeiras úteis do Brasil: manual de dendrologia brasileira**. São Paulo: E. Bluche, 1971. 294 p.

SANTOS, E. **Nossas madeiras**. Belo Horizonte: Itatiaia, 1987. v. 7, 313 p.

SHI, J.; YANG, Q.; LIN, L. The structural features of hemicelluloses dissolved out at different cooking stages of active oxygen cooking process. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 104, p. 182-190, Apr. 2014.



SILVA, R. et al. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 661-671, 2009.

SIMÃO, J. P. F.; CARVALHO, M. G. V. S.; BAPTISTA, C. M. S. G. Heterogeneous studies in pulping of wood: Modelling mass transfer of dissolved lignin. **Chemical Engineering Journal**, Lausanne, v. 170, n. 1, p. 264-269, May 2011.

SJÖSTRÖM, E. **Wood chemistry fundamentals and applications**. New York: Academic, 1981. 223 p.

STEPAN, H.; SATAUDACHER, E. Optimization of monosaccharide determination using anthranilic acid and 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone for gastropod analysis. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 418, n. 1, p. 24-29, Nov. 2011.

STRYDOM, D. J. Chromatographic separation of 1-phenyl-3-methyl-5pyrazolone-derivatized neutral, acidic and basic aldoses. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 678, p. 17-23, 1994.

TAME, N. W.; DLUGOGORSKI, B. Z.; KENNEDY, E. M. Formation of dioxins and furans during combustion of treated wood. **Progress in Energy and Combustion Science**, Oxford, v. 33, n. 4, p. 384-408, Aug. 2007.

TAVARES, J. T. de Q. et al. Interferência do ácido ascórbico na determinação de açúcares redutores pelo método de lane e eynon. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 4, p. 805-809, 2010.

VASCONCELLOS, F. J. et al. **Madeiras tropicais de uso industrial do Maranhão: características tecnológicas**. Manaus: INPA/UFMA, 2001. 96 p.

VANHOLME, R. et al. Lignin biosynthesis and structure. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 153, n. 3, p. 895-905, July 2010.

VERÍSSIMO, A. et al. **Áreas para produção florestal manejada:** detalhamento do macro-zoneamento ecológico econômico do Estado do Pará: relatório para o governo do Estado do Pará. Belém: RL/2 Comunicação e Design, 2006. 81 p.

WU, X. et al. Analysis of the monosaccharide composition of water-soluble polysaccharides from *Sargassum fusiforme* by high performance liquid chromatography/electrospray ionisation mass spectrometry. **Food Chemistry**, London, v. 145, p. 976-983, Feb. 2014.

YANG, J. P. et al. Potential antidiabetic activity of extracellular polysaccharides in submerged fermentation culture of *Coriolus versicolor* LH1. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 90, n. 1, p. 174-180, Sept. 2012.

ZHANG, N.; ZHOU, X. F. Salen copper (II) complex encapsulated in Y zeolite: an effective heterogeneous catalyst for TCF pulp bleaching using peracetic acid. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, Amsterdam, v. 365, p. 66-72, Dec. 2012.

ZHANG, Z. et al. The immunological and antioxidant activities of polysaccharides extracted from *Enteromorpha linza*. **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 57, p. 45-49, June 2013.

**SEGUNDA PARTE - ARTIGOS**

**ARTIGO 1**

**QUANTIFICAÇÃO DE MONOSSACARÍDEOS DA MADEIRA DE  
CLONES DE EUCALIPTO E POLPAS KRAFT DESSES CLONES POR  
HPLC, UTILIZANDO DERIVATIZAÇÃO COM 1-FENIL-3-METIL-5-  
PIRAZOLONA (PMP)**

Deise Morone Perígolo <sup>a</sup>, Maria Lucia Bianchi <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras, Caixa Postal 3037,  
37200-000, Lavras, MG, Brasil

## RESUMO

Os açúcares da madeira são responsáveis por aumentar o rendimento durante o processo de polpação, além de influenciarem positivamente a qualidade do papel a ser produzido. Neste trabalho foi realizado um estudo dos monossacarídeos da madeira de clones de eucalipto e da polpa kraft desses clones por HPLC/DAD, a fim de investigar correlações entre os açúcares da madeira e da polpa e verificar o impacto dessas correlações nas características das polpas obtidas. No desenvolvimento da pesquisa foram utilizados nove clones de *Eucalyptus urograndis* com sete anos de idade e polpas kraft desses clones. Na quantificação dos açúcares foi utilizado um processo de derivatização dos monossacarídeos com 1-fenil-3-metil-5-pirazolona (1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone, PMP), a fim de torná-los fotometricamente ativos. Os resultados mostraram a existência de uma correlação linear entre os açúcares dos clones e das polpas, além de uma inversão de proporcionalidade entre os açúcares glicose e xilose na madeira e uma dependência entre glicose e ácido glucurônico nas polpas celulósicas.

Palavras-chave: Polpação. Derivatização. Açúcares da madeira.

## ABSTRACT

The wood sugars are responsible for the yield increase during pulping, and positively influence the quality of the paper to be produced. In this work, a study of monosaccharides from wood and pulp Kraft of eucalyptus' clones by HPLC / DAD was performed in order to investigate correlations between sugars from wood and pulp and verify the impact of these correlations on the characteristics of the pulps obtained. In the development of research was used wood and kraft pulp of nine clones of *Eucalyptus urograndis* seven years old. In a process quantification of sugars derivatization of monosaccharides with 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone (1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone, PMP), was used in order to make them active photometrically. The results showed the existence of a linear correlation between sugars and pulps of the clones, as well as a reversal of proportionality between the sugars glucose and xylose in the wood and a dependency between glucose and glucuronic acid in the pulps.

Keywords: Pulping. Derivatization. Sugars of wood.

## 1 INTRODUÇÃO

Os constituintes dos materiais lignocelulósicos, assim como sua identificação e avaliação quantitativa, são de grande importância, uma vez que dão origem às propriedades destes materiais e, conseqüentemente, às características dos produtos finais (polpas celulósicas, papéis, barris etc.) obtidos a partir desses (PALMEIRAS et al., 2010).

Dentre os principais constituintes das madeiras estão os polissacarídeos provenientes da celulose e hemiceluloses. A celulose é a matéria-prima principal na produção do papel, porém, as hemiceluloses têm importância significativa no processo de fabricação e nas características da polpa. Na produção da pasta, as hemiceluloses contribuem para o aumento do rendimento em polpa e facilitam a fabricação do papel, já que possibilitam maior hidratação das fibras, diminuindo o tempo de cozimento e economizando energia durante o processo de refino (COLODETTE et al., 2002; WAN; WANG; XIAO, 2010).

As hemiceluloses pertencem a um grupo de polímeros ramificados heterogêneos de baixo peso molecular (BAI; HU; XU, 2012) <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669012006000> - [bib0010](#) e que compreende uma grande variedade de monossacarídeos, incluindo xilose, arabinose, glucose, galactose, manose, frutose, ácido glucurônico e ácido galacturônico, dependendo da fonte (AYOUB et al., 2013).

Os açúcares constituintes dos polissacarídeos podem ser extraídos da madeira ou da polpa celulósica e quantificados facilmente por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC - *high performance liquid chromatography*) (JIANG et al., 2014; LI et al., 2013; SUKHBAATAR et al., 2014). Pelo fato de os carboidratos não apresentarem ligações  $\pi$  conjugadas, eles não podem ser diretamente detectados por espectroscopia no ultravioleta visível (UV-VIS),

requerendo, assim, derivatizações capazes de gerar subprodutos fotometricamente ativos (DAI et al., 2010; WU et al., 2014).

Inicialmente, deve-se realizar a hidrólise das cadeias de açúcares para obtenção dos monossacarídeos e, posteriormente, fazer a derivatização e a análise. O reagente 1-fenil-3-metil-5-pirazolona (3-methyl-5-pyrazolone – PMP) é amplamente utilizado em reações de derivatização de açúcares (HE et al., 2014; LI et al., 2013; LV et al., 2009; STEPAN; STAUDACHER, 2011; STRYDOM, 1994; WU et al., 2014; YANG et al., 2012; ZHANG et al., 2013), devido à rapidez da reação, às condições brandas do processo e aos procedimentos de purificação simples (WAN et al., 2013).

Neste trabalho buscou-se fazer a quantificação dos monossacarídeos presentes nas madeiras e nas polpas celulósicas obtidas a partir dessas madeiras, fazer a correlação entre resultados obtidos e verificar o impacto dessas correlações nas características das polpas obtidas.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material**

Para o presente trabalho foram utilizados nove clones de híbridos de *Eucalyptus urophylla* com *Eucalyptus grandis* (*urograndis*), aos sete anos de idade, procedentes de plantios comerciais da Celulose Nipo Brasileira (CENIBRA S.A.), localizada no município de Belo Oriente, Minas Gerais.

### **2.2 Amostragem**

Para cada material genético foram selecionadas cinco árvores. De cada árvore foram obtidos toretes que foram transformados em cavacos em um picador modelo Demuth, classificados em peneiras de 12,0 x 12,0 mm de abertura e classificados manualmente para a retirada de nós e de cavacos com defeito de corte. Em seguida, foram separados 10 kg de madeira de cada árvore e misturados, perfazendo uma amostra composta com o total de 50 kg de madeira por material genético que foram fracionados e armazenados em sacos de polietileno. Posteriormente, uma pequena parte dos cavacos foi moída e extraída com toluol e etanol, para retirar os extrativos e, posteriormente, realizar as análises dos açúcares da madeira. Grande parte dos cavacos foi utilizada na preparação das polpas celulósicas.

### **2.3 Análises químicas**



Parte dos cavacos de madeira foi transformada em serragem em moinho do tipo Willey. Utilizou-se nas análises apenas a fração que passa pela peneira de 40 mesh e fica retida na de 60 mesh (granulometria entre 2,5 e 4,2 mm).

Os teores de extrativos, lignina e de cinzas foram determinados conforme as especificações apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 Normas utilizadas para a determinação dos principais componentes químicos da madeira

ANÁLISE	NORMA (ABTCP, 1974)*
Teor de extrativos totais	M3/69
Teor de cinzas	M70/71
Teor de lignina (klason)	M11/77

\* Associação Brasileira Técnica de Celulose e Papel

## 2.4 Polpação kraft

Os cavacos foram exaustivamente lavados com água e passaram pelo processo de cozimento kraft em digestor laboratorial da CENIBRA. As condições de cozimento foram as seguintes: 400 g de cavaco, temperatura máxima de 170 °C e tempo até a temperatura máxima de 90 minutos. As cargas de álcali ativo (solução de diferentes concentrações de NaOH e Na<sub>2</sub>S que compõem o licor de cozimento) foram estabelecidas experimentalmente, de modo a obter polpas com número kappa 17±1 (grau de deslignificação no processo de produção de polpa celulósica). A individualização das fibras foi realizada em um *hydrapulper*. A polpa foi depurada em um depurador laboratorial, desaguada a, aproximadamente, 30% de consistência e armazenada em sacos de polietileno.



## 2.5 Hidrólise ácida

A hidrólise ácida para separação dos açúcares da madeira de eucalipto e das polpas kraft foi realizada com ácido sulfúrico 72%, em autoclave, por 1 hora, de acordo com as normas técnicas da ABTCP (1974).

### 2.6 Derivatização dos açúcares para análise por HPLC/DAD

Os açúcares foram derivatizados utilizando-se metodologia adaptada que se baseou em três diferentes trabalhos: Dai et al. (2010), Lv et al. (2009) e Strydom (1994). Foi realizada a adequação da metodologia para a realização das análises das amostras de madeira e polpa.

Soluções contendo os açúcares (2 mL), provenientes da hidrólise ácida, tiveram o pH ajustado para  $5,3 \pm 0,1$  com solução saturada de  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ . Após a neutralização, as amostras foram centrifugadas para a retirada do precipitado (sal de bário). O precipitado foi descartado e as amostras foram armazenadas em geladeira.

Amostras contendo os polissacarídeos (2 mL), juntamente com 90  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaOH}$  ( $0,3 \text{ mol.L}^{-1}$ ) e 50  $\mu\text{L}$  de solução metanólica de 1-fenil-3-metil-5-pirazolona (PMP  $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ ), foram colocadas em tubos de ensaio devidamente tampados e mantidas em banho termostaticado, a  $70 \text{ }^\circ\text{C}$ , com agitação ocasional, por 75 minutos. Após este período, os tubos foram retirados do banho, resfriados até temperatura ambiente e, então, adicionaram-se 90  $\mu\text{L}$  de  $\text{HCl}$  ( $0,3 \text{ mol. L}^{-1}$ ) em cada mistura. A solução resultante foi extraída com clorofórmio (2 mL) e o processo foi repetido três vezes. Em seguida, a camada aquosa foi filtrada através de uma membrana de  $0,45 \mu\text{m}$ .

### 2.6.1 Condições para análise cromatográfica

A quantificação dos açúcares da madeira e da polpa foi realizada por cromatografia líquida (HPLC), após hidrólise ácida. Foi utilizado um aparelho da marca Shimadzu, modelo Prominence, equipado com detector DAD (arranjo de diodos) injetor automático SIL – 20<sup>a</sup>, bombas LC-20AT, CBM-20<sup>a</sup> e DGU-20As, na Central de Análise e Prospecção Química (CAPQ), localizada no Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras. A coluna analítica utilizada foi uma Shim-pack VP-ODS (250 mm x 4,6 mm); o comprimento de onda de detecção no UV foi de 250 nm; a eluição foi realizada a uma taxa de 1,0 mL min<sup>-1</sup> a 35 °C e a fase móvel A consistiu de acetonitrila e a fase móvel B, de 0,045% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> em tampão trietilamina 0,05%, com pH ajustado para 4,75±0,0,5 com solução de KOH (3,0 mol L<sup>-1</sup>), usando o gradiente de eluição com redução linear mostrado na Tabela 2. O volume de injeção foi de 20 µl e as amostras foram injetadas em triplicata.

Tabela 2 Gradiente de eluição utilizado nas análises cromatográficas

Tempo (min)	Concentração de tampão - B (%)
00:00	90,0
06:20	89,6
20:00	89,0
30:00	86,0
40:00	90,0

### 2.6.2 Preparo das soluções padrão

As soluções padrões ( $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ) foram preparadas por dissolução de cada monossacarídeo padrão (glicose, xilose, arabinose, manose, galactose e ácido glucurônico) em uma solução aquosa contendo 10% de metanol. Para o preparo da curva de calibração externa, soluções padrões foram ainda obtidas por diluição adequada, com água ultrapura, das soluções padrões estoque. As soluções padrões foram filtradas em filtro de  $0,45 \mu\text{m}$ .

## **2.7 Tratamento dos dados**

Os dados foram tratados utilizando-se regressão linear.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram produzidas nove polpas, derivadas de nove clones de *Eucalyptus urograndis*. As polpas produzidas foram nomeadas como P1 a P9 e se originaram das madeiras dos eucaliptos E1 a E9, respectivamente.

A madeira é constituída, basicamente, por celulose, lignina, hemiceluloses, extrativos e cinzas. Já a polpa celulósica é constituída quase que totalmente por polissacarídeos (celulose e uma pequena parte de hemiceluloses). Os teores de holocelulose (polissacarídeos que incluem celulose e hemiceluloses) das madeiras de eucalipto foram obtidos por diferença e são apresentados na Tabela 3. Os teores de holocelulose da polpa foram considerados como sendo 100%.

Tabela 3 Teores de holocelulose das madeiras de eucalipto

<b>Madeira</b>	<b>Lignina</b> (%)	<b>Extrativos</b> (%)	<b>Cinzas</b> (%)	<b>Holo*</b> (%)
<b>E1</b>	31,0	5,6	0,30	63,10
<b>E2</b>	32,8	5,2	0,34	61,66
<b>E3</b>	29,8	4,2	0,16	65,84
<b>E4</b>	28,4	5,8	0,22	65,58
<b>E5</b>	30,2	4,8	0,24	64,76
<b>E6</b>	30,6	5,9	0,14	63,36
<b>E7</b>	29,0	5,4	0,18	65,42
<b>E8</b>	29,6	3,6	0,23	66,57
<b>E9</b>	30,0	4,8	0,31	64,89

\* Obtido por diferença

Os teores de holocelulose para as amostras não variam muito e isto se deve ao fato de as amostras serem provenientes de clones.

A constituição dos açúcares presentes nas madeiras e nas polpas kraft provenientes dessas madeiras foi investigada por meio do comportamento dos derivados de PMP.

Baseados em estudos de RMN, Honda, Suzuki e Taga (2003) chegaram à estrutura que é mostrada na Figura 1 para a glicose derivatizada com PMP.

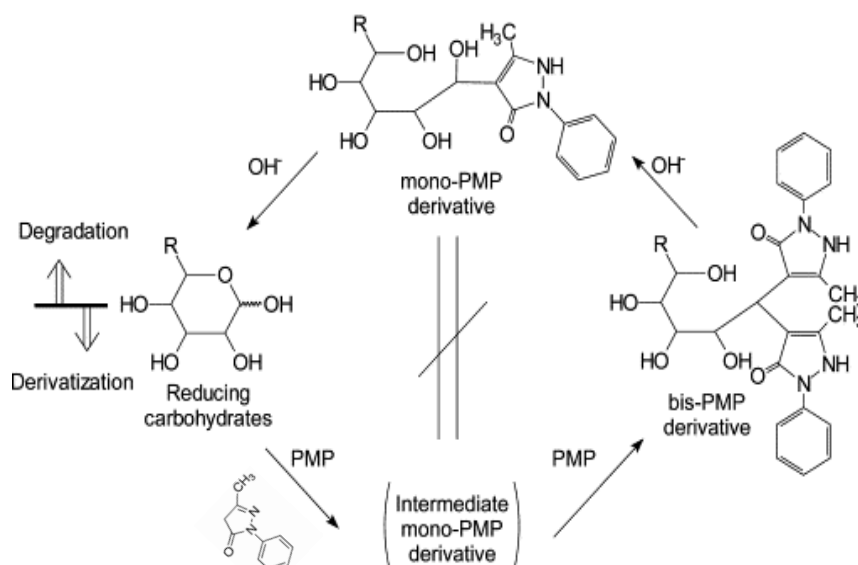


Figura 1 Derivatização de carboidrato com PMP em soluções alcalinas (HONDA; SUZUKI; TAGA, 2003)

A utilização de quantidades insuficientes de PMP resultou em um derivado de mono-PMP e a reação do derivado do mono-PMP com uma quantidade adicional de PMP resultou em bis-PMP. Esta evidência experimental indica que os grupos PMP foram introduzidos um a um para a extremidade redutora de um carboidrato redutor.

PMP é um tipo de ácido, pois pode existir em sua molécula o equilíbrio ceto-enólico, de maneira que o grupo ceto no anel de pirazolona pode ser convertido no grupo enol por tautomerismo (HONDA; SUZUKI; TAGA, 2003).

Além dos monossacarídeos que foram identificados e quantificados (glicose, xilose, galactose, arabinose, manose e ácido glucurônico) também se tentou separar e quantificar fucose, porém, a eluição deste açúcar



(aproximadamente 10 minutos) coincide com a eluição de impurezas, dificultando sua quantificação. Por isso este açúcar foi eliminado do trabalho.

Como pode ser visto na Figura 2, a separação da linha de base entre os seis monossacarídeos derivatizados com PMP foi alcançada. Os picos foram identificados comparando-se o tempo e a retenção dos picos desconhecidos com a dos padrões sob as mesmas condições, na seguinte ordem: ácido glucurônico, galactose, glicose, arabinose, xilose e manose.

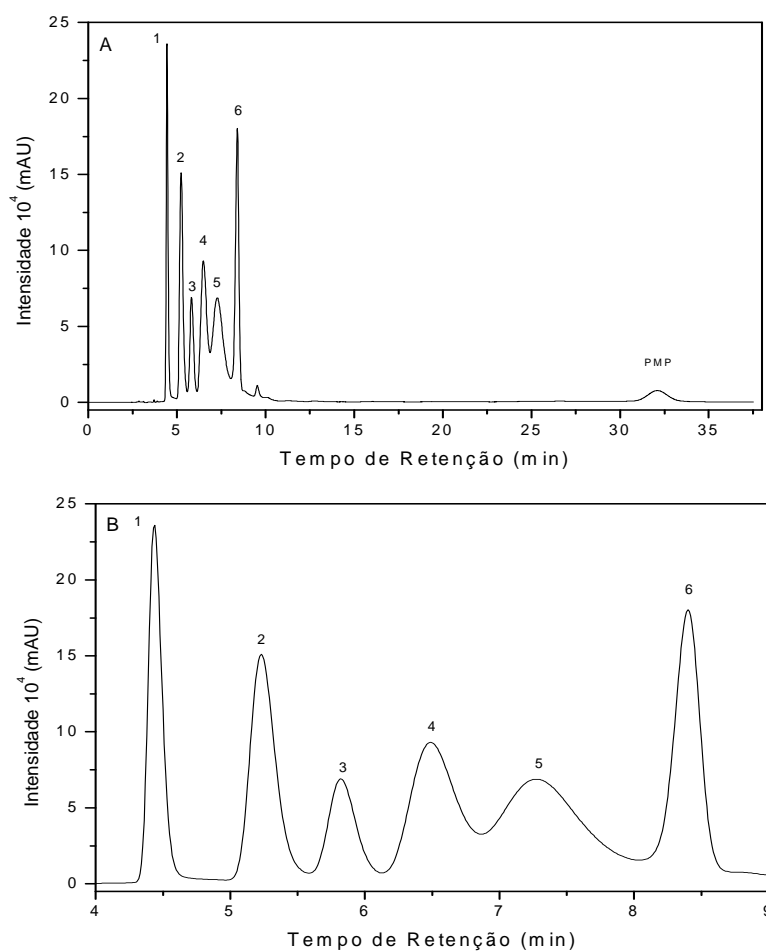


Figura 2 Cromatograma de HPLC obtidos dos padrões de seis monossacarídeos derivatizados com PMP. A: picos referentes aos monossacarídeos derivatizados e ao reagente PMP. B: região expandida do cromatograma (A). Picos: 1-ácido glucurônico, 2-galactose, 3-glicose, 4-arabinose, 5-xilose e 6-manose

O pico referente ao derivatizante PMP também foi identificado. Os monossacarídeos derivatizados eluíram no início da análise, enquanto o excesso

de PMP só foi notado após 30 minutos de corrida, assim como nos trabalhos realizados por Honda, Suzuki e Taga (2003).

O tempo de reação de derivatização das amostras se apresenta como um fator limitante, uma vez que a intensidade do pico de PMP tem sentido inverso ao tempo de reação, ou seja, quando a reação acontece em tempos inferiores a 75 minutos, a intensidade do pico de PMP é um pouco maior e, conseqüentemente, os picos dos monossacarídeos derivatizados são menos intensos.

Outro fator limitante observado durante as análises foi o pH da fase móvel B (0,045% de  $H_3PO_4$  e 0,05% de trietilamina). Neste trabalho ajustou-se o pH para 4,7-4,8 com solução de KOH. Notou-se que, para valores de pH maiores que 4,8 e menores que 4,7, a eluição não acontece de forma eficiente. A dependência da separação analítica dos monossacarídeos derivatizados em relação a pH ácidos já tinha sido averiguada por Strydom (1994). Hu et al. (2014) também estudaram os efeitos de diferentes pH básicos (tampão borato) como fase móvel na separação de monossacarídeos derivatizados com PMP. Em valores de pH inferiores 11 e superiores a 11,5 não foi possível a separação dos açúcares pela linha base, entretanto, em pH igual a 11 foi possível a separação.

O perfil dos cromatogramas referentes às madeiras de eucalipto (E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8 e E9) se mostrou bastante semelhante ao do cromatograma dos padrões. Já nos cromatogramas referentes às polpas kraft (P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8 e P9), o pico referente ao derivatizante PMP foi bem mais intenso que os picos dos açúcares. Os cromatogramas referentes a uma amostra de eucalipto e uma amostra de polpa são apresentados na Figura 3.

Existe correlação entre as quantidades de açúcares existentes na madeira de eucalipto e na polpa kraft destas madeiras. O valor de  $R^2$  foi significativo ( $R > 0,97$ ), para todas as amostras.

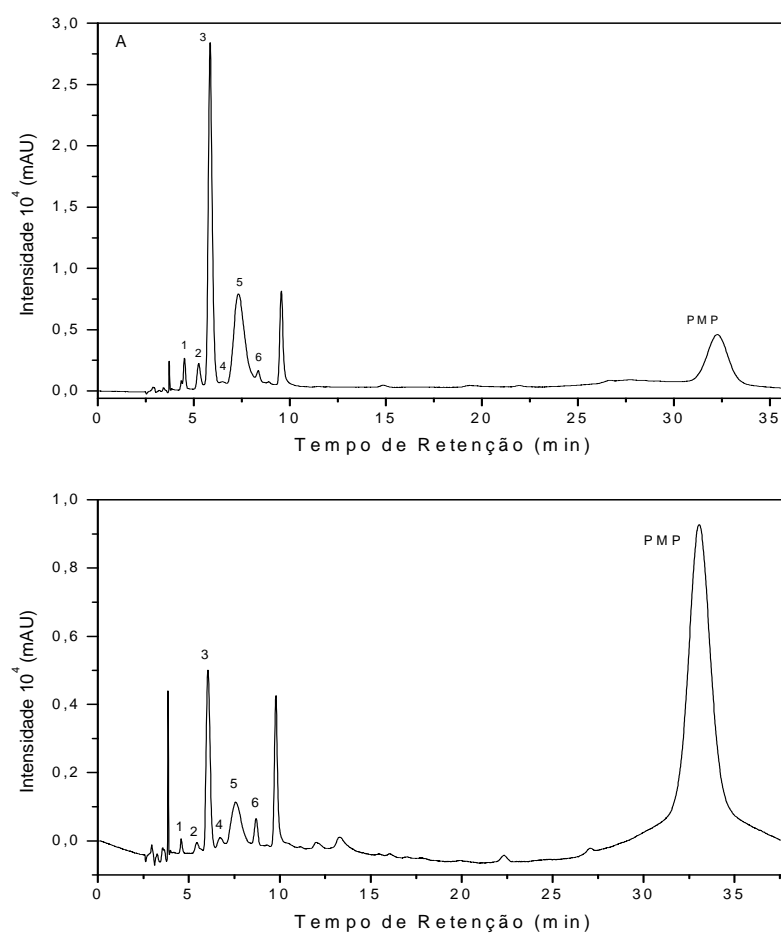


Figura 3 A - cromatograma da madeira de eucalipto. B - cromatograma de polpa de eucalipto. Picos: 1-ácido glucurônico, 2-galactose, 3-glicose, 4-arabinose, 5-xilose e 6-manose

As polpas (P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8 e P9) foram produzidas de forma a apresentarem kappa igual a  $17 \pm 1$ , ou seja, a mesma quantidade de lignina. Como cada madeira tem um teor de lignina diferente, a quantidade de

álcali ativo (NaOH e Na<sub>2</sub>S) no processo de polpação de cada madeira (E1 a E9) varia, para que seja possível obter polpas com mesma quantidade de lignina. Neste trabalho observou-se que a variação da quantidade de álcali ativo (AA), durante o processo de polpação, não está diretamente correlacionada com a quantidade de cada monossacarídeo encontrada e também a quantidade de lignina não se correlaciona com o teor de monossacarídeos.

Os teores de ácido glucurônico, galactose, glicose, arabinose, xilose e manose dos clones de eucalipto e das polpas foram quantificados a partir dos monossacarídeos derivatizados e são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 Teores de açúcares (ácido glucurônico, galactose, glicose, arabinose, xilose e manose) dos clones e das polpas de eucalipto

	<b>Ácido Glucurônico</b>	<b>Galactose</b>	<b>Glicose</b>	<b>Arabinose</b>	<b>Xilose</b>	<b>Manose</b>
<b>E1 (%)</b>	2,57	1,84	73,81	0,11	19,46	2,21
<b>P1 (%)</b>	7,05	1,60	61,77	0,69	20,87	8,01
<b>E2 (%)</b>	2,95	2,08	69,52	0,41	22,89	2,16
<b>P2 (%)</b>	8,12	2,95	58,57	1,83	19,96	8,57
<b>E3 (%)</b>	2,37	1,28	74,71	0,09	19,04	2,51
<b>P3 (%)</b>	2,17	0,54	81,74	0,08	13,79	1,68
<b>E4 (%)</b>	2,83	2,26	65,94	0,20	26,83	1,94
<b>P4 (%)</b>	2,20	0,49	79,78	0,09	15,64	1,81
<b>E5 (%)</b>	3,05	1,45	67,34	0,16	25,28	2,71
<b>P5 (%)</b>	5,57	1,27	65,39	0,43	21,12	6,23
<b>E6 (%)</b>	2,91	1,49	71,89	0,14	21,51	2,06
<b>P6 (%)</b>	4,07	0,98	69,61	0,24	21,07	4,03
<b>E7 (%)</b>	2,74	1,57	66,78	0,19	26,81	1,92
<b>P7 (%)</b>	7,49	1,71	59,41	1,02	20,92	9,40
<b>E8 (%)</b>	2,91	1,63	69,67	0,18	23,02	2,58
<b>P8 (%)</b>	2,33	0,49	79,37	0,09	15,90	1,81
<b>E9 (%)</b>	2,72	1,77	71,44	0,15	21,97	1,95
<b>P9 (%)</b>	8,80	2,05	60,77	0,65	17,71	10,01

Maiores quantidade de glicose, seguida de xilose, foram encontradas para as amostras, assim como baixos teores de ácido glucurônico, manose, galactose e arabinose. Essas proporções para os clones de eucalipto estão de acordo com as apresentadas por Fengel e Wegener (1989). As proporções de monossacarídeos encontradas neste trabalho, tanto da polpa quanto da madeira, também estão de acordo com os valores encontrados por Pascoal Neto (2005).

Mais de 50% de todo material lignocelulósico é constituído de celulose, que é formada exclusivamente por moléculas de glicose (ALMEIDA, 1988). As hemiceluloses dos eucaliptos são basicamente constituídas de xilanas (MAGATON; PILÓ-VELOSO; COLODETTE, 2008). Assim, eram esperados altos valores de glicose e xilose para a madeira eucalipto.

O teor de polissacarídeos, que inclui a celulose e as hemiceluloses, pode representar entre 60% e 80% da massa de material lignocelulósico livre de extrativos (ALMEIDA, 1988) e constitui um indicador importante do rendimento em polpa. No entanto, o rendimento em polpa também varia com a razão entre os teores de celulose e hemiceluloses na madeira. A perda de massa que ocorre ao longo da polpação deve-se à remoção de lignina e também como o resultado de solubilização de extrativos e de uma redução gradual do teor de polissacarídeos (LOURENÇO et al., 2013).

O rendimento percentual das polpas e a perda de glicose e xilose das polpas são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 Rendimento em massa e perda de glicose e xilose no processo de polpação

	<b>Rendimento em massa (%)</b>	<b>Perda de Glicose (%)</b>	<b>Perda de Xilose (%)</b>
<b>P1 (%)</b>	48,60	35,54	17,41
<b>P2 (%)</b>	48,00	34,41	32,11
<b>P3 (%)</b>	51,40	14,58	43,47
<b>P4 (%)</b>	50,50	6,83	55,12
<b>P5 (%)</b>	51,00	23,53	34,21
<b>P6 (%)</b>	45,80	30,01	29,16
<b>P7 (%)</b>	48,90	33,50	41,67
<b>P8 (%)</b>	48,70	16,66	49,47
<b>P9 (%)</b>	51,20	32,88	36,38

O rendimento percentual das polpas não variou muito (45,8-51,2). Teores semelhantes foram também encontrados por Pinto, Evtuguin e Pascoal Neto (2005).

Para madeiras de eucalipto, a perda de hemiceluloses durante a polpação kraft pode alcançar valores consideráveis (50%-60%). A perda significativa de hemiceluloses durante a polpação se deve a vários fatores inerentes à sua estrutura química, como baixo peso molecular, baixa cristalinidade, ramificação de suas cadeias poliméricas, baixa estabilidade dos monômeros (xilose, galactose, manose, arabinose e raminose), e à presença de grupos acetila (LONGUE JÚNIOR; COLODETTE, 2011).

A quantidade de glicose e xilose na madeira são inversamente proporcionais ( $R^2 > 0,97$ ), ou seja, quanto maior a quantidade de glicose, menor a de xilose (Figura 4).

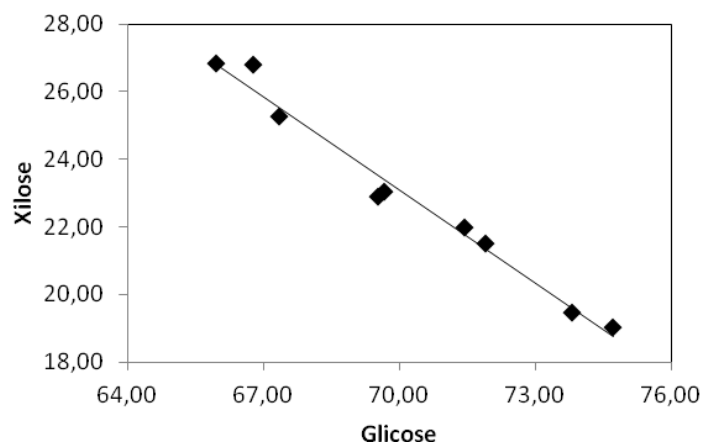


Figura 4 Correlação linear entre a quantidade de glicose e xilose na madeira

Essa dependência também foi encontrada por Pinto, Evtuguin e Pascoal Neto (2005). Para as polpas celulósicas, a correlação entre glicose e xilose deixa de ser significativa ( $R^2 = 0,65$ ). Em compensação, a glicose na polpa celulósica passa a se relacionar com a quantidade de ácido glucurônico presente ( $R^2 > 0,94$  - Figura 5), e esta correlação não estava presente na madeira ( $R^2 = 0,44$ ).



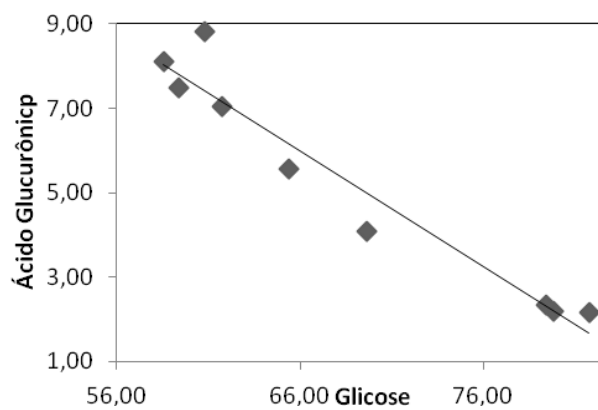


Figura 5 Correlação linear entre a quantidade de ácido glucurônico e glicose na polpa celulósica

#### **4 CONCLUSÃO**

Análises de composição de monossacarídeos, utilizando o método de HPLC/DAD baseado em derivatização com PMP, foram realizadas. As condições cromatográficas foram otimizadas, de forma a obter uma separação efetiva. O pH da fase móvel e o tempo de reação de derivatização são fatores limitantes durante a análise.

Os monossacarídeos da madeira de eucalipto e da polpa kraft foram quantificados e os resultados mostraram correlação linear entre os açúcares da madeira e da polpa, além de uma dependência entre os teores de glicose e xilose para as madeiras e entre glicose e ácido glucurônico, para as polpas celulósicas.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. L. O. d'. Composição química dos materiais lignocelulósicos. In: \_\_\_\_\_. **Celulose e papel: tecnologia de fabricação da pasta celulósica**. São Paulo: Instituto de Pesquisas do Estado de São Paulo, 1988. v. 1, p. 46-115.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA TÉCNICA DE CELULOSE E PAPEL. **Normas técnicas ABTCP**. São Paulo, 1974.

AYOUB, A. et al. Development of an acetylation reaction of switchgrass hemicellulose in ionic liquid without catalyst. **Industrial Crops and Products**, London, v. 44, p. 306-314, Jan. 2013.

BAI, L.; HU, H.; XU, J. Influences of configuration and molecular weight of hemicelluloses on their paper-strengthening effects. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 88, n. 4, p. 1258-1263, May 2012.

COLODETTE, J. L. et al. Influence of pulping conditions on eucalyptus kraft pulp yield, quality, and bleachability TIME AT. **Tappi Journal**, Atlanta, v. 1, n. 1, p. 14-20, Mar. 2002.

DAI, J. et al. Sugar compositional determination of polysaccharides from *Dunaliella salina* by modified RP-HPLC method of precolumn derivatization with 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 82, n. 3, p. 629-635, Oct. 2010.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood chemistry: ultrastructure, reactions**. Berlin: Walter de Gruyter, 1989. 356 p.

HE, R. et al. Partial characterization, antioxidant and antitumor activities of polysaccharides from *Philomyces bilineatus*. **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 65, p. 573-580, Jan. 2014.

HONDA, S.; SUZUKI, S.; TAGA, A. Analysis of carbohydrates as 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone derivatives by capillary/microchip electrophoresis and capillary electrochromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Amsterdam, v. 30, n. 6, p. 1689-1714, Jan. 2003.

HU, Y. et al. Analysis of compositional monosaccharides in fungus polysaccharides by capillary zone electrophoresis. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 102, p. 481-488, Feb. 2014.

JIANG, H. et al. Efficient extraction and characterization of polymeric hemicelluloses from hybrid poplar. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 101, p. 1005-1012, Jan. 2014.

LI, S. et al. Carbohydrates analysis in herbal glycomics. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 52, p. 155-169, Dec. 2013.

LONGUE JÚNIOR, D.; COLODETTE, J. L. Remoção de hemiceluloses da madeira por tratamento de auto-hidrólise. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 21, n. 3, p. 541-550, mar. 2011.

LOURENÇO, A. et al. Py-GC/MS(FID) assessed behavior of polysaccharides during kraft delignification of Eucalyptus globulus heartwood and sapwood. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, New York, v. 101, p. 142-149, May 2013.

LV, Y. et al. Separation and qualification of component monosaccharides of the tea polysaccharides from *Gynostemma pentaphyllum* by HPLC with indirect UV detection. **Food Chemistry**, London, v. 112, n. 3, p. 742-746, Feb. 2009.

MAGATON, A. da S.; PILÓ-VELOSO, D.; COLODETTE, J. L. Caracterização das O-Acetil-(4-O-Metilglicurono)xilanas isoladas da madeira de *Eucalyptus urograndis*. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1085-1088, 2008.

PALMEIRAS, L. P. S. et al. Análise comparativa entre os vários métodos de quantificação de hemiceluloses da madeira de eucalipto. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 7, p. 1569-1571, 2010.

PASCOAL NETO, C. et al. Química da madeira de eucalyptus globulus: especificidades e impacto nos processos de cozimento e de branqueamento. **Pasta e Papel**, Aveiro, v. 6, p. 32-43, 2005.

PINTO, P.; EVTUGUIN, D.; PASCOAL NETO, C. Structure of hardwood glucuronoxylans: modifications and impact on pulp retention during wood kraft pulping. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 60, n. 4, p. 489-497, June 2005.

STEPAN, H.; SATAUDACHER, E. Optimization of monosaccharide determination using anthranilic acid and 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone for gastropod analysis. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 418, n. 1, p. 24-29, Dec. 2011.

STRYDOM, D. J. Chromatographic separation of 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone-derivatized neutral, acidic and basic aldoses. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 678, p. 17-23, 1994.

SUKHBAATAR, B. et al. Optimization of hot-compressed water pretreatment of bagasse and characterization of extracted hemicelluloses. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 101, p. 196-202, Jan. 2014.

WAN, D. et al. Identification of isomeric disaccharides in mixture by the 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone labeling technique in conjunction with electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 780, p. 36-45, May 2013.

WAN, J.; WANG, Y.; XIAO, Q. Effects of hemicellulose removal on cellulose fiber structure and recycling characteristics of eucalyptus pulp. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, n. 12, p. 4577-4583, July 2010.

WU, X. et al. Analysis of the monosaccharide composition of water-soluble polysaccharides from *Sargassum fusiforme* by high performance liquid chromatography/electrospray ionisation mass spectrometry. **Food Chemistry**, London, v. 145, p. 976-983, Feb. 2014.

YANG, J. P. et al. Potential antidiabetic activity of extracellular polysaccharides in submerged fermentation culture of *Coriolus versicolor* LH1. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 90, n. 1, p. 174-180, Sept. 2012.

ZHANG, Z. et al. The immunological and antioxidant activities of polysaccharides extracted from *Enteromorpha linza*. **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 57, p. 45-49, July 2013.

**ARTIGO 2**

**ESTUDO DO POTENCIAL DE ESPÉCIES AMAZÔNICAS NA  
PRODUÇÃO DE BARRIS PARA O ARMAZENAMENTO DE BEBIDAS**

Deise Morone Perígolo<sup>a</sup>, Maria Lucia Bianchi<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras, Caixa Postal 3037,  
Lavras, MG, Brasil

## RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de realizar a separação, a identificação e a quantificação dos monossacarídeos presentes em algumas espécies de madeiras amazônicas, angelim-pedra (*Hymenolobium petraeum* Ducke), Cumarurana (*Dipteryx polyphylla* (Huber) Ducke), jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) e louro-vermelho (*Nectandra rubra* (Mez) C.K. Allen), para verificar o potencial delas na produção de barris para o envelhecimento de bebidas destiladas. Na quantificação dos açúcares foi utilizado um processo de derivatização dos monossacarídeos com 1-fenil-3-metil-5-pirazolona (PMP). Os açúcares encontrados nas espécies madeireiras estudadas também foram encontrados na madeira do carvalho (*Quercus* sp.). Nos resultados encontrados, a madeira de jatobá é a que mais se assemelha ao carvalho, que é a mais utilizada no armazenamento de bebidas, indicando, assim, um possível potencial dessa espécie para tal finalidade.

Palavras-chave: Bebidas destiladas. Monossacarídeos. Madeiras amazônicas.



### ABSTRACT

This work was carried out in order to accomplish the separation, identification and quantification of monosaccharides present in some species of Amazonian woods, stone angelim (*Hymenolobium petraeum* Ducke), Cumarurana (*Dipteryx polyphylla* (Huber) Ducke), Jatoba (*L Hymenaea. .*) and blond-red (*Nectandra rubra* (Mez) CK Allen), to verify their potential in the production of barrels for aging spirits. In a process quantification of sugars derivatization of monosaccharides was used with 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone (PMP). The sugars found in the studied timber species were also found in the wood of oak (*Quercus* sp.). The results, the wood jatoba that most resembles the oak, which is frequently used in beverage storage, thus indicating a possible potential of this species for this purpose.

Keywords: Distilled drinks. Monosaccharides. Amazonian woods.

## 1 INTRODUÇÃO

Algumas bebidas, para que adquiram as características sensoriais desejadas pelos consumidores, necessitam passar por um processo de envelhecimento que, comumente, é realizado em barris de madeira.

A madeira tradicionalmente empregada na fabricação de barris é o carvalho, pois ela apresenta maior número de propriedades desejáveis ao processo, tais como cor, cheiro, durabilidade natural, permeabilidade, trabalhabilidade, densidade e resistência mecânica (RODRÍGUEZ MADRERA; GARCÍA HEVIA; SUÁREZ VALLES, 2013).

A qualidade da madeira para a confecção de barris é influenciada por uma série de variáveis capazes de alterar as propriedades gustativas e olfativas, bem como a cor das bebidas (LEÃO, 2006).

Barris de carvalho são de difícil aquisição para os produtores brasileiros por não ser uma árvore nativa no Brasil e, normalmente, são reutilizados barris anteriormente empregados para o envelhecimento de outras bebidas alcoólicas. Além disso, não se encontram no mercado barris de distintas capacidades e o custo deles é elevado. Por isso, tem-se observado uma crescente busca por madeiras nativas que possam ser aplicadas na fabricação de barris (BORTOLETTO; ALCARDE, 2013; CANAS; CALDEIRA; BELCHIOR, 2013).

O Brasil tem grande diversidade florestal, principalmente na região norte. A região da Amazônia abriga, aproximadamente, 2,5 mil espécies de árvores, cujas madeiras são diversificadas, quanto à sua estrutura anatômica e às propriedades tecnológicas (PAULA; ALVES, 1997). Mesmo com toda essa diversidade florestal, o país importa barris de madeira para o envelhecimento de bebidas destiladas. Ainda há grande carência de estudos sistemáticos para a

caracterização dos compostos extraídos de cada tipo de madeira, durante o envelhecimento da aguardente (ZACARONI, 2009).

Os estudos encontrados na literatura investigam os teores de compostos fenólicos presentes nas bebidas envelhecidas e por isso enfatizam suas pesquisas na lignina. Ainda existem, para este fim, poucos estudos com as hemiceluloses.

Castro (2012) estudou a composição química de quatro espécies madeireiras amazônicas e os resultados encontrados para densidade básica, extrativos, lignina e holocelulose são apresentados na Tabela 1.

A composição química das madeiras foi, ainda, estudada por Santana e Okino (2007), que também encontraram valores semelhantes aos relatados por Castro (2012).

Os valores de densidade básica, extrativos totais, lignina e holocelulose para o carvalho, que é a madeira mais utilizada para o envelhecimento de cachaça, foram estudados por Mori et al. (2003) e seus resultados são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 Composição química das madeiras amazônicas (CASTRO, 2012) e do carvalho (MORI et al., 2003)

	Angelim-pedra	Cumarurana	Jatobá	Louro-vermelho	Carvalho
<b>Densidade (g/cm<sup>3</sup>)</b>	0,615	0,742	0,789	0,535	0,626
<b>Extrativos (%)</b>	31,77	33,28	31,88	33,63	10,47
<b>Lignina (%)</b>	11,52	9,56	12,78	9,60	25,9
<b>Holocelulose (%)</b>	56,15	56,76	54,98	56,51	65,22

As madeiras estudadas apresentaram menores teores de holocelulose e de lignina e maiores teores de extrativos, em relação ao carvalho, mas as densidades básicas são próximas. A densidade básica é uma importante

propriedade da madeira. A quantidade de tecido lenhoso por unidade de volume ou a quantidade de espaços vazios presentes na madeira podem alterar a densidade. Madeiras de alta densidade apresentam volume menor de espaços vazios (MENDES et al., 2001).

Os extrativos da madeira passam para a cachaça durante o armazenamento e trazem os componentes aromatizantes peculiares da espécie e, quanto maior a quantidade de compostos aromatizantes, maior também é o aroma incorporado à bebida, pela madeira (CATÃO et al., 2011). As madeiras da Amazônia, nos estudos de Castro (2012), têm uma quantidade bem maior de extrativos.

A lignina origina os compostos fenólicos que são mais observados em bebidas envelhecidas (ROVER; BROWN, 2013). Além dos compostos fenólicos, os polissacarídeos são macromoléculas importantes que podem passar para a bebida, durante o armazenamento (MORI et al., 2003).

Na busca por madeiras alternativas ao carvalho na produção de barris para o envelhecimento de bebidas destiladas, este trabalho consistiu em estudar as hemiceluloses de quatro espécies amazônicas: angelim-pedra (*Hymenolobium petraeum* Ducke), cumarurana [*Dipteryx polyphylla* (Huber) Ducke], jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) e louro-vermelho [*Nectandra rubra* (Mez) C.K. Allen]) e compará-las com as hemiceluloses da madeira de carvalho, para indicar o potencial dessas espécies amazônicas no armazenamento de bebidas destiladas.

## **2 METODOLOGIA**

### **2.1 Coleta do material**

As espécies estudadas foram; Angelim-pedra (*Hymenolobium petraeum* Ducke); Cumarurana [*Dipteryx polyphylla* (Huber) Ducke]; Jatobá (*Hymenaea courbaril* L.); e Louro-vermelho [*Nectandra rubra* (Mez) C.K. Allen]. As árvores de cada espécie foram coletadas na área de manejo no município de Silves, AM, na fazenda Monte Verde, da empresa *Precious Woods Amazon*.

### **2.2 Preparo do material**

As madeiras foram transformadas em serragem, com auxílio de um moinho martelo e moinho tipo Wiley. Posteriormente, as amostras foram classificadas a partir de um conjunto de peneiras de 40 a 60 mesh. Utilizou-se, nas análises, apenas a fração que passa pela peneira de 40 mesh e fica retida na de 60 mesh (granulometria entre 2,5 e 4,2 mm).

### **2.3 Extrativos**

A remoção dos extrativos foi realizada com toluol e álcool etílico, de acordo com as normas técnicas da Associação Brasileira Técnica de Celulose e Papel - ABTCP (1974).

## 2.4 Hidrólise ácida

A hidrólise ácida para a separação dos açúcares das madeiras foi realizada com ácido sulfúrico 72%, em autoclave, por 1 hora, de acordo com as normas técnicas da ABTCP (1974).

## 2.5 Derivatização dos açúcares para análise por HPLC/DAD

Os açúcares foram derivatizados utilizando-se metodologia adaptada que se baseou em três diferentes trabalhos: Dai et al. (2010), Lv et al. (2009) e Strydom (1994), permitindo a adequação da metodologia para a realização das análises das amostras de madeira e polpa.

Soluções contendo os açúcares (2 mL), provenientes da hidrólise ácida, tiveram o pH ajustado para  $5,3 \pm 0,1$  com solução saturada de  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ . Após a neutralização, as amostras foram centrifugadas para a retirada do precipitado (sal de bário). O precipitado foi descartado e as amostras foram armazenadas em geladeira.

Amostras contendo os polissacarídeos (2 mL), juntamente com 90  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaOH}$  ( $0,3 \text{ mol.L}^{-1}$ ) e 50  $\mu\text{L}$  de solução metanólica de 1-fenil-3-metil-5-pirazolona ( $\text{PMP}-0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ ), foram colocadas em tubo de ensaio devidamente tampados e mantidos em banho termostaticado, a  $70^\circ\text{C}$ , com agitação ocasional, por 75 minutos. Após este período, os tubos foram retirados do banho, resfriados até temperatura ambiente e, então, adicionaram-se 90  $\mu\text{L}$  de  $\text{HCl}$  ( $0,3 \text{ mol. L}^{-1}$ ) a cada mistura. A solução resultante foi extraída com clorofórmio (2 mL) e o processo foi repetido três vezes. Em seguida, a camada aquosa foi filtrada através de uma membrana de  $0,45 \mu\text{m}$ .

### 2.5.1 Condições para análise cromatográfica

A identificação dos açúcares das madeiras amazônicas foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), após hidrólise ácida e derivatização. Foi utilizado um aparelho da marca Shimadzu, modelo Prominece, equipado com detector DAD (arranjo de diodos) injetor automático SIL – 20<sup>a</sup>, bombas LC-20AT, CBM-20<sup>a</sup> e DGU-20As, na Central de Análise e Prospecção Química (CAPQ), localizado no Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras. A coluna analítica utilizada foi uma Shim-pack VP-ODS (250 mm x 4,6 mm). O comprimento de onda de detecção de UV foi de 250 nm; a eluição foi realizada a uma taxa de fluxo de 1,0 ml / min a 35 °C; a fase móvel A consistiu de acetonitrila e a fase móvel B, de 0,045% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> tampão trietilamina 0,05%, com pH ajustado para 4,75±0,05, com solução de KOH (3,0 mol L<sup>-1</sup>), utilizando-se o gradiente de eluição com redução linear mostrado na Tabela 1. O volume de injeção foi de 20 µl e as amostras foram injetadas em triplicata.

Tabela 1 Gradientes de eluição utilizados nas análises cromatográficas

<b>Tempo (min)</b>	<b>Concentração de tampão - B (%)</b>
00:00	90,0
06:20	89,6
20:00	89,0
30:00	86,0
40:00	90,0

### **2.6.2 Preparo das soluções padrão**

As soluções padrões ( $2,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) foram preparadas por dissolução de cada monossacarídeo padrão em uma solução aquosa contendo 10% de metanol. Para o preparo da curva de calibração externa, soluções padrão foram ainda obtidas por diluição adequada das soluções padrões estoques com água ultrapura. As soluções padrões foram filtradas em filtro de  $0,45 \mu\text{m}$ .



### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Quando a bebida é armazenada em barris de madeira, sofre influência direta de seus constituintes (ZACARONI, 2009). Para avaliar o potencial das madeiras amazônicas para o armazenamento de bebidas alcoólicas, o tipo e a quantidade de monossacarídeos presentes nessas madeiras foram estudados.

A composição dos açúcares foi determinada utilizando-se derivatização dos monossacarídeos com PMP. Os cromatogramas dos monossacarídeos padrões, derivatizados com PMP, são apresentados na Figura 1.

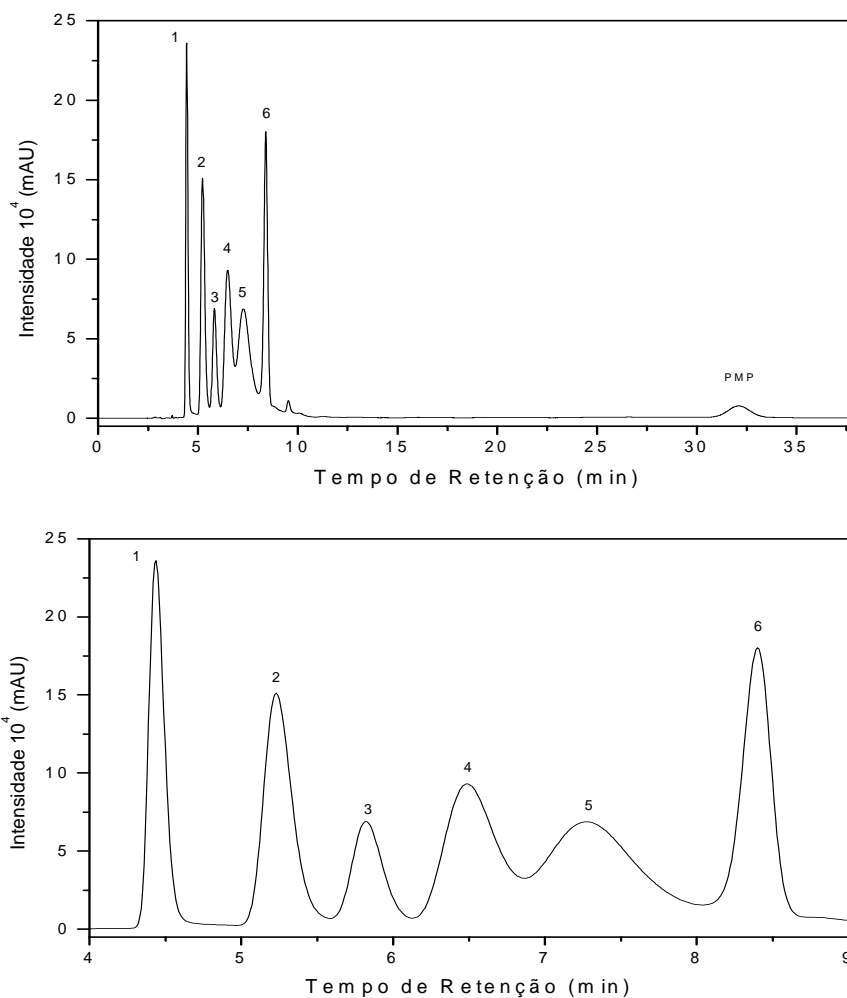


Figura 1 Cromatograma de HPLC obtidos dos padrões de seis monossacarídeos derivatizados com PMP. (A): picos referentes aos monossacarídeos derivatizados ao reagente PMP. (B): região expandida do cromatograma: 1. ácido glucurônico, 2.galactose, 3. glicose, 4. arabinose, 5.xilose e 6.manose

Os cromatogramas referentes às amostras de madeiras amazônicas são apresentados na Figura 2.

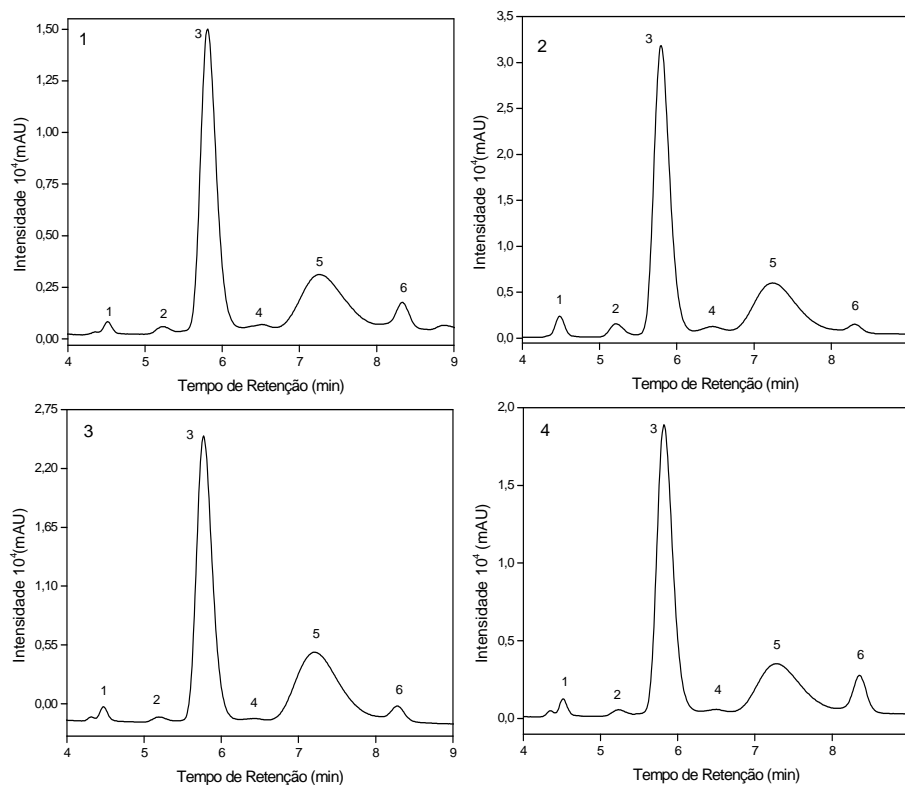


Figura 2 Cromatogramas obtidos das madeiras amazônicas: 1 – angelim-pedra, 2 – cumarurana, 3 - jatobá e 4 - louro-Vermelho.

Santana e Okino (2007) também realizaram separação e quantificação de monossacarídeos das madeiras de angelim-pedra, cumarurana, jatobá e louro-vermelho, utilizando um equipamento de cromatografia líquida, porém, equipado com um detector de índice de refração, que também é bastante utilizado em análises de açúcares, pois não necessita de derivatização (Figura 3).

Contudo, a separação dos picos pela linha base, obtida no estudo feito por Santana e Okino (2007), é de resolução inferior às separações obtidas no presente trabalho.

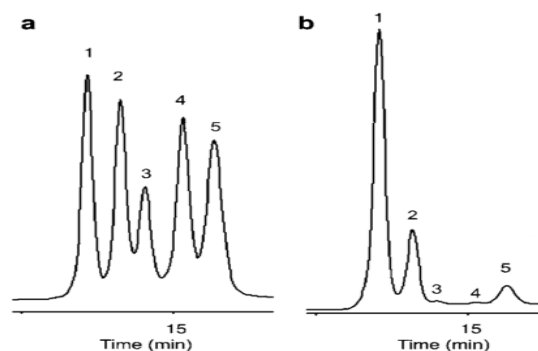


Figura 3 Cromatogramas obtidos por Santana e Okira (2007). Cromatograma a: padrões. Cromatograma b: uma amostra hidrolisada. Picos: 1-glicose, 2-xilose, 3-galactose, 4-arabinose e 5-manose.

Os teores de monossacarídeos obtidos neste trabalho, para as espécies angelim-pedra, cumarurana, jatobá e louro-vermelho e os monossacarídeos do floema do carvalho, obtidos por Sen et al. (2010), são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 Teores de monossacarídeos para as madeiras amazônicas angelim-pedra, cumarurana, jatobá e louro-vermelho, obtidos neste trabalho e para o carvalho (floema), obtido por Sen et al. (2010)

	<b>Angelim-pedra</b>	<b>Cumarurana</b>	<b>Jatobá</b>	<b>Louro-vermelho</b>	<b>Carvalho Floema (%)</b>
<b>Ácid. Gluc. (%)</b>	1,81	3,30	2,46	1,91	–
<b>Galactose (%)</b>	0,72	1,64	0,82	0,73	3,60
<b>Glicose (%)</b>	84,35	73,27	68,24	83,19	47,20
<b>Arabinose (%)</b>	0,08	0,67	0,20	0,08	6,60
<b>Xilose (%)</b>	10,50	19,11	25,76	10,07	40,30
<b>Manose (%)</b>	2,55	2,00	2,52	4,03	1,30
<b>Ramnose (%)</b>	–	–	–	–	1,00

A glicose é o monossacarídeo predominante em todas as espécies. Isso era esperado, uma vez que os resultados foram expressos em relação aos teores de holocelulose e as celulosas das madeiras foram quebradas, por hidrólise ácida, em moléculas de glicose.

Maiores teores de glicose, seguida de xilose, manose, ácido glucurônico, galactose e arabinose, para 36 espécies amazônicas, também foram encontrados por Santana e Okino (2007). Em algumas dessas espécies, o teor de arabinose não foi significativo.

O principal monossacarídeo do carvalho é glicose (47,2% do total de açúcares monoméricos neutros), enquanto a xilose foi o açúcar não celulósico dominante, indicando a presença de xilanas como as principais hemiceluloses.

Os teores de ramnose não foram estudados neste trabalho, pois se restringiu apenas aos açúcares mais abundantes. No trabalho de Sen et al. (2010) não foram indicados os teores de ácido glucurônico para o carvalho, mas isso não significa que não existem esses ácidos nessa madeira, mas apenas que eles não foram quantificados.

A quantidade dos açúcares glicose e xilose das espécies amazônicas estudadas apresentaram uma relação de proporcionalidade ( $R^2 > 0,98$ ), ou seja, quanto maior a quantidade de glicose, menor a de xilose. Verificou-se, ainda, correlação entre os valores de densidade básica das madeiras e os açúcares glicose ( $R^2 > 0,87$ ) e xilose ( $R^2 > 0,89$ ).

Os açúcares encontrados no carvalho foram também encontrados nas madeiras de angelim-pedra, cumarurana, jatobá e louro-vermelho, indicando uma possível semelhança na constituição das hemiceluloses destas espécies.

#### 4 CONCLUSÃO

O método de derivatização com PMP para a separação dos açúcares por HPLC/DAD se mostrou tão eficiente quanto as separações realizadas por Santana e Okira (2007), que utilizaram detecção direta por HPLC/RID.

As madeiras analisadas têm constituição química bastante semelhante. Altos teores de glicose e baixos teores de arabinose foram encontrados para as quatro espécies examinadas.

A madeira de jatobá foi a que mais se aproximou do carvalho em relação aos monossacarídeos presentes, porém, o uso dessa madeira para o armazenamento de bebidas ainda depende de algumas análises, como, por exemplo, análises sensoriais. Nos estudos realizados por Castro (2012) e Zacaroni (2009), o jatobá também apresentou características mais próximas às apresentadas pelo carvalho.

## REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA TÉCNICA DE CELULOSE E PAPEL. **Normas técnicas ABTCP**. São Paulo, 1974.

BORTOLETTO, A. M.; ALCARDE, A. R. Congeners in sugar cane spirits aged in casks of different woods. **Food Chemistry**, London, v. 139, n. 1/4, p. 695-701, Aug. 2013.

CANAS, S.; CALDEIRA, I.; BELCHIOR, A. P. Extraction/oxidation kinetics of low molecular weight compounds in wine brandy resulting from different ageing technologies. **Food Chemistry**, London, v. 138, n. 4, p. 2460-2467, June 2013.

CASTRO, J. P. **Análises química e física de madeiras amazônicas visando o Armazenamento de bebida destilada**. 2012. 85 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia da Madeira) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

CATÃO, C. G. et al. Qualidade da madeira de cinco espécies florestais para o envelhecimento da cachaça. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 6, p. 741-747, 2011.

DAI, J. et al. Sugar compositional determination of polysaccharides from *Dunaliella salina* by modified RP-HPLC method of precolumn derivatization with. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 82, n. 3, p. 629-635, Oct. 2010.

LEÃO, M. M. **Influência do termotratamento na composição química da madeira de (*Amburana cearensis*), bálsamo (*Myroxylon balsamum*) e carvalho (*Quercus sp.*) e o impacto no aroma de uma modelo de cachaça**. 2006. 86 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2006.

LV, Y. et al. Separation and qualification of component monosaccharides of the tea polysaccharides from *Gynostemma pentaphyllum* by HPLC with indirect UV detection. **Food Chemistry**, London, v. 112, n. 3, p. 742-746, Feb. 2009.

MENDES, L. M. et al. Influência da qualidade da madeira no envelhecimento de aguardentes. In: CARDOSO, M. G. (Ed.). **Produção artesanal de aguardente**. Lavras: UFLA, 2001. p. 191-227.

MORI, F. A. et al. Utilização de eucaliptos e de madeiras nativas no armazenamento da aguardente de cana-de-açúcar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 3, p. 396-400, 2003.

PAULA, J. E.; ALVES, J. L. H. **Madeiras nativas**: anatomia, dendrologia, dendrometria, produção e uso. Brasília: Fundação Mokiti Okada, 1997. 544 p.

RODRÍGUEZ MADRERA, R.; GARCÍA HEVIA, A.; SUÁREZ VALLES, B. Comparative study of two aging systems for cider brandy making: changes in chemical composition. **LWT - Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 54, n. 2, p. 513-520, Dec. 2013.

ROVER, M. R.; BROWN, R. C. Quantification of total phenols in bio-oil using the Folin-Ciocalteu method. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, New York, v. 104, p. 366-371, Nov. 2013.

SANTANA, M. A. E.; OKINO, E. Y. A. Chemical composition of 36 Brazilian Amazon forest wood species. **Holzforschung**, Berlin, v. 61, n. 5, p. 469-477, Jan. 2007.

ŞEN, A. et al. The chemical composition of cork and phloem in the rhytidome of *Quercus cerris* bark. **Industrial Crops and Products**, London, v. 31, n. 2, p. 417-422, Mar. 2010.



STRYDOM, D. J. Chromatographic separation of 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone-derivatized neutral, acidic and basic aldoses. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 678, p. 17-23, 1994.

ZACARONI, L. M. **Compostos fenólicos e cumarinas**: certificação de um método analítico para caracterização e quantificação em aguardentes de cana envelhecidas em barris de diferentes espécies de madeira. 2009. 156 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

## CONSIDERAÇÕES GERAIS

Dentre os materiais de origem biológica, a madeira é um dos mais conhecidos e utilizados, pois contém grande variedade de substâncias que são utilizadas como matérias-primas em diversos campos da química e da tecnologia.

A produção de polpa e de papel a partir da madeira requer uma série de processos que têm por objetivo isolar as fibras de celulose e chegar aos diversos tipos de matéria-prima (polpa ou pasta). A composição química da madeira é um fator determinante para muitas das propriedades do papel, cuja porção fibrosa é formada, principalmente, por celulose e hemiceluloses.

No primeiro artigo deste trabalho buscou-se quantificar os açúcares constituintes das hemiceluloses de nove clones de eucalipto e polpas kraft desses clones, para identificar possíveis correlações entre estes açúcares. A separação e a quantificação dos açúcares foram realizadas por HPLC/DAD, utilizando-se derivatização com 1-fenil-3-metil-5-pirazolona (PMP). Os resultados mostraram correlação linear entre os monossacarídeos da madeira e da polpa, além de uma dependência entre as quantidades de glicose e de xilose para a madeira e entre glicose e ácido glucurônico para as polpas celulósicas.

A região amazônica tem grande diversidade florestal, abrigando cerca de 2,5 mil diferentes espécies de árvores, porém, com toda essa diversidade florestal o Brasil importa barris de madeira de carvalho, que não é nativo do país, para o envelhecimento de bebidas, a fim de dar às bebidas destiladas características sensoriais desejáveis pelos consumidores. Esses barris importados são de difícil aquisição e elevado custo, além de não serem encontrados no mercado com capacidades distintas.

Alguns trabalhos foram realizados com o objetivo de buscar alternativas para o envelhecimento de bebidas destiladas, porém, eles se restringem apenas aos estudos dos compostos fenólicos e, conseqüentemente, da lignina. Existem, na literatura, poucos estudos correlacionando as hemiceluloses das madeiras com o envelhecimento de bebidas.

No segundo artigo deste trabalho realizou-se o estudo de quatro espécies madeireiras amazônicas (angelim-pedra, cumarurana, jatobá e louro-vermelho) e fez-se uma comparação com dados obtidos na literatura sobre o carvalho. A separação e a quantificação dos açúcares foram realizadas por HPLC/DAD, utilizando-se derivatização com PMP. Os resultados encontrados mostraram que a madeira de jatobá é a que mais se assemelha ao carvalho, apresentando potencial para o armazenamento de bebidas destiladas.