

CRISTIANA RESENDE MARCELO

**DETERMINAÇÃO DA RELAÇÃO SIRINGILA/GUAIACILA EM
LIGNINAS DE *Eucalyptus* spp. POR PIRÓLISE ASSOCIADA À
CROMATOGRAFIA GASOSA E À ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Agroquímica, para obtenção do título
de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2007

CRISTIANA RESENDE MARCELO

**DETERMINAÇÃO DA RELAÇÃO SIRINGILA/GUAIACILA EM
LIGNINAS DE *Eucalyptus* spp. POR PIRÓLISE ASSOCIADA À
CROMATOGRÁFIA GASOSA E À ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-graduação em
Agroquímica, para obtenção do título
de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 24 de agosto de 2007.

Prof^a. Célia Regina Álvares Maltha

Prof. Antônio Augusto Neves

Prof. Luiz Cláudio de Almeida Barbosa
(Co-Orientador)

Prof. Jorge Luiz Colodette
(Co-Orientador)

Prof. Cláudio Ferreira Lima
(Orientador)

“A ciência é a procura da verdade;
não é um jogo no qual uma pessoa tenta
derrubar seus oponentes,
prejudicar outras pessoas...”

Linus Pauling

A Deus.

Aos meus pais, Osmar e Dora.

Aos meus irmãos, Fabiano e Luciana.

Ao meu sobrinho Guilherme.

Aos meus familiares.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por toda força, sabedoria e serenidade para alcançar mais esta conquista.

Aos meus pais, por serem os responsáveis pelo que sou hoje.

A toda minha família, pelo amor e apoio constante e incondicional, em especial à minha irmã.

Ao meu namorado, pelo amor sincero, paciência e amparo que recebi sempre que precisei.

Ao Professor Cláudio Ferreira Lima, por todos os conhecimentos transmitidos, pela confiança em mim depositada e pela sincera amizade.

Aos membros da banca examinadora pela participação, em especial aos conselheiros pela atenção e colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

Ao grande amigo Flaviano, pelo constante auxílio e incentivo.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Química (DEQ), pela oportunidade de realizar este curso de Pós-graduação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e (CAPES) pelo suporte financeiro.

Aos amigos Marcelo, Cléber, Kamilla, Ulisses, Vanessa, Viviane, Juracir, Patrícia, Frederico, Raphael, Cleiton, Rodrigo, Leandro, Jaqueline, Cristiane, Eduardo, Róbson, Andréia e Fernando, pelo companheirismo e amizade.

Às minhas amigas de república, Fernanda, Daniela, Renata, Fabiana, Amanda, Marina e Débora, pelo imensurável apoio e convivência agradável.

Aos funcionários do DEQ, em especial ao José Luiz, pela cooperação, auxílio e amizade, acima de tudo.

Aos amigos do DEQ, pelo companheirismo.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

CRISTIANA RESENDE MARCELO, filha de Osmar Leite Marcelo e Maria das Dores Resende Marcelo, nasceu em 09 de abril de 1982, em Itaquaquetuba, São Paulo.

Em março de 2001, iniciou o Curso de Química na Universidade Federal de Viçosa, graduando-se em julho de 2005. Durante a graduação trabalhou na área de química orgânica e físico-química no Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa.

Em agosto de 2005, iniciou o Curso de Mestrado em Agroquímica na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, sob a orientação do Professor Doutor Cláudio Ferreira Lima. Nesse tempo desenvolveu seus trabalhos no Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA) e no Laboratório de Celulose e Papel (LCP), submetendo-se à defesa da dissertação em agosto de 2007.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xii
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUÇÃO.....	1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
1 Madeira.....	3
1.1 Definição.....	3
1.2 Composição química.....	4
1.2.1 Celulose e hemicelulose.....	4
1.2.2 Lignina.....	6
1.2.3 Outros constituintes químicos.....	8
2 Lignina: aspectos fundamentais.....	11
2.1 Conceito e classificação.....	11
2.2 Biossíntese.....	14
2.3 Relevância na indústria de celulose e papel.....	18
3 Caracterização estrutural de ligninas.....	20
4 Pirólise Analítica.....	22
4.1 Fundamentos.....	22

4.2 Pirólise de lignina.....	23
4.3 Estudo da relação S/G por Pi-CG-EM.....	25
MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
1 Preparo das amostras.....	26
1.1 Material bruto.....	26
1.2 Obtenção das serragens.....	26
1.3 Remoção dos extrativos.....	27
2 Métodos analíticos empregados na determinação da relação siringila/guaiacila (S/G).....	27
2.1 Oxidação alcalina com nitrobenzeno.....	27
2.2 Degradação térmica por Pi-CG-EM.....	28
3 Quantificação das unidades de lignina.....	29
4 Resumo das atividades desenvolvidas.....	30
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
1 Aspectos qualitativos da pirólise da madeira de eucalipto.....	31
2 Aspectos quantitativos da pirólise da madeira de eucalipto.....	39
3 Determinação da relação siringila/guaiacila (S/G).....	42
4 Variabilidade da relação S/G nas espécies de eucalipto.....	47
CONCLUSÕES.....	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
ANEXOS.....	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura química parcial da celulose.....	5
Figura 2	Estrutura química parcial das hemiceluloses de angiospermas e gimnospermas.....	5
Figura 3	Estrutura química dos precursores das unidades de lignina.....	6
Figura 4	Estrutura química parcial da lignina.....	7
Figura 5	Esquema de numeração dos átomos de carbono da unidade estrutural básica da lignina.....	8
Figura 6	Exemplos de componentes químicos presentes nos extrativos da madeira.....	10
Figura 7	Estrutura proposta para lignina presente em madeira de gimnosperma.....	12
Figura 8	Estrutura proposta para lignina presente em madeira de angiosperma.....	13
Figura 9	Rota biossintética dos precursores das unidades <i>p</i> -hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S), partindo da fenilalanina.....	15
Figura 10	Estruturas de ressonância formadas a partir do álcool coniferílico e os possíveis pontos de polimerização.....	16
Figura 11	Subunidades estruturais presentes em ligninas.....	17
Figura 12	Principais reações elementares envolvidas no processo pirolítico de compostos orgânicos.....	23

Figura 13	Caminho da degradação térmica da ligação β -O-4 presente nas estruturas de lignina.....	24
Figura 14	Fluxograma das atividades desenvolvidas.....	30
Figura 15	Pirograma da madeira de <i>Eucalyptus globulus</i>	32
Figura 16	Compostos originados da pirólise dos carboidratos presentes em madeiras de <i>Eucalyptus</i> spp.....	34
Figura 17A	Compostos originados da pirólise da lignina presente em madeiras de <i>Eucalyptus</i> spp.....	35
Figura 17B	Compostos originados da pirólise da lignina presente em madeiras de <i>Eucalyptus</i> spp.....	36
Figura 18	Rota da termodegradação da lignina.....	38
Figura 19	Gráfico da relação S/G obtida pelos métodos de oxidação com nitrobenzeno e de Pi-CG/EM utilizando os marcadores de lignina, considerando as seis espécies analisadas.....	44
Figura 20	Gráfico da relação S/G obtida pelos métodos de oxidação com nitrobenzeno e de Pi-CG/EM utilizando os marcadores de lignina, desprezando a espécie <i>E. globulus</i>	45
Figura 21	Gráfico da variação de S/G nas espécies de eucalipto.....	47

Figura 1A	Piogramas da serragem de <i>Eucalyptus dunnii</i> (triplicatas).....	58
Figura 1B	Piogramas da serragem de <i>Eucalyptus globulus</i> (triplicatas).....	59
Figura 1C	Piogramas da serragem de <i>Eucalyptus grandis</i> (triplicatas).....	60
Figura 1D	Piogramas da serragem de <i>Eucalyptus nitens</i> (triplicatas).....	61
Figura 1E	Piogramas da serragem de <i>Eucalyptus</i> <i>urograndis</i> (triplicatas).....	62
Figura 1F	Piogramas da serragem de <i>Eucalyptus urophylla</i> (triplicatas).....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Principais compostos identificados por Pi-CG-EM em madeira de <i>Eucalyptus</i> spp.....	32
Tabela 2	Compostos representantes das classes químicas dos fenóis, aldeídos fenólicos e cetonas fenólicas produzidos pela termodegradação da lignina em madeira de <i>Eucalyptus</i> spp.....	37
Tabela 3	Valores da área relativa média dos compostos identificados nas amostras de serragem de <i>Eucalyptus</i> spp.....	39
Tabela 4	Valores da relação siringila/guaiacila (S/G) estimados nas amostras de <i>Eucalyptus</i> spp. por Pi-CG-EM e oxidação com nitrobenzeno.....	42
Tabela 5	Área relativa dos marcadores encontrados pela pirólise da lignina e a relação siringila/guaiacila das seis espécies de eucalipto.....	43
Tabela 6	Áreas absolutas dos sinais dos marcadores e os valores de S/G para as seis espécies de eucalipto....	46

LISTA DE ABREVIATURAS

a.s.	Absolutamente seca
C	Carboidratos
CAD	Álcool cinamoil desidrogenase
CCoAOMT	Cafeoil-coenzima A O-metiltransferase
CCR	Cinamoil-coenzima A redutase
CG	Cromatografia gasosa
C3H	Cumarato 3-hidroxilase
C4H	Cinamato 4-hidroxilase
4CL	4-Cumarato-coenzima A ligase
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
COMT	Cafeato/5-hidroxiferulato O-metiltransferase
EM	Espectrometria de massas
F5H	Ferulato 5-hidroxilase
G	Unidade guaiacila
H	Unidade <i>p</i> -hidroxifenila
LG	Lignina guaiacila
LGS	Lignina guaiacila-siringila
LHG	Lignina <i>p</i> -hidroxifenila-guaiacila
LHGS	Lignina <i>p</i> -hidroxifenila-guaiacila-siringila
LM	Derivado de modificado de lignina
LS	Lignina siringila
NI	Não identificado
PAL	Fenilalanina amonialiase
Pi-CG-EM	Pirólise associada à cromatografia gasosa e à espectrometria de massas
S	Unidade siringila
S/G	Relação siringila/guaiacila
S/V	Relação siringaldeído/vanilina
TFA	Ácido trifluoroacético

RESUMO

MARCELO, Cristiana Resende, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Agosto de 2007. **Determinação da relação siringila/guaiacila em ligninas de *Eucalyptus* spp. por pirólise associada à cromatografia gasosa e à espectrometria de massas.** Orientador: Cláudio Ferreira Lima. Co-Orientadores: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa e Jorge Luiz Colodette.

A lignina é um dos principais componentes da madeira, juntamente com a celulose e a hemicelulose. Sua estrutura é bastante complexa, constituída pelas unidades *p*-hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S). Estudos mostram que a composição estrutural de lignina pode afetar o processo de polpação. Neste trabalho, foram realizadas análises da madeira de seis espécies de eucalipto por Pi-CG-EM. As amostras foram pirolisadas a 550 °C e 42 compostos foram identificados, sendo 11 derivados de carboidratos e 31 derivados de lignina. A relação siringila/guaiacila (S/G) foi calculada com base nos valores de área dos sinais registrados no pirograma, e comparada com o resultado obtido pelo método de oxidação alcalina com nitrobenzeno. Os valores estimados por pirólise não foram satisfatórios para todas as espécies, principalmente para *Eucalyptus globulus*. No entanto, ao utilizar os compostos guaiacol, 4-metilguaiacol, 4-vinilguaiacol, vanilina, 4-etilsiringol, 4-vinilsiringol, homosiringaldeído, acetosiringona e siringilacetona, como marcadores de lignina, verificou-se uma melhoria nos resultados, exceto para a amostra de *E. globulus*. No caso dessa espécie, necessitou-se a adição de mais um marcador, o *trans*-4-propenilsiringol. Comparando a variabilidade da relação S/G nas espécies de eucalipto, a que apresentou menor valor foi *E. urograndis* (2,0), praticamente a metade do valor encontrado para *E. globulus* (4,3). A metodologia proposta empregando os marcadores de lignina mostrou-se útil na determinação da relação S/G em madeiras de eucalipto por Pi-CG-EM, em função da rapidez de análise, do consumo de pequenas quantidades de amostra e da possibilidade de trabalhar com o material *in situ*.

ABSTRACT

MARCELO, Cristiana Resende, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August of 2007. **Determination of the syringyl/guaiacyl ratio in lignin of *Eucalyptus* spp. by pyrolysis associated to both gas chromatography and mass spectrometry.** Adviser: Cláudio Ferreira Lima. Co-Advisers: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa and Jorge Luiz Colodette.

Lignin is one of the main components of the wood together with cellulose and hemicellulose. Its structure is quite complex being built up by *p*-hydroxyphenyl (H), guaiacyl (G) and syringyl (S) units. Some studies show that the lignin structural composition may affect the pulping process. Thus, some analyses of the wood of six species of eucalyptus were done by Py-GC-MS. The samples were pyrolysed to 550 °C and 42 compounds were identified from which 11 were derived from carbohydrates and 31 from lignin. The syringyl/guaiacyl (S/G) ratio was calculated based upon the area values of the recorded signals and compared to the result obtained by the alkaline nitrobenzene oxidation method. The estimative values through pyrolysis were not satisfactory for all the species, principally for *Eucalyptus globulus*. However, there were some improvements in the results when the guaiacol, 4-methylguaiacol, 4-vinylguaiacol, vanillin, 4-ethylsyringol, 4-vinylsyringol, homosyringaldehyde, acetosyringone and syringylacetone compounds were used as lignin markers, except for *E. globulus*. For this particular species, it was necessary to add one more marker, the trans-4-propenylsyringol. By comparing the variability of S/G ratio in the eucalyptus species, the one which had the lowest value was *E. urograndis* (2,0), almost half the value found for *E. globulus* (4,3). The proposed methodology employing the lignin markers was useful for the establishment of S/G ratio in eucalyptus wood by Py-GC-MS for the quickness of the analysis, the consumption of small amounts of the sample and the possibility of working with the material *in situ*.

Introdução

A indústria de papel e celulose tem significativo valor no cenário mundial. O Brasil é um dos principais países representantes do setor, destacando-se, sobretudo, na produção de celulose de fibra curta.

O eucalipto é uma importante fonte de fibra curta, sendo atualmente, a matéria-prima mais utilizada na produção de celulose e papel. Essa preferência deve-se ao seu rápido ciclo de crescimento, tornando-o economicamente atraente no âmbito comercial. Além disso, o país detém tecnologia de ponta no processo de cultivo florestal, alcançando altos índices de produtividade.

Outro fator relevante é a elevada variabilidade química e estrutural encontrada nas madeiras de suas espécies. Práticas científicas e tecnológicas apontam que diferentes espécies de eucaliptos necessitam também de diferentes condições processuais de cozimento e de branqueamento para atingir o mesmo grau de deslignificação e de brancura, respectivamente.

Dentre as espécies, *Eucalyptus globulus* é a de maior destaque, uma vez que apresenta características economicamente favoráveis na transformação da madeira em polpa celulósica. Uma dessas características refere-se ao maior conteúdo de estruturas siringila em comparação às guaiacila, ou seja, maior relação S/G existentes em suas ligninas.

A lignina é um dos principais constituintes químicos da madeira, estando em segundo lugar em abundância no reino vegetal. É um componente bastante complexo e, por isso, alvo de vários estudos na área da Química da Madeira, principalmente naqueles voltados para a indústria de celulose e papel. Entretanto, essa complexidade dificulta a sua caracterização, tornando-se crescente o interesse em desenvolver métodos analíticos capazes de determinar com rapidez e sensibilidade as unidades estruturais da lignina.

Nesse contexto, a pirólise associada à cromatografia gasosa e à espectrometria de massas (Pi-CG-EM) tem sido introduzida como uma ferramenta eficiente e vantajosa em relação aos métodos tradicionais de análise da relação siringila/guaiacila (S/G) em ligninas de madeira. Porém, a maioria dos estudos empregando a pirólise analítica está voltada para espécies típicas de clima frio, como por exemplo, *Eucalyptus globulus*. Recentemente, Silva (2006) obteve resultados satisfatórios na determinação da relação S/G por Pi-CG-EM em ligninas de árvores tropicais brasileiras. Entretanto, foram utilizados apenas os clones da espécie *Eucalyptus grandis* e do híbrido *Eucalyptus urograndis* (*E. grandis* x *E. urophylla*).

Considerando a grande variedade de espécies cultivadas mundialmente, torna-se necessária a busca de novas informações sobre a composição química e estrutural da lignina presente nas madeiras. A melhor compreensão do seu comportamento no processo industrial de polpa celulósica é crucial para a seleção de clones, otimização dos processos e melhoria da qualidade do produto final, além da redução do impacto ambiental causado pelas empresas do setor.

Diante desses fatores, o objetivo deste trabalho é aplicar a metodologia proposta por Silva (2006) para determinar a relação siringila/guaiacila (S/G) em ligninas presentes nas madeiras de diferentes espécies de eucalipto, visando avaliar a eficiência da técnica Pi-CG-EM.

Revisão Bibliográfica

1 MADEIRA

1.1 Definição

Do ponto de vista botânico, o termo “madeira” refere-se ao xilema secundário formado pela divisão da célula no câmbio vascular de ambas gimnospermas e angiospermas (HON e SHIRAIISHI, 2001). O câmbio ou região cambial trata-se de uma camada de células existente entre a casca interna do caule (floema) e a região lenhosa do vegetal (xilema).

A madeira é um material constituído estruturalmente por vários elementos celulares, unidos entre si, formando tecidos diferenciados conforme a função que desempenham, e que variam de acordo com a classificação da planta. Por exemplo, em madeiras de gimnospermas (também chamadas de madeira mole ou *softwood*), os traqueídeos são as células responsáveis tanto pelas funções de condução quanto de sustentação, enquanto em madeiras de angiospermas (madeira dura ou *hardwood*), as células que desempenham essas funções são respectivamente os elementos de vasos e as fibras (ROWELL, 2005).

Entretanto, em termos químicos, a madeira é definida como um compósito tridimensional constituído por uma interconexão de polímeros naturais, além de pequenas quantidades de extrativos e de compostos inorgânicos (ROWELL, 2005). Trata-se de um material bastante complexo, sendo que as substâncias que a compõe estão distribuídas em distintos percentuais e suas concentrações podem variar em diferentes regiões morfológicas.

1.2 Composição química

A madeira é composta fundamentalmente pelos componentes macromoleculares celulose, hemicelulose e lignina. Os dois primeiros representam a principal porção de carboidratos contida na madeira, que formam uma combinação denominada holocelulose. Pode-se dizer que as hemiceluloses envolvem o esqueleto de celulose e estão intimamente associadas à lignina, sendo que esta última confere rigidez ao conjunto (MORAIS *et al.*, 2005).

Além desses, outros compostos como polissacarídeos menores, extrativos e sais inorgânicos também fazem parte da composição química da madeira, mas de uma forma menos representativa.

1.2.1 Celulose e Hemicelulose

A celulose é o mais abundante material orgânico existente na terra (HON e SHIRAIISHI, 2001). É um polímero linear de moléculas de celobiose que constitui aproximadamente 45% da massa seca da madeira, apresentando em sua estrutura subunidades de β -D-glicose unidas por ligação β (1,4) glicosídica, como mostrado na Figura 1 (PÉREZ *et al.*, 2002). O conjunto de longas cadeias de celulose (fibrilas elementares) dá origem às chamadas microfibrilas, que ajudam a compor a estrutura da parede celular.

Associada à celulose está a hemicelulose, que é uma macromolécula complexa e de estrutura bastante diversificada. Esse componente representa em torno de 25 a 30% da massa seca da madeira, sendo formado por ligações glicosídicas entre diferentes monossacarídeos, tais como: β -D-xilose, β -D-manose, β -D-galactose, β -D-glicose, α -L-arabinose e os ácidos 4-O-metil- α -D-glicurônico, β -D-galacturônico e α -D-glicurônico (PÉREZ *et al.*, 2002; HON SHIRAIISHI, 2001).

As hemiceluloses das madeiras de angiospermas e de gimnospermas diferem-se não apenas em porcentagens, mas também

em sua composição estrutural, sendo que na primeira o principal componente é uma glicuronoxilana (Figura 2A). Já na segunda, a galactoglicomanana é a hemicelulose predominante (Figura 2B).

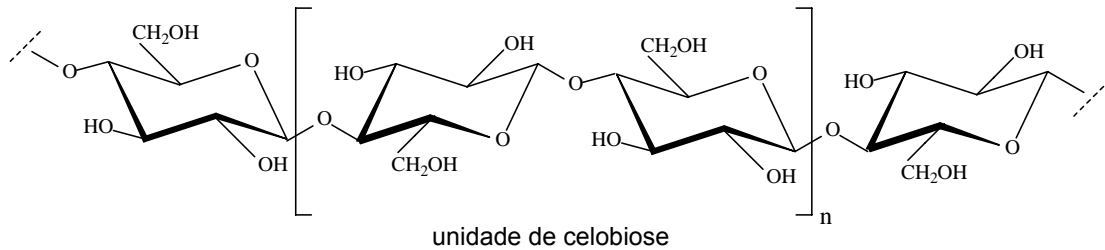


Figura 1: Estrutura química parcial da celulose.

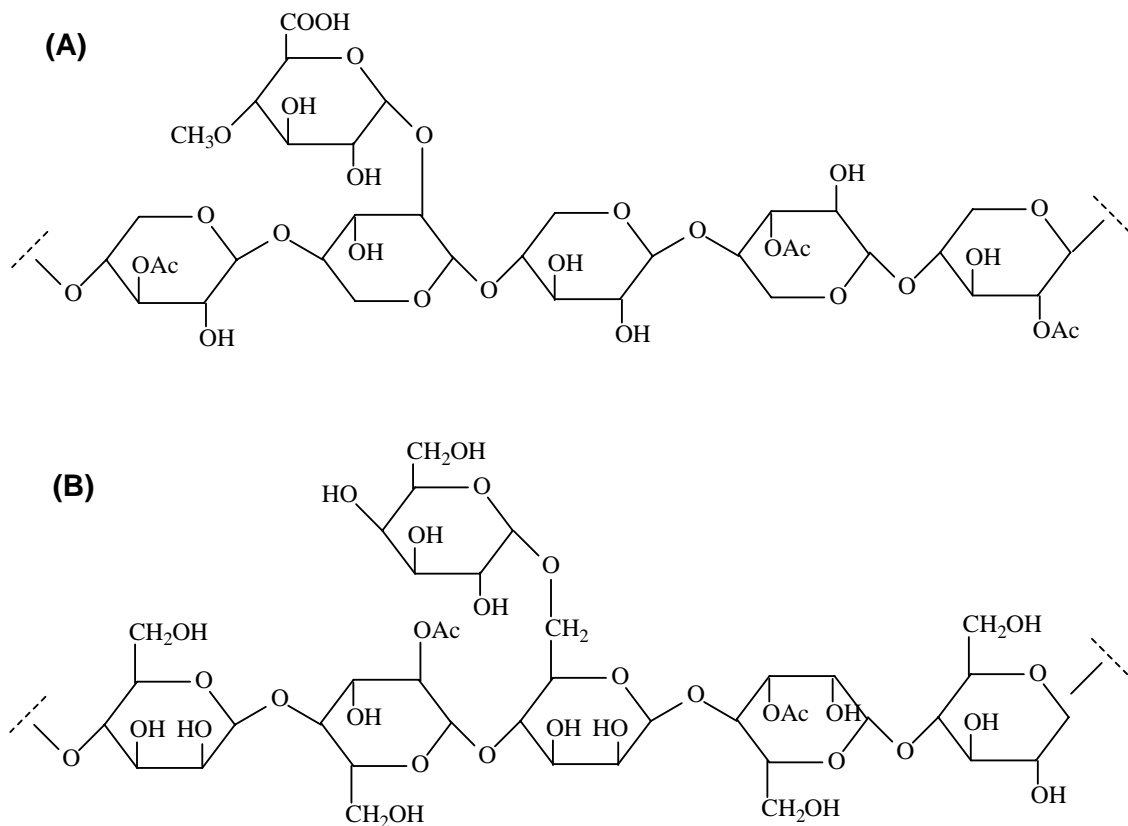


Figura 2: Estrutura química parcial das hemiceluloses: **(A)** O-acetil-4-O-metilglicuronoxilana de angiospermas; **(B)** O-acetil-galactoglicomanana de gimnospermas.

1.2.2 Lignina

A lignina é um dos mais abundantes compostos químicos do reino vegetal, estando presente numa quantidade que varia de 10 a 30% dependendo da espécie (HON e SHIRAISHI, 2001). É uma macromolécula amorfa, de natureza aromática e complexa, presente na parede celular e na lamela média dos vegetais (SALIBA *et al.*, 2001).

Do ponto de vista funcional, é um componente essencial para a madeira, pois promove o fortalecimento das paredes celulares, facilita o transporte de água e juntamente com os extrativos previne a degradação, atuando como meio de defesa contra patógenos, insetos e herbívoros (HATFIELD e VERMERRIS, 2001).

Com relação à produção de lignina na planta, tem-se que esta ocorre a partir da polimerização natural de monômeros fenilpropanóides, através da condensação desidrogenativa dos álcoois *trans-p*-cumarílico, *trans*-coniferílico e *trans*-sinapílico, mostrados na Figura 3 (SALO *et al.*, 1989). Esses álcoois, denominados monolignóis, possuem diferenças nos grupos substituintes do anel aromático e são os respectivos precursores primários das unidades conhecidas como *p*-hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S).

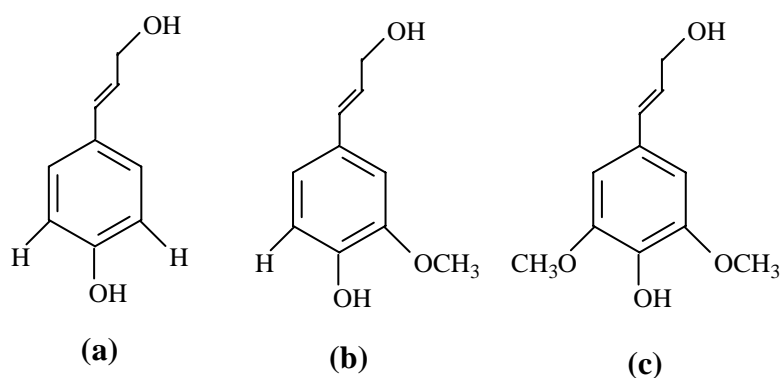


Figura 3: Estrutura química dos precursores das unidades de lignina (a) álcool *trans-p*-cumarílico, (b) álcool *trans*-coniferílico e (c) álcool *trans*-sinapílico.

O resultado final dessa polimerização é uma estrutura heterogênea onde as unidades básicas são unidas por ligações carbono-carbono e ligações éter, conforme mostrado na Figura 4.

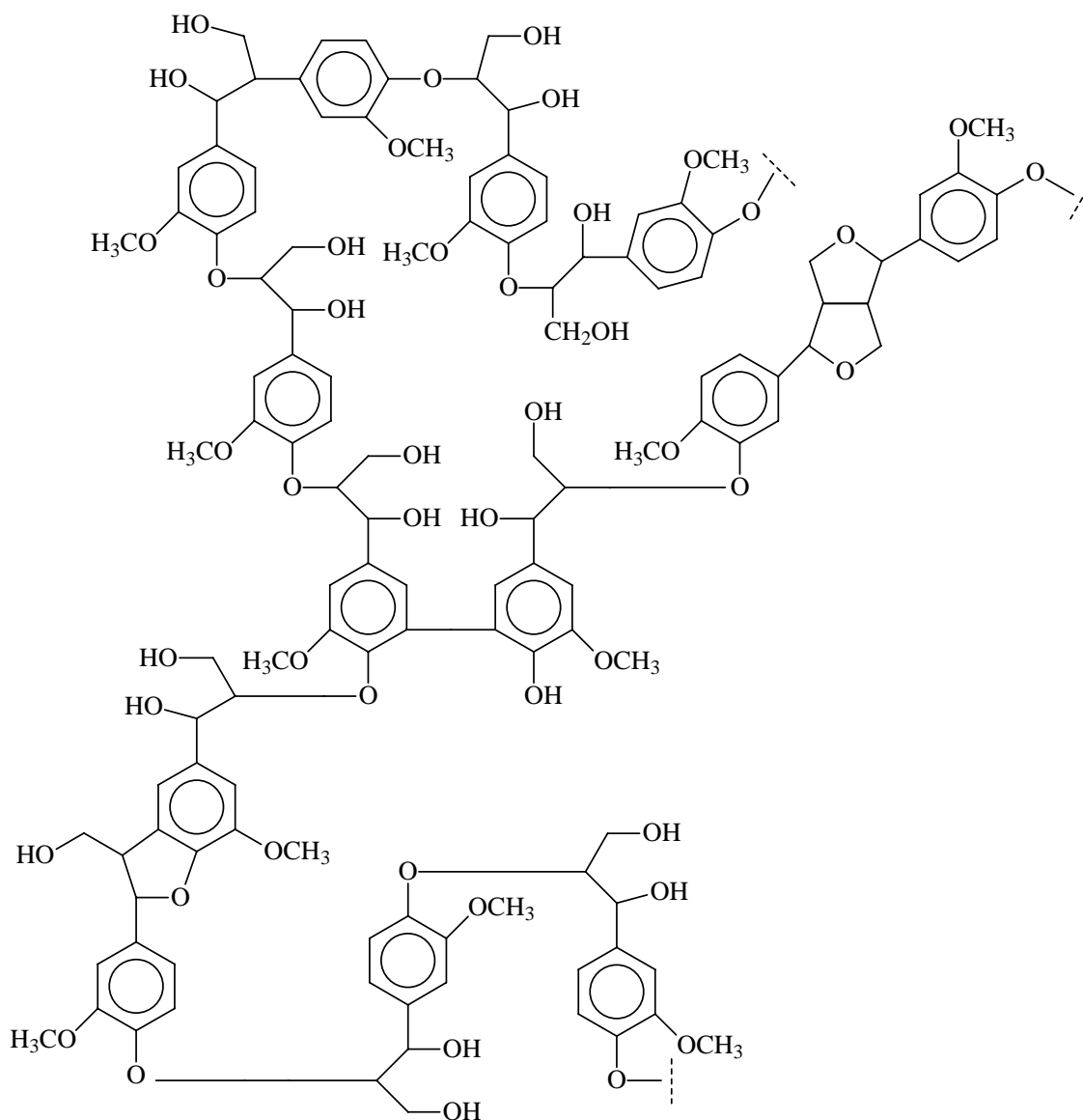


Figura 4: Estrutura química parcial da lignina (PÉREZ *et al.*, 2002).

O sistema de nomenclatura das unidades estruturais da lignina é fundamentado na unidade básica fenilpropanóide, C_6C_3 (SALIBA *et al.*, 2001). Os átomos de carbono do grupo propanóide (C_3) são designados através de letras gregas, sendo que o carbono ligado ao grupo aril é denominado α , enquanto os demais são indicados pelas letras β e γ , seqüencialmente. No caso do anel aromático, os átomos de carbono são numerados a partir do carbono ligado à cadeia alifática, como indicado na Figura 5.

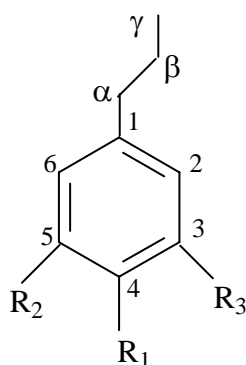


Figura 5: Esquema de numeração dos átomos de carbono da unidade estrutural básica da lignina: *p*-Hidroxifenila ($R_1=OH$ e $R_2,R_3=H$); Guaiacila ($R_1=OH$, $R_2=H$ e $R_3=OCH_3$) e Siringila ($R_1=OH$ e $R_2,R_3=OCH_3$).

1.2.3 Outros constituintes químicos

Apesar da madeira ser predominantemente formada por celulose, hemicelulose e lignina, outros compostos químicos também fazem parte da sua composição. Tanto as madeiras de gimnospermas quanto as de angiospermas, contêm pequenas quantidades de polissacarídeos de menor tamanho, como pectina e amido.

A pectina é formada de repetidas unidades do ácido galacturônico por ligações glicosídicas do tipo α -(1,4). Já o amido - principal polissacarídeo de reserva nas plantas - é composto por moléculas de glicose unidas por ligações α -(1,4), no caso da amilose, ou α -(1,4) e α -

(1,6), no caso da amilopectina (ROWELL, 2005).

Além dos polissacarídeos, outra classe de compostos orgânicos está presente na madeira. São os chamados extrativos, que correspondem a componentes não estruturais das plantas e que podem ser removidos por meio de extração com água e/ou solventes orgânicos (CHALLINOR, 1995; ISHIDA *et al.*, 2007). Os extrativos compreendem um grande conjunto de substâncias fenólicas e alifáticas, além de terpenos e terpenóides, contribuindo principalmente para a coloração, aroma e durabilidade da madeira (HON e SHIRAISHI, 2001). Na Figura 6 estão exemplificados alguns dos milhares compostos classificados como extrativos.

A madeira apresenta também uma fração inorgânica, constituída principalmente por sais de sulfato, carbonato e oxalato de potássio, de cálcio e de magnésio, além de sílica e dos elementos químicos cobre, zinco, ferro e manganês (ROWELL, 2005). No entanto, o seu conteúdo é bastante variado, uma vez que depende das condições ambientais do hábitat da árvore.

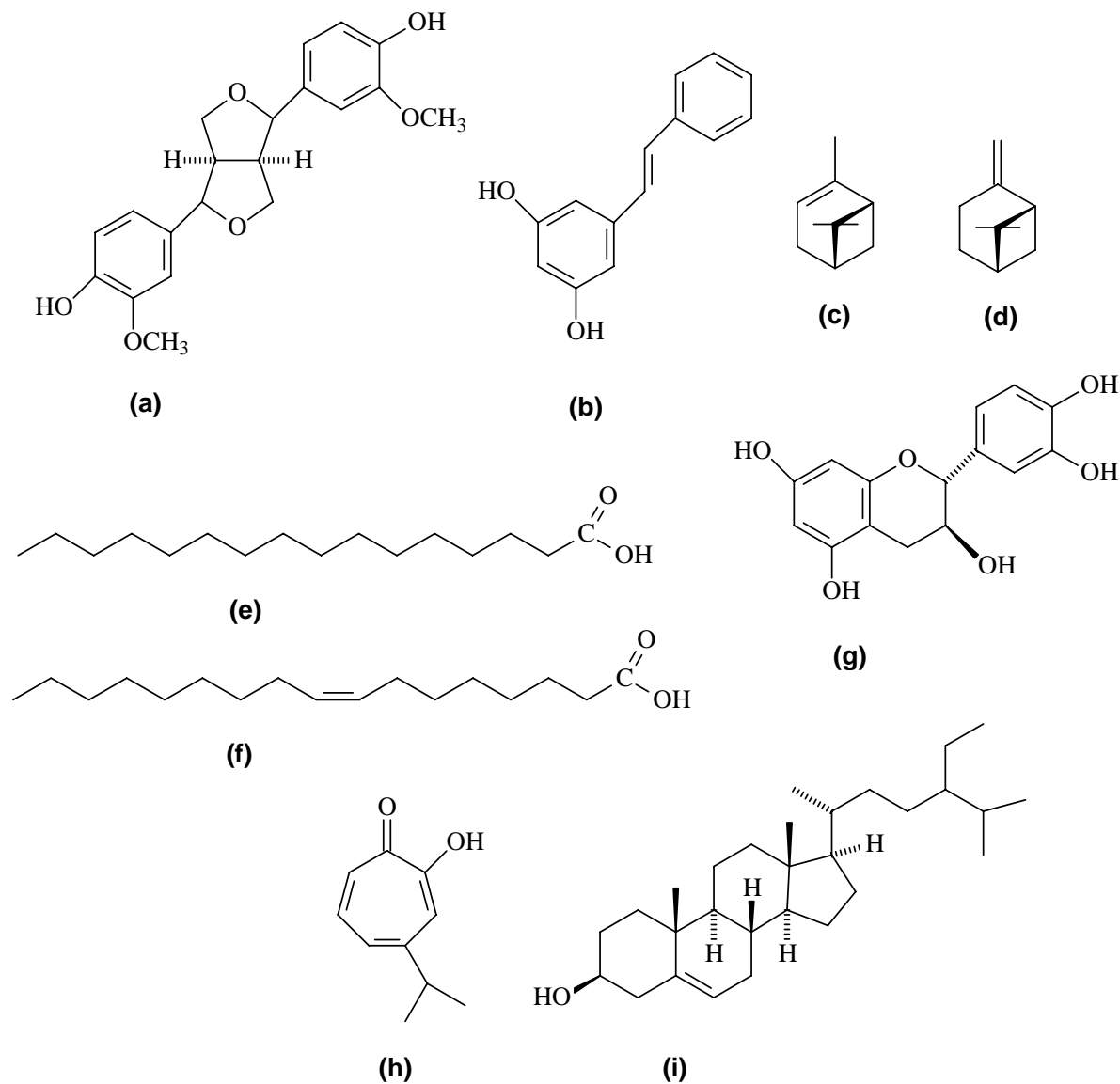


Figura 6: Exemplos de componentes químicos presentes nos extrativos da madeira: **(a)** pinosresinol; **(b)** pinosilvina; **(c)** α -pineno; **(d)** β -pineno; **(e)** ácido palmítico; **(f)** ácido oléico; **(g)** catequina, **(h)** β -tujaplicina e **(i)** β -sitosterol.

2 LIGNINA: ASPECTOS FUNDAMENTAIS

2.1 Conceito e classificação

A lignina é uma macromolécula presente na parede celular secundária dos vegetais e na lamela média. Devido à diferença de volume entre essas duas regiões, aproximadamente 70% da lignina localiza-se na primeira, porém sua maior concentração ocorre na lamela média (ROWELL, 2005).

Essa macromolécula possui quantidades variadas de unidades *p*-hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S), podendo ser classificada de acordo com essa composição. As ligninas das madeiras de gimnospermas (Figura 7) são basicamente produtos da polimerização do álcool coniferílico e são chamadas de lignina guaiacila (LG), enquanto as ligninas das angiospermas lenhosas (Figura 8) são principalmente do tipo guaiacila-siringila (LGS), devido à copolimerização dos álcoois coniferílico e sinapílico (ROWELL, 2005; DEL RÍO *et al.*, 2001a).

As angiospermas lenhosas e gimnospermas apresentam ainda unidades *p*-hidroxifenila (H) na composição estrutural de suas ligninas, mas em proporções menores. Já a lignina de gramíneas (angiospermas herbáceas) contém, geralmente, maiores quantidades de unidades *p*-hidroxifenila, provenientes do álcool *p*-cumarílico, e por isso são conhecidas como lignina do tipo hidroxifenila-guaiacila-siringila (LHGS) (DEL RÍO *et al.*, 2001a).

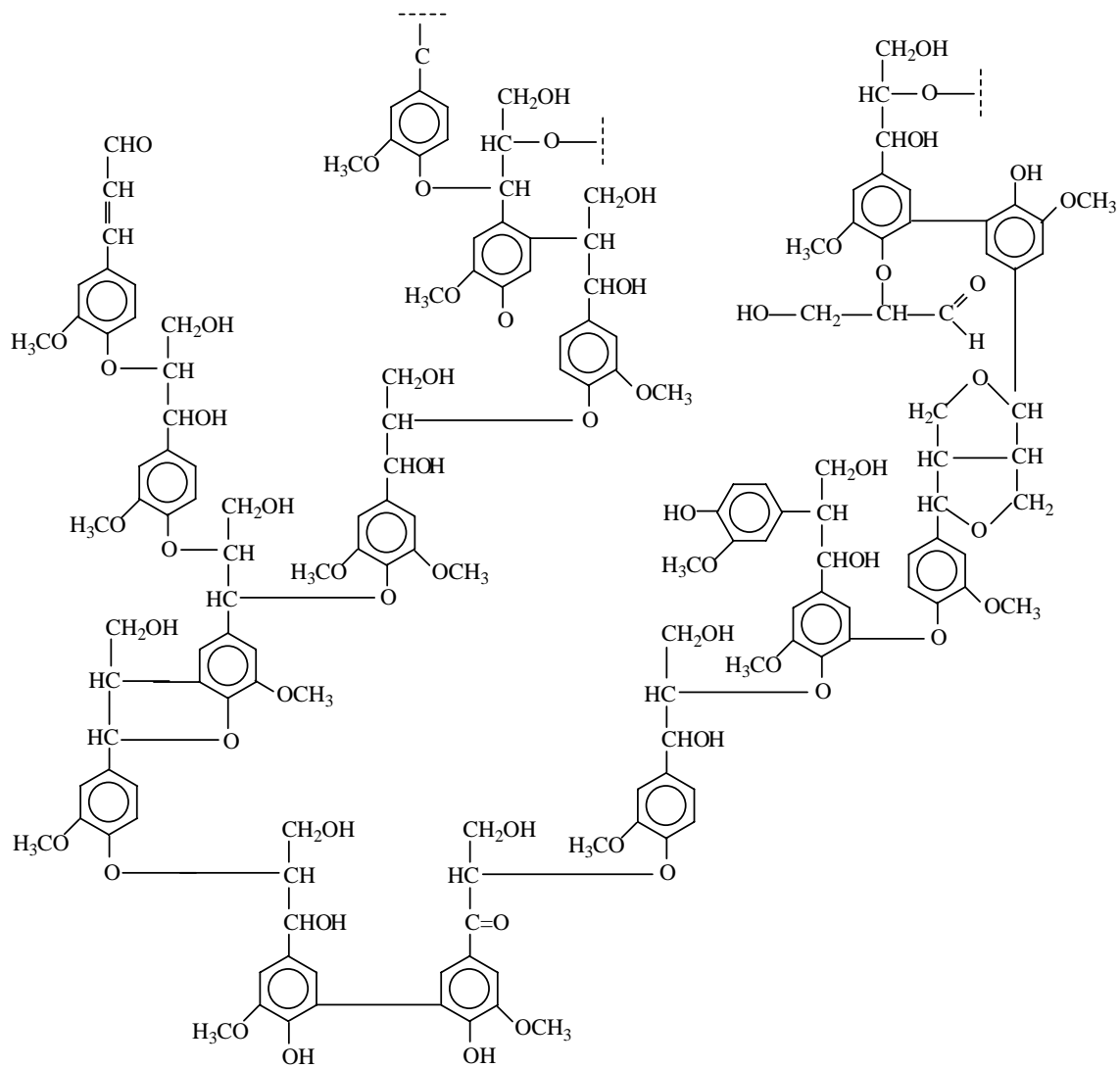


Figura 7: Estrutura proposta para lignina presente em madeira de gimnosperma (ROWELL, 2005).

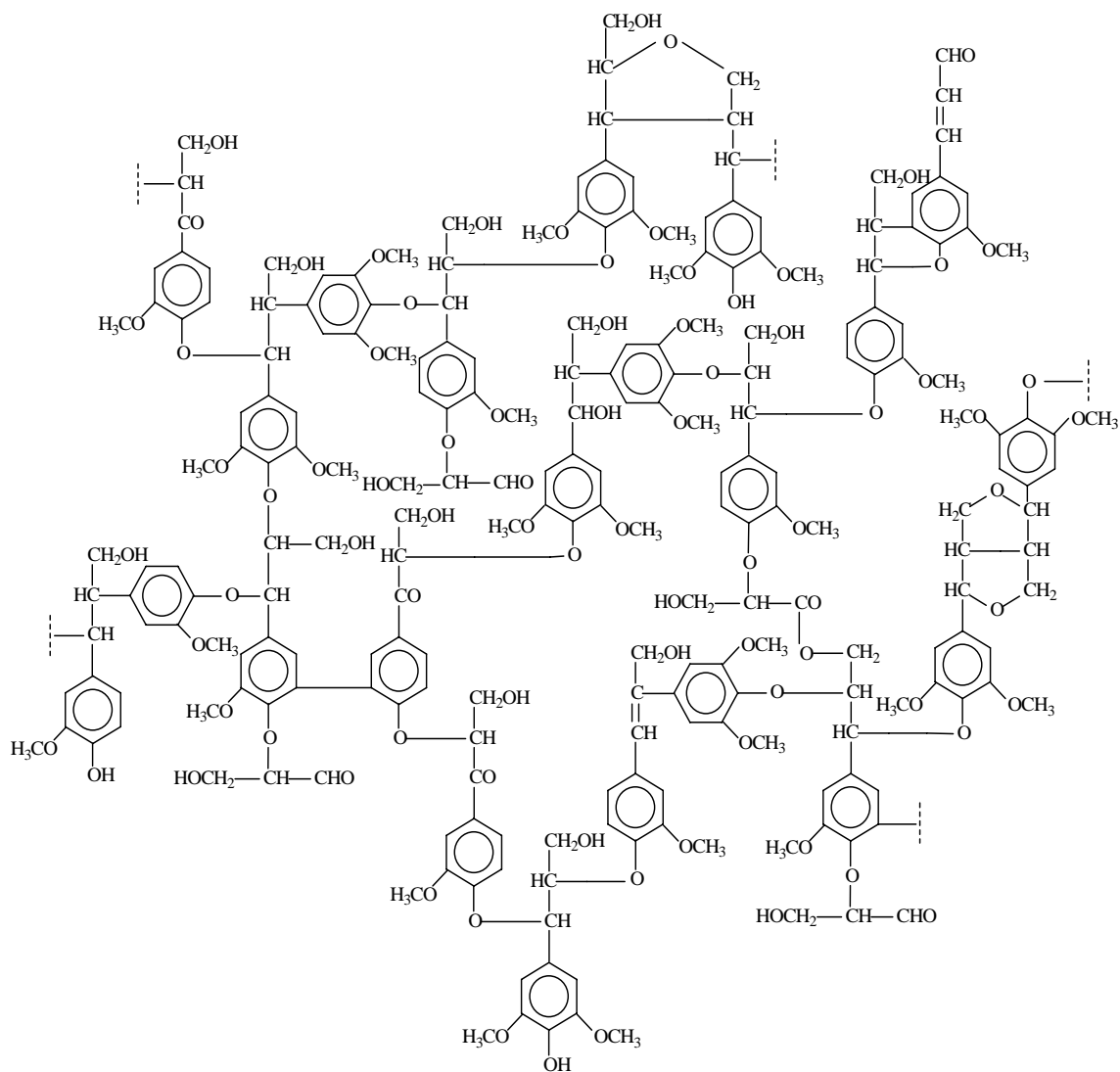


Figura 8: Estrutura proposta para lignina presente em madeira de angiosperma (PILÓ-VELOSO *et al.*, 1993).

2.2 Biossíntese

O processo de lignificação nas plantas engloba as etapas de formação dos monolignóis, seu transporte para a parede celular e a respectiva polimerização (HATFIELD e VERMERRIS, 2001). Os aminoácidos fenilalanina e tirosina, produzidos pela rota metabólica do ácido chiquímico, são os compostos de partida dos precursores envolvidos na biossíntese da lignina pela rota do ácido cinâmico.

A Figura 9 esquematiza a rota biossintética das unidades de lignina iniciada a partir da desaminação da fenilalanina pela enzima fenilalanina amonialiase (PAL), levando à síntese de grupos cinamoil-CoAs, que são os precursores comuns de vários compostos fenólicos (CHEN *et al.*, 1999).

As enzimas envolvidas nesse processo são principalmente hidroxilases, O-metiltransferases, CoA-ligases, redutases e desidrogenases, tais como: cinamato 4-hidroxilase (C4H); cumarato 3-hidroxiliase (C3H); cafeato/5-hidroxiferulato O-metiltransferase (COMT); cafeoil-coenzima A O-metiltransferase (CCoAOMT); ferulato 5-hidroxilase (F5H); 4-cumarato-coenzima A ligase (4CL); cinamoil-coenzima A redutase (CCR); álcool cinamoil desidrogenase (CAD) (GRIMA-PETTENATI e GOFFNER, 1999).

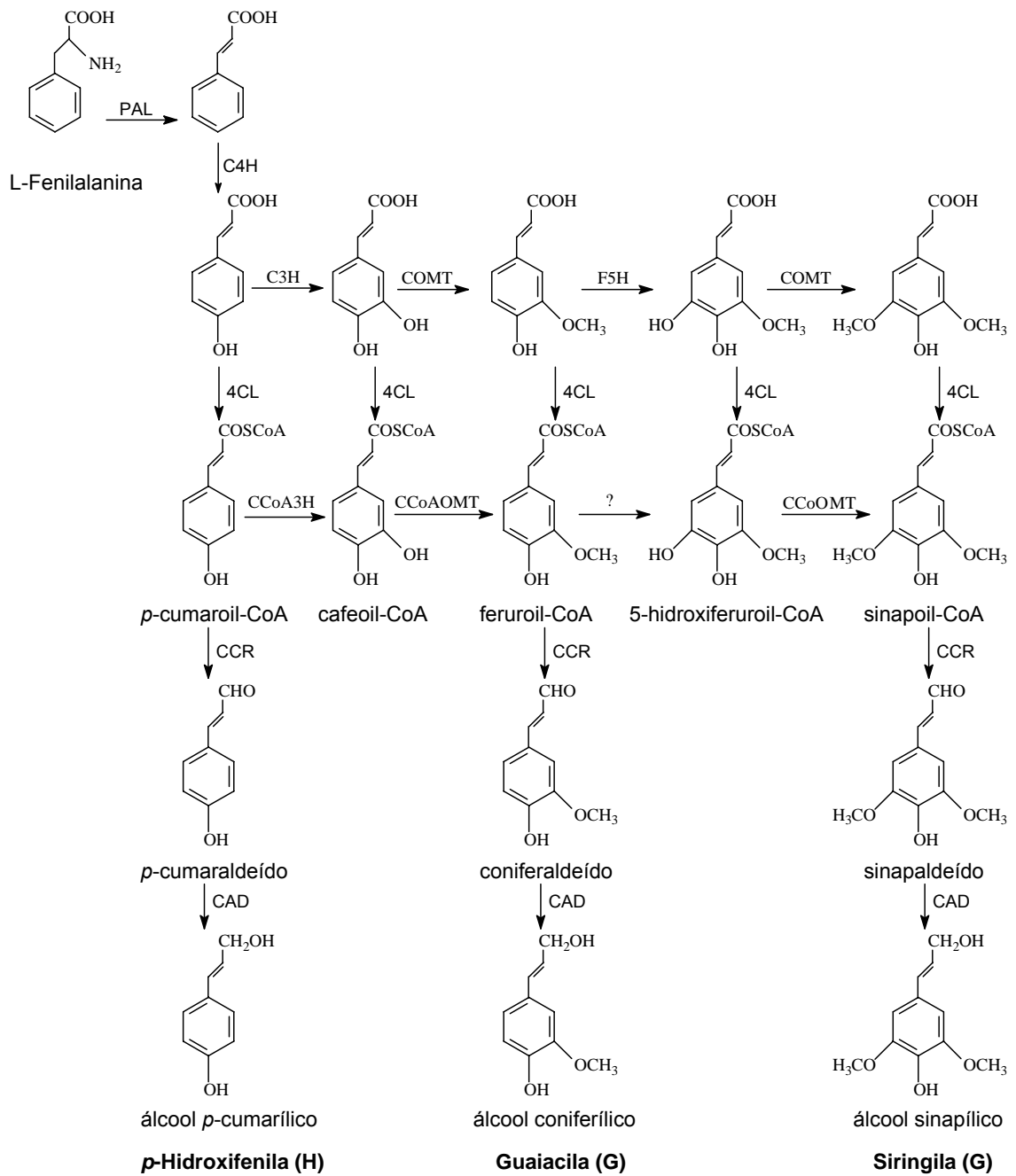


Figura 9: Rota biossintética dos precursores das unidades *p*-hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S), partindo da fenilalanina (GRIMA-PETTENATI e GOFFNER, 1999).

Os monolignóis produzidos na etapa inicial do processo de lignificação são convertidos em estruturas radiculares, através da transferência de elétrons por enzimas desidrogenases. Os radicais formados apresentam distintos pontos de polimerização decorrentes das diferentes estruturas de ressonância (Figura 10).

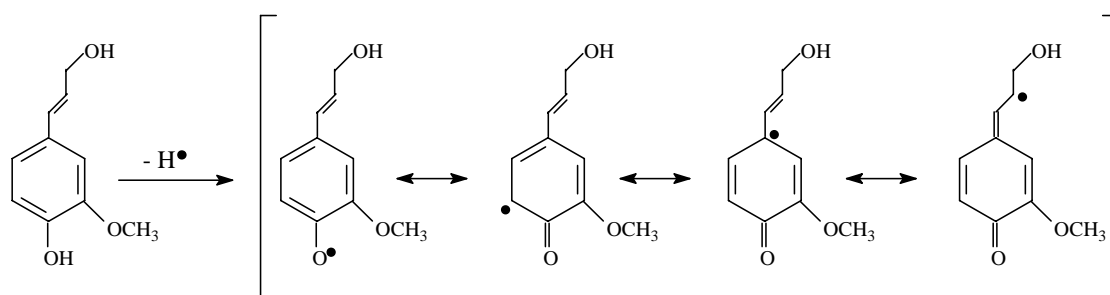


Figura 10: Estruturas de ressonância formadas a partir do álcool coniferílico e os possíveis pontos de polimerização (PILÓ-VELOSO *et al.*, 1993).

A polimerização entre as unidades monoméricas da lignina ocorre aleatoriamente a partir de reações de acoplamento, possibilitando a formação de diversas subunidades estruturais (KURODA e NAKAGAWA-IZUMI, 2005). Assim, têm-se ligações carbono-carbono entre cadeias alifáticas (β - β'), entre a cadeia alifática e o anel aromático (β -5 e β -1) e entre os anéis aromáticos (5-5'), além de ligações do tipo éter envolvendo tanto cadeias alifáticas e anéis aromáticos (β -O-4 e α -O-4), quanto somente os anéis aromáticos (4-O-5) (PILÓ-VELOSO *et al.*, 1993). A Figura 11 ilustra algumas das ligações químicas presentes nas principais subestruturas da lignina.

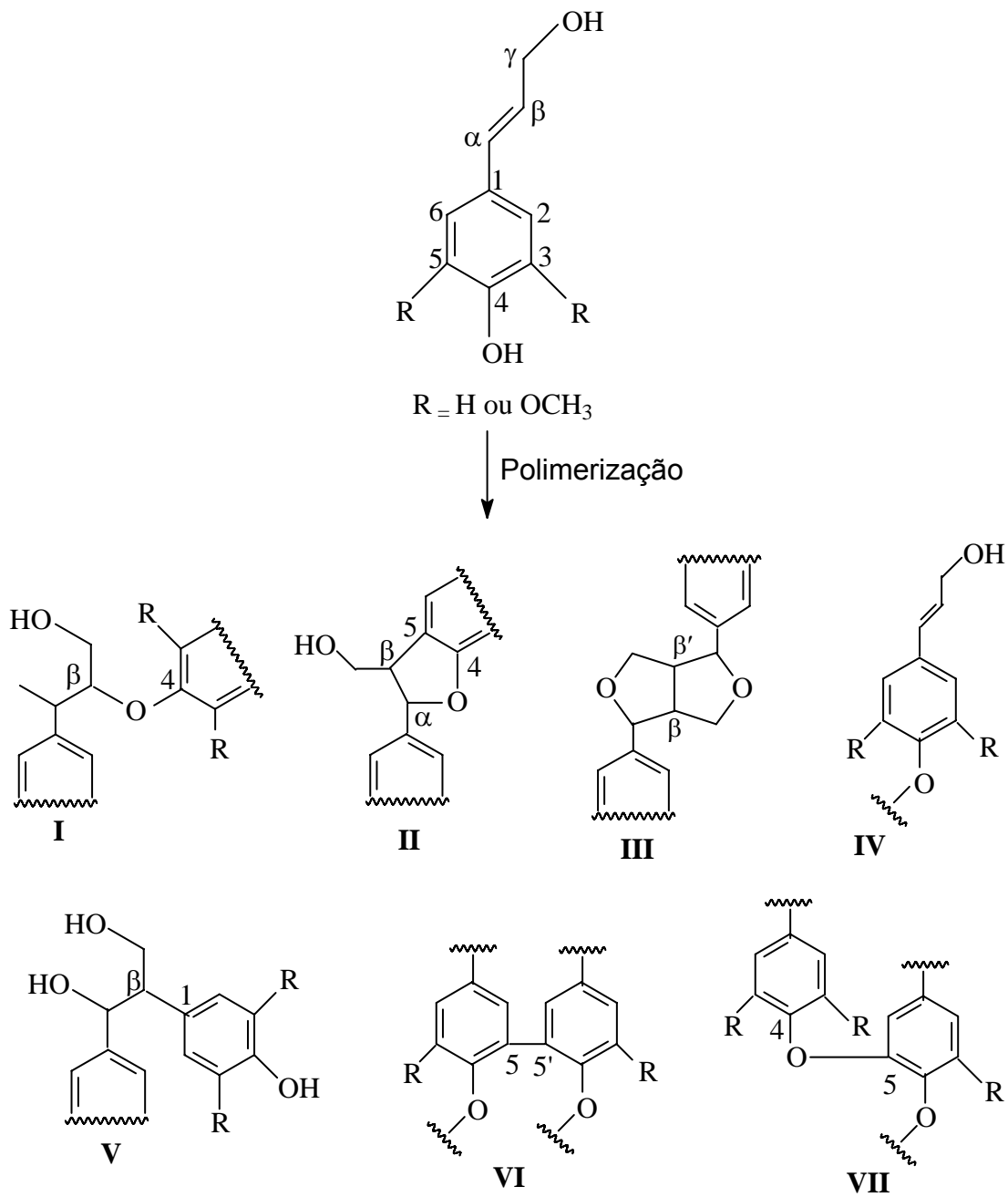


Figura 11: Subunidades estruturais presentes em ligninas. Subunidades β -aril-éter (**I**: β -O-4, **II**: β -5 e α -O-4; **V**: β -1); subunidades aquilas (**III**: β - β'); grupos terminais (**IV**: álcoois cinâmicos); subunidades bifenila (**VI**: 5-5'); subunidades diaril-éter (**VII**: 5-O-4) (KURODA e NAKAGAWA-IZUMI, 2005).

2.3 Relevância na indústria de celulose e papel

As ligninas são obtidas em larga escala, em todo o mundo, principalmente como subproduto da indústria de polpação, sendo seu aproveitamento basicamente como fonte de energia (PILÓ-VELOSO et al., 1993). O processo químico de polpação envolve a separação das fibras celulósicas e a remoção da lignina, utilizando normalmente soluções alcalinas, além de altas temperaturas e pressão.

A lignina é um componente indesejável na conversão da madeira em polpa, e o seu teor é um importante parâmetro do ponto de vista industrial, uma vez que a sua remoção é a etapa principal na fabricação do papel (CAMPBELL e SEDEROFF, 1996). Os severos tratamentos químicos envolvidos nessa etapa não são apenas caros e com elevado gasto de energia, mas também são prejudiciais ao meio ambiente (GRIMA-PETTENATI e GOFFNER, 1999).

Além do mais, a diferença estrutural da lignina pode afetar o rendimento de polpação. Segundo GOMIDE *et al.* (2005), o rendimento de polpação pode ser estabelecido como um parâmetro global da qualidade tecnológica da madeira, uma vez que abrange vários fatores, dentre eles: características anatômicas e químicas e a demanda de álcali para a obtenção da polpa celulósica (GOMIDE *et al.*, 2005).

Estudos realizados por Wallis e colaboradores (1996) mostraram que a estrutura da lignina ocasionou pouco efeito no rendimento de polpação quando comparada à influência exercida pela celulose e por outros polissacarídeos presentes nas espécies de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus nitens*. Em contrapartida, vários pesquisadores relataram que madeiras com maior proporção de unidades siringila (S) em relação às unidades guaiacila (G), proporcionam maior rendimento de polpa, além de serem mais facilmente deslignificadas (DEL RÍO *et al.*, 2005; COLLINS *et al.*, 1990; GONZÁLEZ-VILA *et al.*, 1999).

Esse comportamento é explicado pelo fato de que o grupo guaiacila possui uma posição aromática, C₅, disponível para fazer fortes ligações entre átomos de carbono durante o processo de biossíntese da

lignina e, portanto, são mais resistentes à despolimerização na etapa de polpação (GUTIÉRREZ *et al.*, 2006). Além disso, foi observado que a clivagem β -aril-éter na lignina siringila realiza-se mais facilmente do que na lignina guaiacila, sob diferentes condições alcalinas de cozimento, contribuindo para a velocidade de deslignificação (TSUTSUMI *et al.*, 1995).

Dessa forma, a composição estrutural da lignina pode ser uma importante característica em processos de seleção de clones, a fim de obter árvores de maior qualidade para a produção do papel em termos da taxa de deslignificação, do consumo de reagentes e do rendimento de polpação.

3 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE LIGNINAS

Diante da diversidade estrutural das ligninas em diferentes gêneros vegetais, ou ainda, dentro de uma mesma espécie, vários estudos vêm sendo desenvolvidos no intuito de caracterizar e quantificar suas unidades monoméricas. Esses estudos estão voltados principalmente para as madeiras de angiospermas, uma vez que estas apresentam elevadas quantidades da estrutura siringila, que é a mais reativa.

O parâmetro usualmente estabelecido para tal quantificação é a relação siringila/guaiacila (S/G), ou seja, é a proporção entre as unidades siringila e guaiacila presentes na lignina (OUDIA *et al.*, 2007).

Para caracterizar as unidades de lignina, procedimentos degradativos e não degradativos podem ser empregados. Os primeiros são aqueles em que a lignina é despolimerizada, principalmente por meio de reações químicas, gerando moléculas com menor massa molecular. Os processos não degradativos, no entanto, representam aqueles em que o polímero é caracterizado sem sofrer qualquer tipo de degradação, mantendo-se intacta a estrutura original (HON e SHIRAIISHI, 2001).

Como exemplos de processos não degradativos, têm sido reportadas na literatura metodologias empregando técnicas espectroscópicas de infravermelho e ressonância magnética nuclear (TAKAYAMA *et al.*, 1997; MARTÍNEZ *et al.*, 1999; CAPANEMA *et al.*; 2005; NETO *et al.*, 2007). Porém, esses processos apresentam algumas desvantagens, como a pobre resolução dos espectros e a insuficiente sensibilidade, o que dificultam a determinação da relação S/G com boa precisão.

Dentre os métodos de degradação, os comumente utilizados são os oxidativos e os ácidos, destacando-se a oxidação com nitrobenzeno (AIMI *et al.*, 2005; AOYAMA *et al.*, 2001), com permanganato de potássio (EVTUGUIN *et al.*, 2001) e com óxido de cobre (KURODA *et al.*, 2002a), além da tioacidólise (EVTUGUIN *et al.*, 2001; KURODA *et al.*, 2002b). Entretanto, esses métodos possuem procedimentos trabalhosos e demorados, uma vez que requerem o isolamento da lignina contida na

madeira. Além do mais, necessitam de grandes quantidades de amostra, não podendo ser aplicados em escalas de microgramas.

Diante desses fatores, a pirólise analítica aparece como uma ferramenta eficiente e vantajosa na determinação da relação S/G em madeiras. É um processo de degradação térmica que demanda baixo consumo de amostra (na faixa de 100 μ g), além de se destacar pela alta sensibilidade, rapidez e facilidade de análise, visto que não necessita isolar a lignina (GALLETTI e BOCCHINI, 1995).

4 PIRÓLISE ANALÍTICA

4.1 Fundamentos

O termo pirólise diz respeito à ruptura de ligações químicas usando apenas energia térmica. A pirólise analítica é uma técnica de estudo de um determinado material através das observações do seu comportamento durante o processo degradativo ou dos fragmentos moleculares resultantes, que leva muitas vezes à identificação da molécula original (WAMPLER, 1995).

A pirólise compreende o aquecimento da amostra em um ambiente inerte, em que os componentes da matriz são fragmentados sob altas temperaturas. A facilidade da cromatografia gasosa em separar os produtos provenientes da pirólise e a possibilidade de identificação desses compostos pela espectrometria de massas fazem desses instrumentos uma combinação útil para caracterizar diversos materiais macromoleculares.

O comportamento de uma molécula sob elevadas condições de temperatura é dependente das forças de ligação que mantêm os átomos unidos e, por isso, o caminho de fragmentação de um material quando submetido ao aquecimento fornece resultado único e característico (WAMPLER, 1999).

Os mecanismos das reações de pirólise geralmente são via radical, devido às favoráveis condições utilizadas nas análises, como por exemplo, altas temperaturas e ausência de catalisadores ácidos ou básicos. As reações elementares relevantes na pirólise envolvem basicamente três etapas, que compreendem a formação, a interconversão e o consumo dos radicais (POUTSMA, 2000).

Em compostos orgânicos, a formação do radical é geralmente obtida através da homólise, enquanto os processos de interconversão acontecem por meio da abstração de um átomo de hidrogênio ou pela cisão da ligação na posição β ao átomo com o elétron desemparelhado. A etapa final, em que há consumo do radical, é regida pela combinação

entre radicais ou pelo desproporcionamento, conforme mostrado na Figura 12.

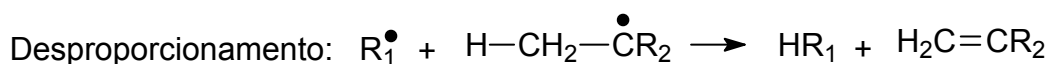
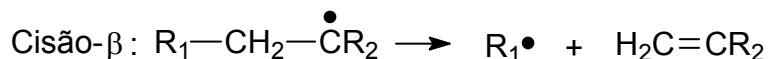
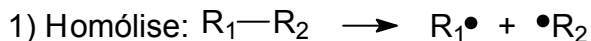


Figura 12: Principais reações elementares envolvidas no processo pirolítico de compostos orgânicos.

No entanto, em pirólise analítica é muito importante estabelecer as condições de análises, principalmente quanto à temperatura e à massa, pois esses parâmetros podem promover excessivos ou insuficientes processos de degradação, resultando em informações analíticas pouco úteis (WAMPLER, 1999).

4.2 Pirólise de lignina

A pirólise analítica é utilizada como um método degradativo de lignina, em que a energia térmica é distribuída de forma homogênea ao longo dessa macromolécula. Normalmente, a ruptura das ligações é homolítica, principalmente das ligações α - e β -alquil ou aril-éter, como mostra a Figura 13.

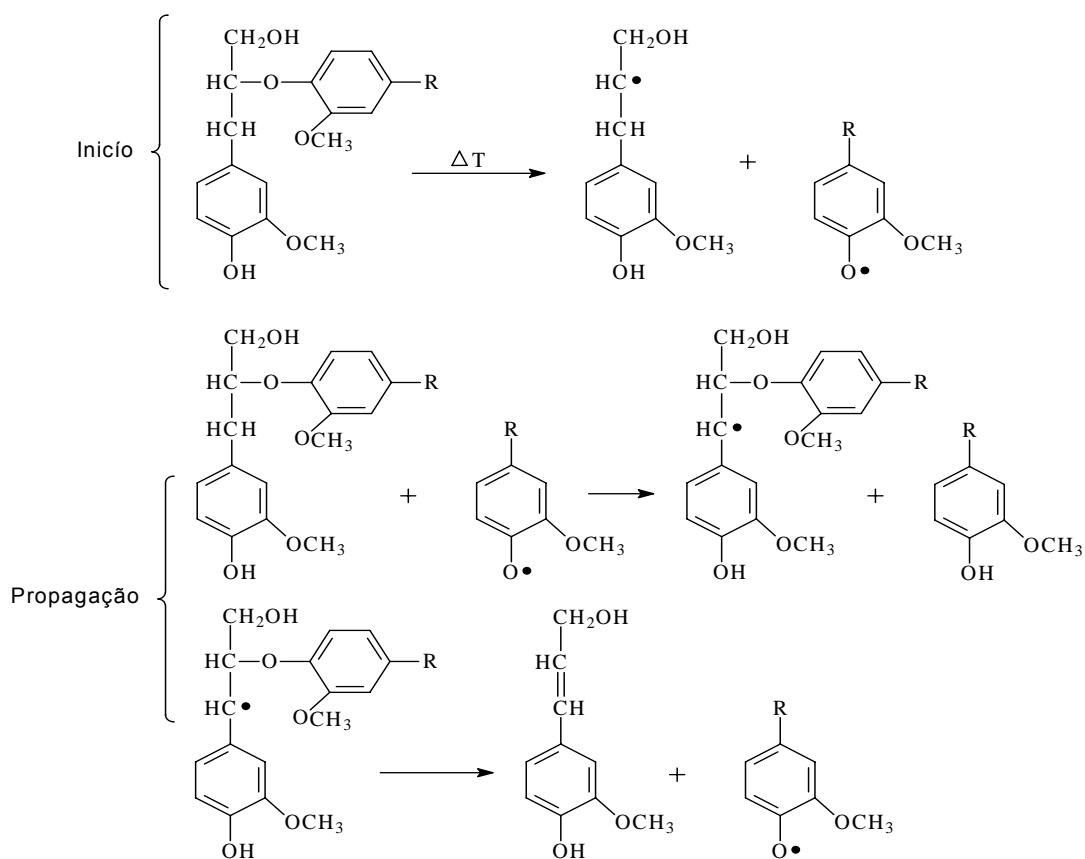


Figura 13: Caminho da degradação térmica da ligação β -O-4 presente nas estruturas de lignina (VAN DER HAGE, *et al.*, 1993).

A lignina pode ser pirolisada para produzir uma mistura de fenóis relativamente simples, resultantes da clivagem de certas ligações éter e carbono-carbono. Os fenóis formados retêm o padrão de substituição presente na estrutura original da lignina, sendo possível identificar as unidades *p*-hidroxifenila, guaiacila e siringila (RALPH e HATFIELD, 1991).

A pirólise associada à cromatografia gasosa e à espectrometria de massas (Pi-CG-EM) é baseada na fragmentação da macromolécula através do aquecimento em um pirolisador, separação dos produtos por uma coluna cromatográfica e registro dos fragmentos pela espectrometria de massas (NONIER *et al.*, 2006). Assim, a identificação dos derivados de lignina é realizada através da análise dos espectros de massas, que apresentam intenso íon molecular e fragmentos característicos (GALLETTI e BOCCHINI, 1995).

4.3 Estudo da relação S/G por Pi-CG-EM

Muitos estudos vêm sendo realizados no intuito de obter uma melhor compreensão da composição estrutural da lignina. Para tal finalidade, a Pi-CG-EM tem sido largamente empregada, devido à sua eficiência na determinação da relação S/G e às vantagens apresentadas em relação aos métodos de análise tradicionais.

Um importante foco de estudo diz respeito aos processos de biodegradação, uma vez que os microorganismos estão sendo usados como alternativa para a remoção da lignina nas madeiras. Vários pesquisadores, utilizando a pirólise analítica, verificaram um decréscimo no valor da relação S/G com o tratamento biológico, em vista de uma evidente preferência de degradação da estrutura siringila por esses agentes naturais (VINCIGUERRA *et al.*, 2007; DEL RÍO *et al.*, 2001a; DEL RÍO *et al.*, 2002; TERRÓN *et al.*, 1995).

Apesar das vantagens apresentadas pelos grupos siringila em termos da sua maior reatividade em processos de deslignificação, sabe-se que existe uma grande diversidade estrutural de ligninas em árvores do mesmo gênero, da mesma espécie, ou até mesmo, em diferentes regiões morfológicas do vegetal. Considerando a elevada variedade de espécies existentes, torna-se indispensável investigar a composição estrutural da lignina presente nas madeiras.

Assim, estudos sobre a variação da relação S/G em árvores de diferentes origens genéticas (YOKOI *et al.*, 2001), bem como, em indivíduos de mesma ou distinta localidade de cultivo (RODRIGUES *et al.*, 1999), têm sido desenvolvidos por meio da técnica de Pi-CG-EM. Esses trabalhos comprovam haver uma variação natural da relação S/G em espécies lenhosas, embora estejam relacionados principalmente às árvores cultivadas em clima frio. Com isso, há uma enorme carência de estudos em espécies brasileiras utilizadas para a produção de papel e celulose, empregando a Pi-CG-EM como técnica analítica.

Materiais e Métodos

1 PREPARO DAS AMOSTRAS

1.1 Material Bruto

Para a realização desse estudo, clones de cinco espécies de eucalipto e de um híbrido, todos com aproximadamente sete anos de idade e provenientes de diferentes origens e condições de crescimento, foram selecionados para a obtenção das amostras de madeira.

As espécies *Eucalyptus dunnii*, *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus urophylla* e o híbrido *Eucalyptus urograndis* (*Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*) foram cultivados no Brasil. Já as espécies *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus nitens* foram desenvolvidas no Chile.

1.2 Obtenção das serragens

Cavacos da madeira de cada espécie foram classificados manualmente, eliminando os pedaços de cascas, de nós e aqueles com defeitos de corte. Em seguida foram homogeneizados, em um misturador esférico mecânico com capacidade para 260 litros e secos ao ar, para tornar a umidade uniforme. Após esse processo, foram transformados em serragem com o uso de moinho Wiley. A serragem obtida foi classificada em peneiras de 40 e 60 mesh e acondicionada por 24 horas em sala aclimatizada a 25 °C e 50% de umidade relativa.

1.3 Remoção dos extrativos

A remoção dos extrativos foi baseada na metodologia descrita por Shatalov *et al.* (1999).

Uma quantidade conhecida de serragem (10 g a.s.) foi submetida à extração, por seis horas, em Soxhlet com solução tolueno/etanol (2:1 v/v) para a remoção dos extrativos da madeira. Após este período, removeu-se o excesso de solvente da serragem por filtração e deixou-se o solvente evaporar em capela.

O material livre de extrativos foi armazenado em recipientes hermeticamente fechados para a posterior realização das análises pelos métodos degradativos de oxidação alcalina com nitrobenzeno e de pirólise analítica.

2 MÉTODOS ANALÍTICOS EMPREGADOS NA DETERMINAÇÃO DA RELAÇÃO SIRINGILA/GUAIACILA (S/G)

2.1 Oxidação alcalina com nitrobenzeno

A análise de oxidação alcalina com nitrobenzeno foi realizada em duplicata, seguindo o procedimento descrito por Lin e Dence (1992).

Certa quantidade da serragem livre de extrativo (200 mg a.s.) foi colocada em reatores de aço inox juntamente com 7 mL da solução aquosa de NaOH (2 mol/L) e 0,5 mL de nitrobenzeno. Após lacrar os reatores, a amostra foi levada ao banho de óleo (glicerina) por 2,5 h a 170 °C. Em seguida, o material oxidado foi submetido à extração com clorofórmio por seis vezes, utilizando-se 30 mL do solvente em cada extração. Após a primeira extração foram adicionados 2,5 mL de HCl (4 mol/L) na fase aquosa. As fases orgânicas foram reunidas e o solvente evaporado em capela.

A amostra foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL e o volume completado com solução de acetonitrila/água (1:1 v/v). Em seguida, a solução resultante foi filtrada em membrana de celulose

regenerada de 0,45 μm e analisada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A separação dos produtos da oxidação por nitrobenzeno foi alcançada utilizando-se uma coluna LC-18. A fase móvel usada foi acetonitrila/água (1:6 v/v) com pH igual a 2,6, tamponado com ácido trifluoroacético (TFA).

2.2 Degradação térmica por Pi-CG-EM

A pirólise foi realizada por um sistema constituído de um pirolisador de microforno vertical PYR-4A da marca Shimadzu acoplado a um cromatógrafo a gás e espectrômetro de massas (PQ5050A, Shimadzu). As análises da serragem por pirólise foram realizadas em triplicatas, seguindo a metodologia proposta por Silva (2006).

Amostra de serragem (cerca de 100 μg) foi colocada em um cadinho de platina e introduzida no suporte de amostragem do pirolisador. A temperatura do pirolisador foi ajustada para 550 $^{\circ}\text{C}$ e após atingir esse valor, a amostra foi injetada na câmara de pirólise aquecida sob atmosfera de hélio a 100 kPa.

Os produtos de pirólise foram transferidos automaticamente para o injetor do cromatógrafo a gás, aquecido a 100 $^{\circ}\text{C}$, usando hélio como gás de arraste numa vazão de 1 mL m^{-1} e “split” de 1/10. Este último foi medido por um fluxômetro eletrônico, modelo Veri-Flow 500 da marca Agilet. A separação dos compostos foi obtida por uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30 m \times 0,25 mm de diâmetro \times 0,25 μm de filme), programada em 45 $^{\circ}\text{C}$ e mantida nessa temperatura por 4 minutos, até alcançar 240 $^{\circ}\text{C}$ numa taxa de aquecimento de 4 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e permanecendo na temperatura final por 10 minutos. O espectrômetro de massas foi operado no modo de ionização por impacto de elétrons usando energia eletrônica de 70 eV e varredura de massas no intervalo de m/z 50 a 350. As temperaturas aplicadas no detector e na interface do CG-EM foram de 250 e 290 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente.

As substâncias foram identificadas pela comparação dos espectros

de massas obtidos pela análise com aqueles existentes na biblioteca do aparelho (livraria Wiley, 7^a edição) e com dados da literatura (DEL RÍO *et al.*, 2005; LIN e DENCE, 1992; OUDIA *et al.*, 2007; RALPH e HATFIELD, 1991; VAN DER HAGE *et al.*, 1993; SILVA, 2006).

3 QUANTIFICAÇÃO DAS UNIDADES DE LIGNINA

A quantificação da relação siringila/guaiacila (S/G) das amostras de madeira foi realizada usando dois métodos.

Pelo método de oxidação da lignina por nitrobenzeno são obtidos como produtos da oxidação siringila e guaiacila, a vanilina e o siringaldeído, respectivamente. Assim, a relação S/G foi baseada nos valores das áreas referentes a essas duas substâncias. Uma curva de calibração foi construída a partir dos resultados das análises por CLAE de padrões de vanilina e siringaldeído nas mesmas condições de análise estabelecidas para as amostras de serragem. As concentrações dos padrões foram de 0,375; 0,75; 1,125; e 1,5 mmol/L no caso da vanilina, e de 0,825; 1,65; 2,475; e 3,3 mmol/L no caso do siringaldeído, todos em acetonitrila/água (1:1 v/v). A determinação da relação S/G (S/V) foi obtida a partir do cálculo da razão entre a concentração de siringaldeído e a concentração de vanilina.

Pelo método de pirólise (Pi-CG-EM), a relação S/G foi determinada através da razão entre o somatório da área relativa dos sinais correspondentes às estruturas siringila e o somatório da área relativa dos sinais referentes às estruturas guaiacila. As áreas foram obtidas através da integração dos sinais registrados no pirograma. Para verificar a influência das áreas dos carboidratos nos resultados, foi calculada também a relação S/G utilizando a área absoluta das unidades siringila e guaiacila.

4 RESUMO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

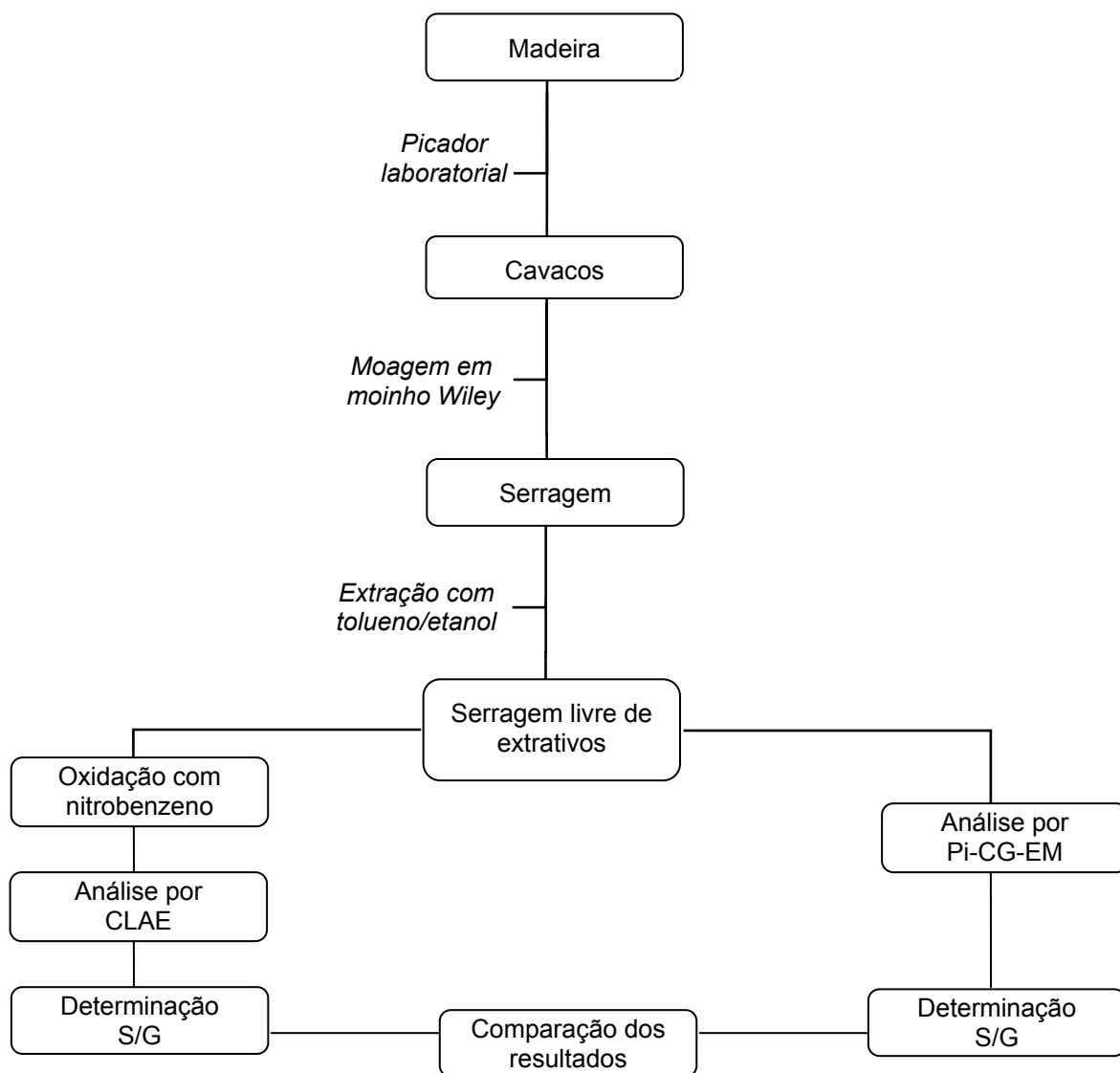


Figura 14: Fluxograma das atividades desenvolvidas.

Resultados e Discussão

1 ASPECTOS QUALITATIVOS DA PIRÓLISE DA MADEIRA DE EUCALIPTO

Em pirólise analítica, a lignina é fragmentada através da energia térmica, em atmosfera inerte, produzindo uma mistura de compostos aromáticos. Esses compostos são facilmente separados por cromatografia gasosa e identificados por espectrometria de massas (ZIER *et al.*, 1997). Com base nos produtos de degradação, a lignina pode ser caracterizada em termos das unidades siringila e guaiacila, uma vez que o padrão de substituição presente na sua estrutura original é mantido.

Silva (2006), verificando o efeito da temperatura no comportamento pirolítico da serragem de eucalipto, concluiu que 550 °C é a mais adequada, já que nessa temperatura os compostos lignocelulósicos são totalmente pirolisados e não sofrem degradações severas.

Nesse contexto, serragens de diferentes espécies de eucalipto foram pirolisadas a 550 °C, a fim de verificar a composição estrutural da lignina e determinar a relação siringila/guaiacila (S/G). Os produtos de pirólise formados foram separados por cromatografia gasosa e posteriormente caracterizados pela espectrometria de massas.

Os pirogramas de todas as amostras analisadas apresentaram um perfil semelhante, contendo os mesmos produtos provenientes da degradação térmica dos carboidratos e das ligninas. A Figura 15 ilustra o pirograma obtido da serragem da espécie *Eucalyptus globulus*.

Os derivados de lignina forneceram espectros de massas com íon molecular bastante intenso, correspondendo na maioria das vezes ao pico base (intensidade igual a 100%). Já os carboidratos produziram compostos que são fragmentados com muita facilidade sob as condições de impacto de elétrons, originando, de forma geral, íons de baixa massa molecular e de difícil identificação.

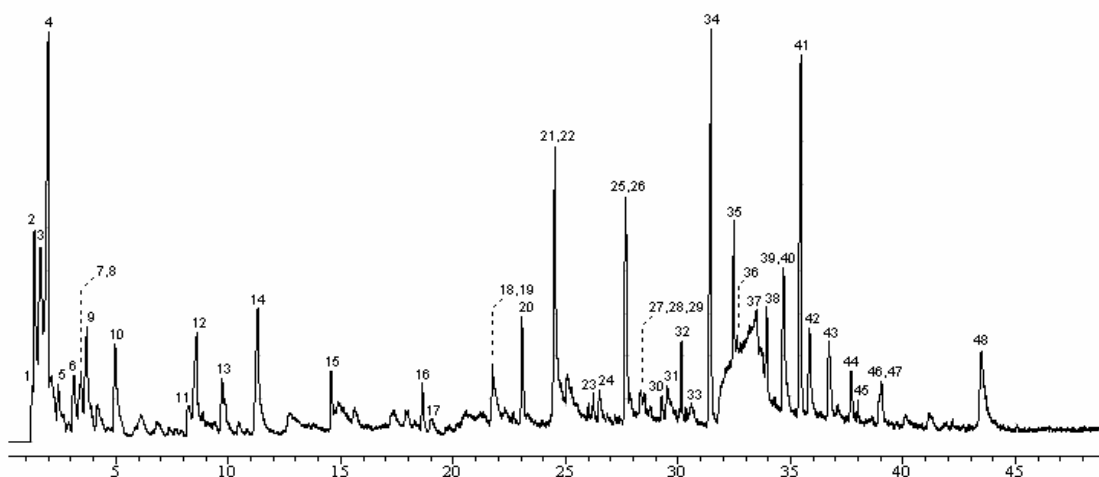


Figura 15: Pirograma da madeira de *Eucalyptus globulus*.

Os espectros de massas obtidos foram comparados com dados da literatura, sendo identificados 42 compostos (Tabela 1). Dentre eles, 11 correspondem a produtos de degradação dos carboidratos, enquanto 31 foram derivados das ligninas. Não foi possível a identificação de algumas substâncias devido à baixa resolução dos seus espectros de massas.

Tabela 1: Principais compostos identificados por Pi-CG-EM em madeiras de *Eucalyptus* spp.

N° do Pico*	TR (min)	<i>m/z</i>	Composto	MM	Origem
1	1.25	56, 58	N.I.	58	-
2	1.35	56, 55, 68, 72	N.I.	72	-
3	1.62	60, 55, 57	N.I.	60	-
4	1.96	60	Ácido Acético	60	C
5	2.40	86	N.I.	86	-
6	3.12	55, 84	Furan-2(3 <i>H</i>)-ona	84	C
7	3.39	73, 74	3-Hidroxiopropanal	74	C
8	3.40	55, 84	Furan-2(2 <i>H</i>)-ona	84	C
9	3.66	58, 57	N.I.	?	-
10	4.93	96, 95, 67	2-Furfuraldeído	96	C
11	8.19	55, 84	Furan-2(5 <i>H</i>)-ona	84	C
12	8.53	98, 55, 69	2,3-Diidro-5-metilfuran-2-ona	98	C
13	9.69	55, 86, 114	Metil-2-tetraidropiranona	114	C
14	11.28	114, 58, 57	5,6-Diidro-4-hidroxipiran-2(2 <i>H</i>)-ona	114	C

Tabela 2 (continuação)

15	14.54	109, 124, 81	Guaiacol	124	LG
16	18.58	138, 123, 95	4-Metilguaiacol	138	LG
17	19.04	69, 57, 70, 82	5-Hidroxiometil-2-tetraidrofuraldeído-3-ona	144	C
18	21.74	137, 152, 122	4-Etilguaiacol	152	LG
19	21.75	140, 125, 97	3-Metoxicatecol	140	LM
20	23.03	150, 135, 107	4-Vinilguaiacol	150	LG
21	24.49	154, 139, 111	Siringol	154	LS
22	24.50	164, 149, 77	Eugenol	164	LG
23	26.19	164, 149, 77	<i>cis</i> -Isoeugenol	164	LG
24	26.46	151,152, 109	Vanilina	152	LG
25	27.62	164, 149, 131	<i>trans</i> -Isoeugenol	164	LG
26	27.66	168, 153, 152	4-Metilsiringol	168	LS
27	28.29	137, 166, 122	Homovanilina	166	LG
28	28.45	162, 147, 91	G-CH=C=CH ₂	178	LG
29	28.70	162, 147, 91	G-CH=C=CH ₂	178	LG
30	29.23	151, 166, 123	Acetoguaiacona	166	LG
31	29.49	166, 151, 123	4-Hidroxivinilguaiacol	166	LG
32	30.11	167, 182, 107	4-Etilsiringol	182	LS
33	30.55	137, 180, 122	Guaiacilacetona	180	LG
34	31.44	180, 165 137	4-Vinilsiringol	180	LS
35	32.45	194, 91, 119	4-Alilsiringol	194	LS
36	32.60	167, 196, 123	4-Propilsiringol	196	LS
37	33.62	60, 57, 73	1,6-Anidro-β-D-glicopiranoose (levoglicosano)	162	C
38	33.90	194, 91, 179	<i>cis</i> -4-Propenilsiringol	194	LS
39	34.67	182, 181, 167	Siringaldeído	182	LS
40	34.81	192, 131, 177	S-CH=C=CH ₂	192	LS
41	35.43	194, 91,179	<i>trans</i> -4-Propenilsiringol	194	LS
42	35.83	167, 196, 123	Homosiringaldeído	196	LS
43	36.70	181, 196, 153	Acetosiringona	196	LS
44	37.67	167, 210	Siringilacetona	210	LS
45	37.96	208, 161, 133	N.I.	208	-
46	38.92	167, 210, 182	4-Propanalsiringol	210	LS
47	39.01	181, 210, 182	Propiosiringona	210	LS
48	43.45	208, 165, 137	Sinapaldeído	208	LS

N.I.: Não Identificado; C: carboidratos; LG: lignina guaiacila; LS: lignina siringila.

* O número do pico refere-se aos sinais designados na Figura 15.

As substâncias listadas na Tabela 1 foram identificadas em trabalhos anteriores utilizando a Pi-CG-EM (DEL RÍO *et al.*, 2005; IBARRA *et al.*, 2005; DEL RÍO *et al.*, 2002; YOKOI *et al.*, 2001, OUDIA *et al.*, 2007; SILVA, 2006) e suas estruturas químicas estão apresentadas nas Figuras 16, 17A e 17B.

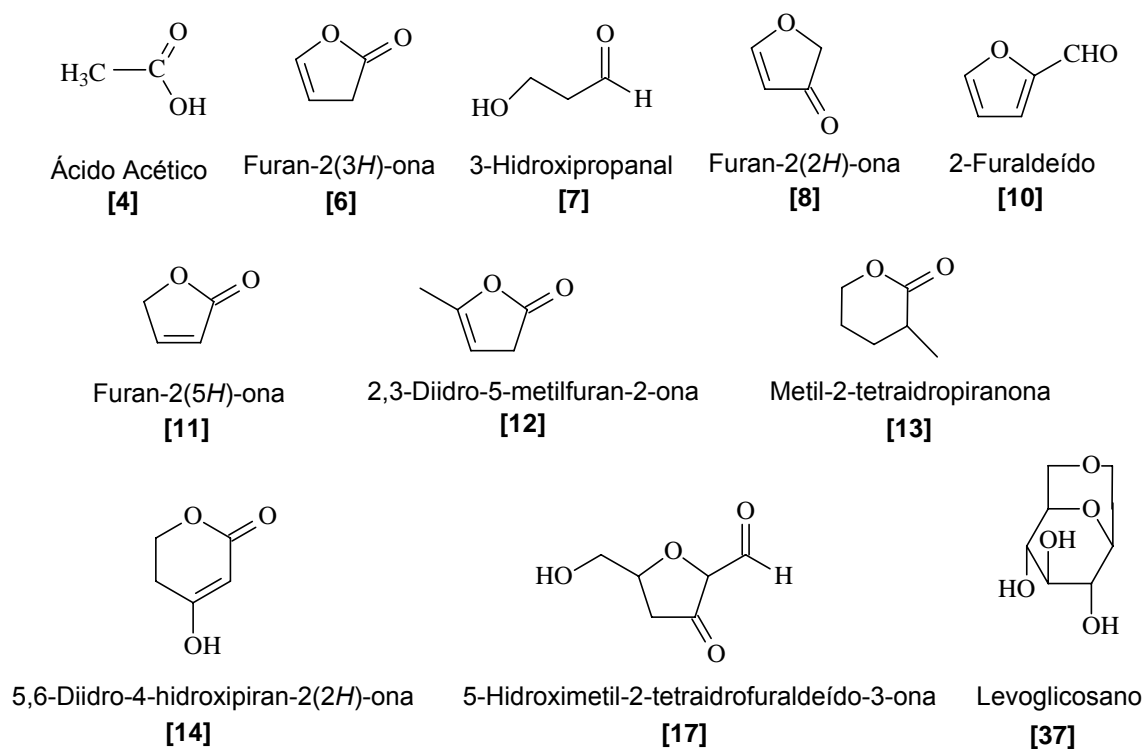


Figura 16: Compostos originados da pirólise dos carboidratos presentes em madeiras de *Eucalyptus* spp.

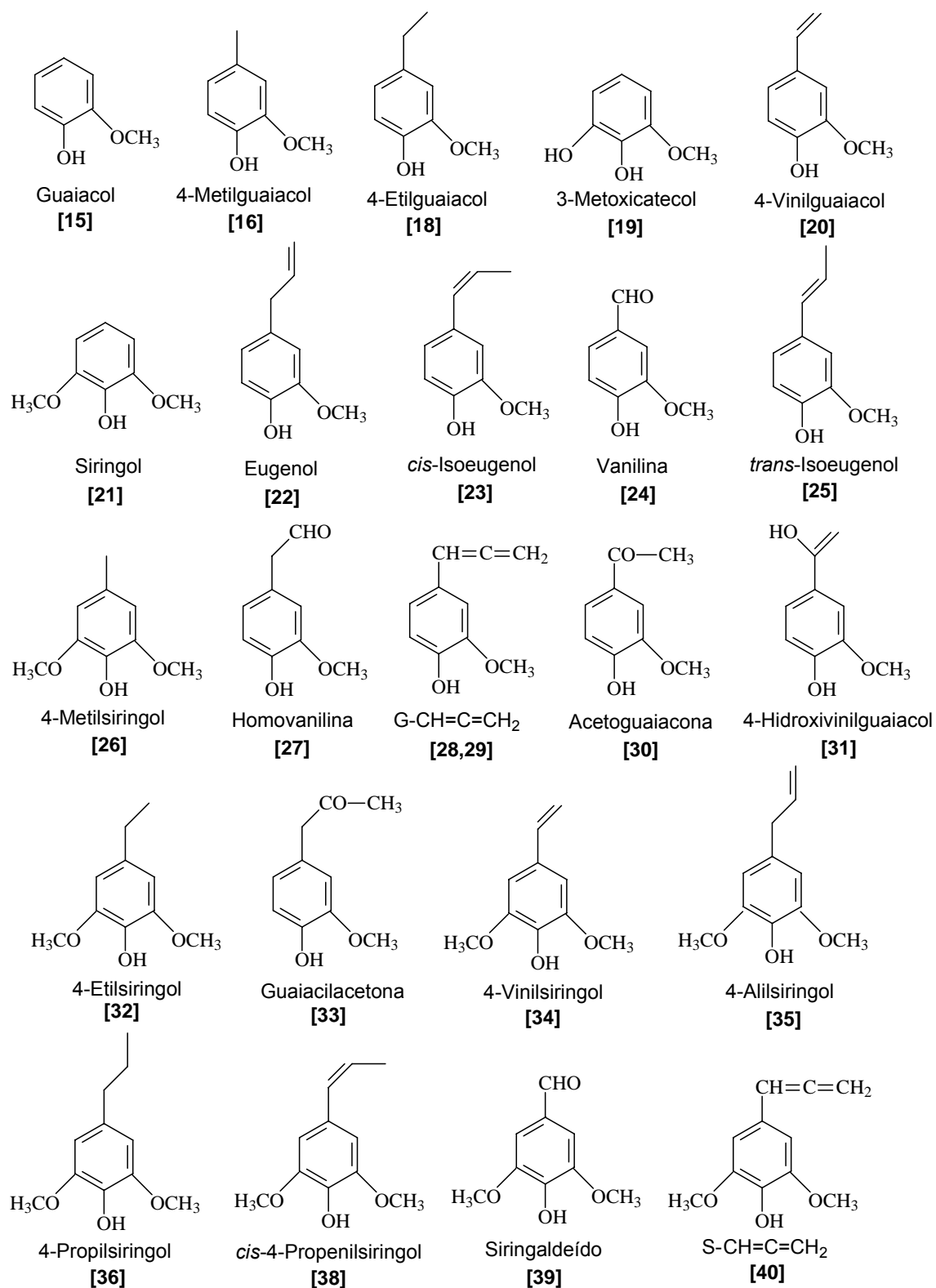


Figura 17A: Compostos originados da pirólise da lignina presente em madeiras de *Eucalyptus* spp.

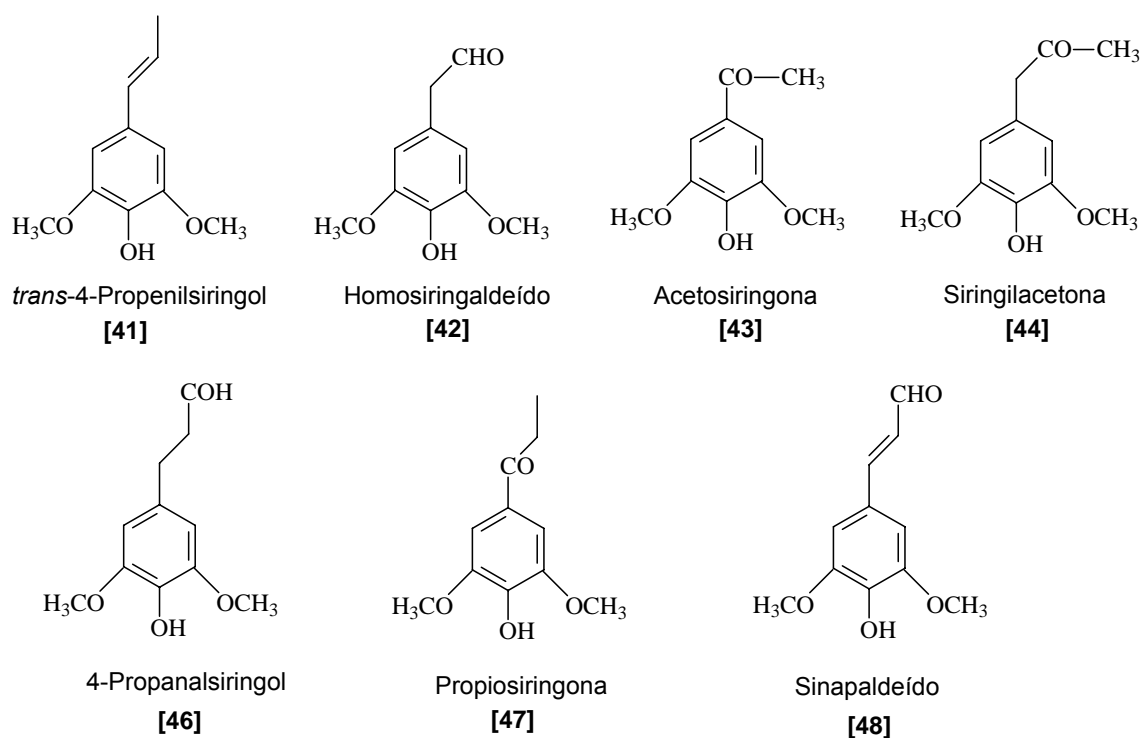


Figura 17B: Compostos originados da pirólise da lignina presente nas madeiras de *Eucalyptus* spp.

Em relação aos produtos de lignina, foi observado que 14 são pertencentes à unidade guaiacila, enquanto 16 são derivados da unidade siringila. No caso de derivados da unidade *p*-hidroxifenila, nenhum produto foi encontrado, possivelmente pelo seu baixo conteúdo em madeiras de eucalipto.

Segundo Nonier *et al.* (2006), durante a primeira etapa da pirólise de lignina, os grupos alcoólicos podem ser despolimerizados e termo-oxidados em seus aldeídos correspondentes, que produzem intermediários instáveis, provavelmente ácidos fenólicos. Esses compostos são convertidos em fenóis voláteis por meio de uma termodescarboxilação e, posteriormente, em cetonas fenólicas (Figura 18). De fato, a pirólise das amostras analisadas forneceu diversos fenóis, além de cetonas e aldeídos fenólicos, como mostra a Tabela 2.

Tabela 2: Compostos representantes das classes químicas dos fenóis, aldeídos fenólicos e cetonas fenólicas produzidos pela termodegradação da lignina em madeiras de *Eucalyptus* spp.

	Fenóis	Aldeídos	Cetonas
Guaiacol	Siringol	Vanilina	Acetoguaiacona
4-Metilguaiacol	4-Metilsiringol	Homovanilina	Acetosiringona
4-Etilguaiacol	4-Etilsiringol	Siringaldeído	Guaiacilacetona
4-Vinilguaiacol	4-Vinilsiringol	Homosiringaldeído	Siringilacetona
Eugenol	4-Alilsiringol	Sinapaldeído	Propiosiringona
(<i>cis</i> e <i>trans</i>)-Isoeugenol	(<i>cis</i> e <i>trans</i>)-Propenilsiringol		4-Propanalsiringol
G-CH=C=CH ₂	S-CH=C=CH ₂		
	4-Propilsiringol		

Compostos provenientes da degradação de lignina modificada também podem ser produzidos quando se utiliza temperatura de pirólise próxima de 600 °C, conforme observado em trabalhos anteriores (ALÉN *et al.*, 1996; GUTIÉRREZ *et al.*, 2006; SILVA, 2006). Entretanto, neste trabalho foi identificado apenas um derivado de lignina modificada, correspondente à substância 3-metoxicatecol [19]. Esse resultado está de acordo com o apresentado por Silva (2006), ao pirolisar amostras de serragem de eucalipto a 550 °C. A essa temperatura, a lignina sofre degradações menos intensas, evitando a formação de derivados modificados da lignina.

Em relação aos carboidratos, foi identificado o levoglicosano (1,6-anidro- β -D-glicopiranoose) [37], principal produto de degradação da celulose (ALÉN *et al.*, 1996). Verificou-se também a presença de outros compostos pirânicos [13,14], além de compostos furânicos [6,8,10,11,12,17], do ácido acético [4] e do 3-hidroxiopropanal [7]. Esses produtos são provenientes da degradação da celulose e das hemiceluloses (ALÉN *et al.*, 1996; NONIER *et al.*, 2006). O composto 5,6-diidro-4-hidroxipiran-2(2H)-ona [14], por exemplo, é um típico fragmento de degradação da xilana, principal hemicelulose de angiospermas (OUDIA *et al.*, 2007).

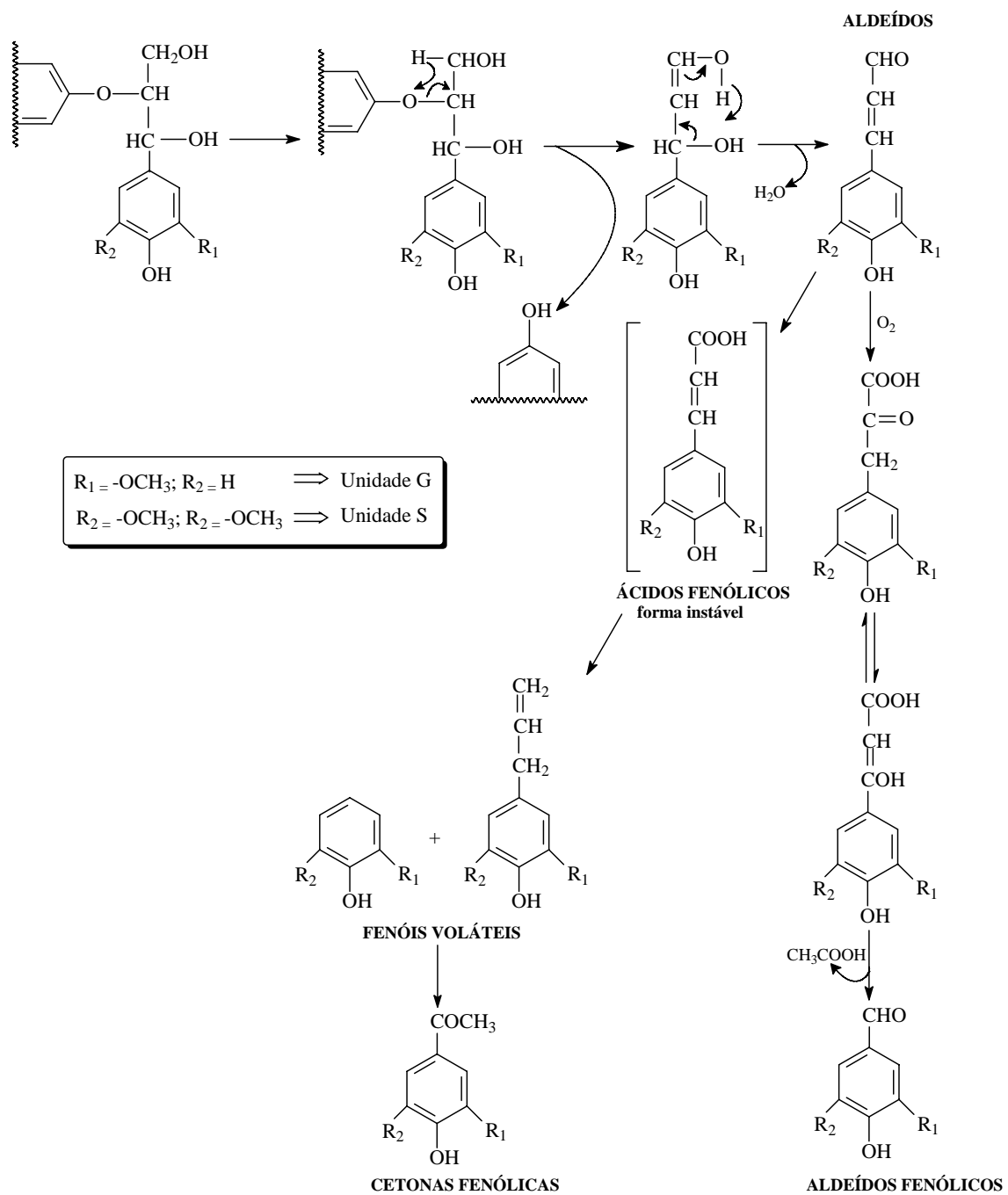


Figura 18: Rota da termodegradação da lignina (NONIER *et al.*, 2006).

2 ASPECTOS QUANTITATIVOS DA PIRÓLISE DA MADEIRA DE EUCALIPTO

Para analisar semi-quantitativamente o conteúdo de carboidratos e de ligninas presentes em cada amostra, foi determinada a área relativa média de cada composto identificado nas amostras de serragem. Os valores encontrados estão apresentados na Tabela 3. As áreas relativas foram obtidas por meio da integração dos sinais registrados no pirograma.

Tabela 3: Valores da área relativa média dos compostos identificados nas amostras de serragem de *Eucalyptus* spp.

Compostos	Área Relativa (%)						Origem
	<i>E. dunni</i>	<i>E. globulus</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. nitens</i>	<i>E. urograndis</i>	<i>E. urophylla</i>	
N.I.	0,59	0,62	0,57	0,54	0,89	0,92	-
N.I.	3,42	4,59	4,10	3,89	3,81	4,17	-
N.I.	4,16	5,25	4,89	4,28	5,00	4,96	-
Ácido acético	5,37	8,62	6,24	6,59	5,93	4,94	C
N.I.	0,27	0,45	0,30	0,34	0,30	0,29	-
Furan-2(3 <i>H</i>)-ona	0,86	1,40	1,03	1,09	1,07	0,91	C
3-Hidroxiopropanal*, Furan-2(2 <i>H</i>)-ona*	0,80	1,36	0,99	0,99	1,12	0,88	C
N.I.	0,96	2,50	1,67	1,57	1,57	1,34	-
2-Furfuraldeído	1,73	2,14	1,71	1,88	1,67	1,53	C
Furan-2(5 <i>H</i>)-ona	0,45	0,82	0,72	0,67	0,41	0,31	C
2,3-Diidro-5-metilfuran-2-ona	1,65	2,66	2,09	2,06	1,99	1,74	C
Metil-2-tetraidropiranona	0,82	0,88	0,78	0,89	0,69	0,62	C
5,6-Diidro-4-hidroxipiran-2(2 <i>H</i>)-ona	2,22	3,30	2,63	3,38	2,36	2,14	C
Guaiacol	0,47	0,85	0,80	0,67	0,87	0,72	LG
4-Metilguaiacol	0,51	0,62	0,76	0,59	0,99	0,74	LG
5-Hidroximetil-2-tetraidrofuraldeído-3-ona	1,40	0,39	0,66	0,66	0,70	0,60	C
4-Etilguaiacol*, 3-Metoxicatecol*	1,68	1,97	1,79	1,21	1,52	1,53	LG, LM
4-Vinilguaiacol	0,96	1,57	1,60	1,19	1,98	1,61	LG
Siringol*, Eugenol*	2,27	4,56	4,32	3,60	4,06	3,85	LS, LG
<i>cis</i> -Isoeugenol	0,22	0,23	0,24	0,21	0,28	0,24	LG
Vanilina	0,46	0,58	0,52	0,59	0,63	0,50	LG
<i>trans</i> -Isoeugenol	1,20	1,97	2,15	1,24	2,06	1,98	LG
4-Metilsiringol	2,17	2,31	2,56	2,60	2,79	1,99	LS
Homovanilina	0,49	0,48	0,56	0,51	0,64	0,56	LG
G-CH=C=CH ₂	0,18	0,40	0,22	0,25	0,30	0,26	LG
G-CH=C=CH ₂	0,09	0,13	0,06	0,08	0,11	0,09	LG
Acetoguaiacona	0,21	0,30	0,28	0,28	0,43	0,29	LG
4-Hidroxivinilguaiacol	0,55	0,87	0,63	0,76	0,48	0,73	LG
4-Etilsiringol	0,58	0,79	0,75	0,62	0,64	0,63	LS

Tabela 3 (continuação)

Acetoguaiacona	0,21	0,30	0,28	0,28	0,43	0,29	LG
4-Hidroxivinilguaiacol	0,55	0,87	0,63	0,76	0,48	0,73	LG
4-Etilsiringol	0,58	0,79	0,75	0,62	0,64	0,63	LS
Guaiacilacetona	0,51	0,46	0,48	0,49	0,45	0,48	LG
4-Vinilsiringol	3,71	6,26	5,62	4,92	5,06	4,46	LS
Levoglicosano	47,55	23,11	32,22	35,18	33,79	41,00	C
4-Alilsiringol	1,02	1,29	1,31	1,22	1,21	0,96	LS
4-Propilsiringol	0,12	0,22	0,18	0,16	0,19	0,12	LS
<i>Cis</i> -4-Propenilsiringol	0,60	0,74	0,76	0,71	0,81	0,60	LS
Siringaldeído	1,63	2,82	2,03	2,69	2,17	1,58	LS
S-CH=C=CH ₂	0,20	0,36	0,23	0,25	0,46	0,22	LS
<i>trans</i> -4-Propenilsiringol	2,57	4,73	4,56	4,04	4,46	3,58	LS
Homosiringaldeído	1,07	1,43	1,43	1,65	1,35	1,38	LS
Acetosiringona	1,28	1,55	1,40	1,57	1,25	1,25	LS
Siringilacetona	0,56	0,79	0,80	0,77	0,64	0,62	LS
N.I.	0,13	0,14	0,15	0,14	0,11	0,11	-
4-Propanalsiringol	0,16	0,36	0,39	0,28	0,29	0,32	LS
Propiosiringona	0,54	0,68	0,68	0,69	0,57	0,55	LS
Sinapaldeído	1,60	2,43	2,13	2,01	1,90	1,69	LS
% Área dos Derivados de Carboidratos	62,85	44,68	49,07	53,39	49,73	54,67	
% Área dos Derivados de Lignina	27,61	41,75	39,24	35,85	38,59	33,53	

N.I.: não identificado; C: carboidratos; LG: lignina guaiacila; LS: lignina siringila.

* Sobreposição dos sinais

Conforme pode ser observado na Tabela 3, a área relativa dos carboidratos variou de 45 a 63% nas diferentes amostras de madeira dos eucaliptos, enquanto os produtos de lignina forneceram de 28 a 42% da área total quantificada nos pirogramas.

Esses resultados sugerem uma alta variabilidade do conteúdo desses componentes nas madeiras estudadas. Del Río *et al.* (2005), ao pirolisar diferentes amostras de madeira de *E. globulus* a 550 °C, verificou que a elevada variabilidade do conteúdo de carboidratos e de lignina é observada também em árvores da mesma espécie.

Vale destacar que, além de predominantes, os produtos de fragmentação da estrutura siringila forneceram sinais mais intensos do que seus respectivos derivados guaiacila. Esse comportamento também foi observado por outros autores (IBARRA *et al.*, 2005; DEL RÍO *et al.*, 2005), indicando um maior conteúdo de grupos siringila, característico em ligninas de angiospermas (grupo no qual pertencem os eucaliptos).

Os sinais mais intensos foram aqueles dos compostos guaiacol [15], 4-metilguaiacol [16], 4-vinilguaiacol [20] e *trans*-isoeugenol [25], correspondendo a mais da metade da área total dos produtos guaiacila em todas as amostras. No caso do grupo siringila, os compostos 4-metilsiringol [26], 4-vinilsiringol [34], siringaldeído [39] e *trans*-4-propenilsiringol [41] foram os mais significativos.

Por causa da coeluição de algumas substâncias, alguns sinais apareceram sobrepostos a outros, como nos casos do 4-etilguaiacol [18] com o 3-metoxicatecol [19] e do siringol [21] com o eugenol [22]. Devido à ocorrência dessas misturas, não foi possível quantificar a área relativa do sinal de cada um desses compostos isoladamente.

Em relação aos carboidratos, houve um sinal pouco resolvido e extremamente intenso, com área relativa média entre 23 e 48%, referente ao levoglicosano [37]. Essa alta intensidade pode ser explicada pelo elevado teor de celulose em madeiras de eucalipto. Outro sinal com intensidade bastante considerável foi o do ácido acético [4], contribuindo de 5 a 9% para a área relativa total.

3 DETERMINAÇÃO DA RELAÇÃO SIRINGILA/GUAIACILA (S/G)

No intuito de verificar o conteúdo de lignina em termos de suas unidades estruturais, a relação S/G foi determinada como descrito por Nonier *et al.* (2006). Essa determinação baseou-se no cálculo da razão entre as áreas relativas dos sinais correspondentes aos derivados siringila e guaiacila. Para fins de comparação, a relação S/G foi estimada também pela oxidação alcalina com nitrobenzeno (método de referência), sendo que nesta última, os resultados foram expressos em termos dos produtos de oxidação da lignina, siringaldeído e vanilina (S/V).

A média da relação S/G foi estimada para cada espécie pelos métodos de estudo e de referência, e os valores encontrados estão apresentados na Tabela 4, juntamente com seus respectivos desvios padrão.

Tabela 4: Valores da relação siringila/guaiacila (S/G) estimados nas amostras de *Eucalyptus* spp. por Pi-CG-EM e oxidação alcalina com nitrobenzeno.

ESPÉCIE	Pi-CG-EM		Oxidação com Nitrobenzeno	
	Relação S/G	Desvio Padrão	Relação S/G	Desvio Padrão
<i>E. dunnii</i>	3,0	0,12	3,0	0,04
<i>E. globulus</i>	3,2	0,38	4,3	0,05
<i>E. grandis</i>	3,0	0,12	2,7	0,02
<i>E. nitens</i>	3,5	0,06	3,2	0,01
<i>E. urograndis</i>	2,6	0,29	2,0	0,01
<i>E. urophylla</i>	2,4	0,25	2,4	0,01

S/G: relação siringila/guaiacila.

De acordo com os dados da Tabela 4, observou-se que os valores da relação S/G encontrados por Pi-CG-EM foram semelhantes aos valores obtidos pelo método de oxidação alcalina com nitrobenzeno para as amostras de *E. dunnii* e *E. urophylla*. No caso das amostras de *E. grandis* e *E. nitens* foi detectada uma pequena variação nos valores de S/G estimados pelos dois métodos. Já para as amostras de *E. urograndis* e *E. globulus*, os resultados obtidos por Pi-CG-EM foram distintos

daqueles fornecidos pelo método de referência, além de terem apresentado desvios padrão mais elevados.

Na tentativa de melhorar os resultados e simplificar a metodologia, outro estudo foi realizado, empregando marcadores de lignina. Silva (2006) verificou que ao utilizar oito compostos para a determinação de S/G nas espécies *E. grandis* e *E. urograndis*, os valores se aproximaram daqueles obtidos pela oxidação com nitrobenzeno. Marcadores de lignina foram também usados por Del Ríó *et al.* (2001b) no estudo da relação S/G em polpas celulósicas.

Assim, alguns compostos foram estabelecidos como marcadores de lignina. Dentre os derivados guaiacila foram selecionados os compostos guaiacol, 4-metilguaiacol, 4-vinilguaiacol e vanilina e como derivados siringila foram usados 4-etilsiringol, 4-vinilsiringol, homovanilina, siringaldeído e siringilacetona. Essas substâncias foram escolhidas pelo fato de apresentarem sinais bem definidos e sem presença de impurezas.

Na Tabela 5 estão apresentados os valores da relação S/G encontrados nas amostras das espécies de eucalipto, utilizando somente a área relativa dos marcadores.

Tabela 5: Área relativa dos marcadores encontrados pela pirólise da lignina e a relação siringila/guaiacila (S/G) das seis espécies de eucalipto.

MARCADORES DE LIGNINA	<i>E.dunni</i>		<i>E.globulus</i>		<i>E.grandis</i>		<i>E.nitens</i>		<i>E.urograndis</i>		<i>E.urophylla</i>	
	AR%	DP	AR%	DP	AR%	DP	AR%	DP	AR%	DP	AR%	DP
Guaiacila												
Guaiacol	0,47	0,01	0,85	0,02	0,80	0,04	0,67	0,07	0,87	0,16	0,72	0,08
4-Metilguaiacol	0,51	0,03	0,62	0,05	0,76	0,04	0,59	0,12	0,99	0,12	0,74	0,08
4-Vinilguaiacol	0,96	0,09	1,57	0,07	1,60	0,16	1,19	0,11	1,98	0,14	1,61	0,18
Vanilina	0,46	0,09	0,58	0,08	0,52	0,07	0,59	0,08	0,63	0,01	0,50	0,07
Siringila												
4-Etilsiringol	0,58	0,03	0,79	0,07	0,75	0,05	0,62	0,11	0,64	0,11	0,63	0,08
4-Vinilsiringol	3,71	0,18	6,26	0,21	5,62	0,33	4,92	0,41	5,06	0,99	4,46	0,42
Homosiringaldeído	1,07	0,17	1,43	0,10	1,43	0,16	1,65	0,17	1,35	0,12	1,38	0,14
Acetosiringona	1,28	0,19	1,55	0,09	1,40	0,03	1,57	0,17	1,25	0,01	1,25	0,02
Siringilacetona	0,56	0,13	0,79	0,02	0,80	0,04	0,77	0,12	0,64	0,10	0,62	0,06
S/G (Pi-CG-EM)	3,0	0,00	3,0	0,06	2,7	0,10	3,1	0,12	2,0	0,17	2,3	0,06
S/G (Nitrobenzeno)	3,0	0,04	4,3	0,05	2,7	0,02	3,2	0,01	2,0	0,01	2,4	0,01

AR%: área relativa (em porcentagem); DP: desvio padrão; S/G: relação siringila/guaiacila.

Com exceção do *Eucalyptus globulus*, verificou-se que as substâncias usadas como marcadores forneceram resultados semelhantes àqueles obtidos pela oxidação com nitrobenzeno para todas as espécies analisadas (Tabela 5). Desse modo, observou-se que apenas nove compostos foram suficientes para a determinação da relação S/G.

Para correlacionar os resultados obtidos pelo método de estudo utilizando os marcadores e o método de referência, construiu-se um gráfico em termos da relação S/G (Figura 19).

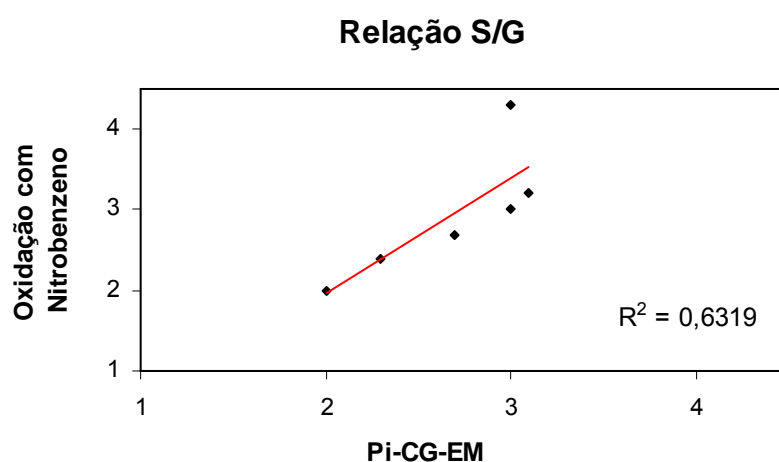


Figura 19: Gráfico da relação S/G obtida pelos métodos de oxidação com nitrobenzeno e de Pi-CG/EM utilizando os marcadores de lignina, considerando as seis espécies de eucalipto analisadas.

De acordo com a Figura 19, pode-se perceber que não houve boa correlação entre os valores de S/G obtidos pela pirólise e pelo método de referência, devido a não linearidade do gráfico oxidação com nitrobenzeno x Pi-CG-EM. Isso porque a amostra da serragem de *E. globulus*, que apresenta lignina com elevado conteúdo de estrutura siringila, interferiu na linearidade da reta. No caso dessa espécie, foi necessária a adição de um outro marcador siringila, o composto *trans*-4-propenilsiringol (área relativa média de 4,73%), obtendo-se, assim, relação S/G de 4,3, similar ao encontrado pelo método de referência.

No entanto, desprezando a amostra do *E. globulus*, verificou-se uma boa correlação entre os resultados obtidos pelos dois métodos para as demais espécies, obtendo um coeficiente de regressão linear satisfatório (Figura 20). Desse modo, pode-se observar que os marcadores listados na Tabela 5 puderam ser aplicados satisfatoriamente apenas às espécies com baixos valores de S/G.

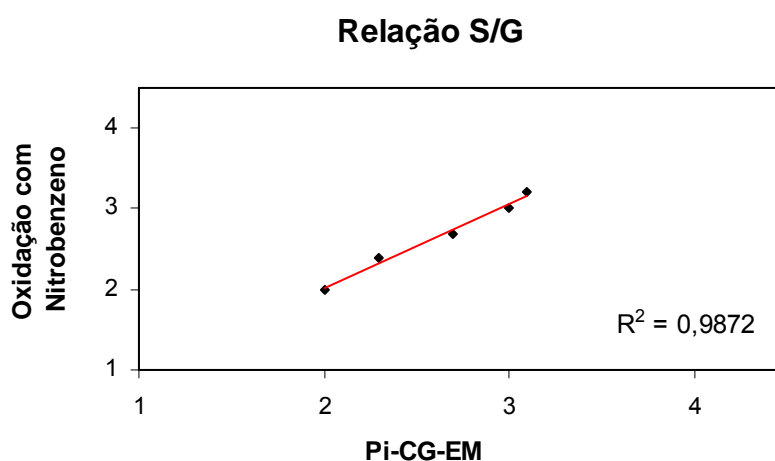


Figura 20: Gráfico da relação S/G obtida pelos métodos de oxidação com nitrobenzeno e de Pi-CG/EM utilizando os marcadores de lignina, desprezando a espécie *E. globulus*.

Para verificar a influência da área dos carboidratos nos resultados da relação S/G, os cálculos foram realizados também a partir das áreas absolutas médias dos sinais dos marcadores de lignina. Os resultados obtidos estão mostrados na Tabela 6.

Tabela 6: Áreas absolutas dos sinais dos marcadores e os valores da relação S/G para as seis espécies de eucalipto.

MARCADORES DE	Área Absoluta Média					
	<i>E. dunni</i>	<i>E. globulus</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. nitens</i>	<i>E. urograndis</i>	<i>E. urophylla</i>
LIGNINA						
Guaiacila						
Guaiacol	1568471	2116967	2246618	2074881	2005475	1649203
4-Metilguaiacol	1719263	1527296	2118135	1874606	2270991	1692001
4-Vinilguaiacol	3167435	3891243	4459189	3754750	4496168	3653516
Vanilina	1501523	1447323	1481493	1863730	1429319	1148905
Siringila						
4-Etilsiringol	1957959	1958045	2103957	1947861	1485043	1417646
4-Vinilsiringol	12124932	15390329	15969609	15353315	12161888	10641183
Homosiringaldeído	3968089	3939597	4194761	5775736	2785790	2738977
Acetosiringona	4176141	3843004	3911011	4956225	2707402	2826733
Siringilacetona	1913383	1951274	2255114	2453764	1473717	1408194
Relação S/G	3,0	3,0	2,7	3,1	2,0	2,3

De acordo com os resultados encontrados (Tabela 6), nenhuma mudança nos valores de S/G foi verificada utilizando a área absoluta e a área relativa dos marcadores. Portanto, é possível determinar a relação S/G considerando somente as áreas absolutas dos produtos de degradação da lignina, o que torna a metodologia mais rápida.

4 VARIABILIDADE DA RELAÇÃO S/G NAS ESPÉCIES DE EUCALIPTO

Em relação à variabilidade estrutural de lignina dentro de um mesmo gênero, verificou-se que a madeira do híbrido *E. urograndis* foi a que apresentou menor conteúdo de lignina siringila, possuindo uma relação S/G igual a 2,0, praticamente a metade daquela encontrada para a espécie *E. globulus* (Figura 21).

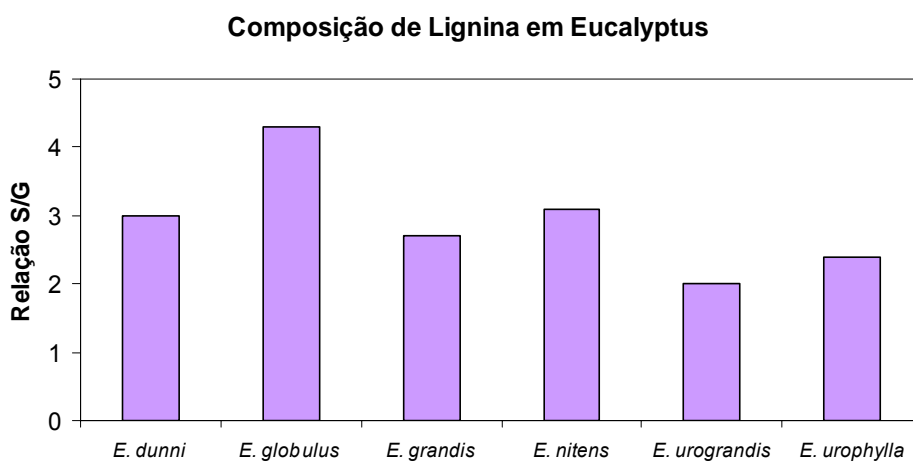


Figura 21: Gráfico da variação de S/G nas espécies de eucalipto.

É bem conhecido que tratamentos químicos causam diferentes comportamentos em lignina do tipo guaiacila e siringila, sendo fator importante para processos de polpação e seleção de árvores (TAKAYAMA *et al.*, 1997).

De acordo com os resultados obtidos nesse trabalho, observa-se que a madeira que se destaca para a produção de papel, em termos das características estruturais de lignina, é a da espécie *E. globulus*, uma vez que apresenta maior relação S/G. Segundo González-Vila *et al.* (1999), esta espécie apresentou maior facilidade de deslignificação, necessitando menor consumo de reagentes quando comparada a outras espécies de eucalipto. O maior valor da relação S/G é um dos fatores que a torna uma das principais matérias-primas da indústria de celulose e papel.

Conclusões

A técnica de Pi-CG-EM mostrou-se útil na determinação das unidades estruturais em ligninas presentes nas madeiras de eucalipto, possuindo várias vantagens em relação ao método de referência (oxidação alcalina com nitrobenzeno), principalmente pelo menor consumo de amostra e rapidez das análises.

A metodologia empregada neste trabalho foi bastante eficiente na determinação da relação S/G para cinco das seis espécies estudadas, quando empregando nove marcadores de lignina (guaiacol, 4-metilguaiacol, 4-vinilguaiacol, vanilina, 4-etilsiringol, 4-vinilsiringol, homovanilina, siringaldeído e siringilacetona). Entretanto, para uma espécie em especial, *Eucalyptus globulus*, necessitou-se atribuir mais um marcador, o *trans*-4-propenilsiringol.

Através dos estudos realizados, foi comprovado haver uma variabilidade estrutural de lignina dentro do gênero de eucalipto. A espécie que apresentou maior relação S/G foi *Eucalyptus globulus*, aproximadamente duas vezes maior do que o híbrido *Eucalyptus urograndis*.

Novos estudos devem ser realizados em outros clones de eucaliptos, para verificar se a metodologia empregando os marcadores de lignina propostos neste trabalho é válida para indivíduos da mesma espécie.

Referências Bibliográficas

AIMI, H.; MATSUMOTO, Y.; MESHITSUKA, G. Structure of small lignin fragments retained in water-soluble polysaccharides extracted from birch MWL isolation residue. **Journal of Wood Science**, v.51, p.303-308, 2005.

ALÉN, R.; KUOPPALA, E.; OESCH, P. Formation of the main degradation compound groups from wood and its components during pyrolysis. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.36, p.137-148, 1996.

AOYAMA, W.; MATSUMURA, A.; TSUTSUMI, Y.; NISHIDA, T. Lignification and peroxidase in tension wood of *Eucalytus viminalis* seedlings. **Journal of Wood Science**, v.47, p.419-424, 2001.

CAMPBELL, M.M.; SEDEROFF, R.R. Variation in lignin content and composition. Mechanism of control and implications for the genetic improvement of plants. **Plant Physiology**, v.110, p.3-13, 1996.

CAPANEMA, E.A.; BALAKSHIN, M.Y.; KADLA, J.F. Quantitative characterization of a hardwood milled wood lignin by nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal of agricultural and food chemistry**, v.53, p.9639-9649, 2005.

CHALLINOR, J.M. Characterisation of wood by pyrolysis derivatisation-gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.35, p.93-107, 1995.

CHEN, F.; YASUDA, S.; FUKUSHIMA, K. Evidence for a novel biosynthetic pathway that regulates the ratio of syringyl to guaiacyl residues in lignin in the differentiating xylem of *Magnolia kobus* DC. **Planta**, v.207, p.597-603, 1999.

COLLINS, D.J.; PILOTTI, C.A.; WALLIS, A.F.A. Correlation of chemical composition and kraft pulping properties of some Papua New Guinea reforestation woods. **Appita**, v.43, n.3, p.193-198, 1990.

DEL RÍO, J.C.; GUTIÉRREZ, A.; HERNANDO, M.; LANDÍN, P.; ROMERO, J.; MARTÍNEZ, A. T. Determining the influence of eucalypt lignin composition in paper pulp yield using Py-GC/MS. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.74, p.110-115, 2005.

DEL RÍO, J.C.; SPERANZA, M.; GUTIÉRREZ, A.; MARTÍNEZ, M.J.; MARTÍNEZ, A.T. Lignin attack during eucalypt wood decay by selected basidiomycetes: a Py-GC/MS study. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.64, p.421-431, 2002.

DEL RÍO, J.C.; GUTIÉRREZ, A.; MARTÍNEZ, M.J.; MARTÍNEZ, A.T. Py-GC/MS study of *Eucalyptus globulus* wood treated with different fungi. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.58-59, p.441-452, 2001a.

DEL RÍO, J.C.; GUTIÉRREZ, A.; ROMERO, J.; MARTÍNEZ, M.J.; MARTÍNEZ, A.T. Identification of residual lignin markers in eucalypt kraft pulps by Py-GC/MS. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.58-59, p.425-439, 2001b.

EVTUGUIN, D.V.; NETO, C.P.; SILVA, M.S.; DOMINGUES, P.M.; AMADO, F.M.L.; ROBERT, D.; FAIX, O. Comprehensive study on the chemical structure of dioxane lignin from plantation *Eucalyptus globules* wood. **Journal of agricultural and food chemistry**, v.49, p.4252-4261, 2001.

GALLETTI, G.C.; BOCCHINI, P. Pyrolysis/Gas Chromatography/Mass Spectrometry of Lignocellulose. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v.9, p.815-826, 1995.

GOMIDE, J.L.; COLODETTE, J.L.; OLIVEIRA, R.C.; SILVA, C.M. Caracterização tecnológica, para produção de celulose, da nova geração de clones de *Eucalyptus* do Brasil. **Revista Árvore**, v.29, n.1, p.129-137, 2005.

GONZÁLEZ-VILA, F.J.; ALMENDROS, G.; DER RÍO, J.C.; MARTIN, F.; GUTIÉRREZ, A.; ROMERO, J. Ease of delignification assessment of wood from different *Eucalyptus* species by pyrolysis (TMAG)-GC/MS and CP/MAS ¹³C-NMR spectrometry. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.49, p.295-305, 1999.

GRIMA-PETTENATI, J.; GOFFNER, D. Lignin genetic engineering revisited. **Plant Science**, v.145, p.51-65, 1999.

GUTIÉRREZ, A.; RODRÍGUEZ, I.M.; DEL RÍO, J.C. Chemical characterization of lignin fractions in industrial hemp bast fibers used for manufacturing high-quality paper pulps. **Journal of agricultural and food chemistry**, v.54, p.2138-2144, 2006.

HATFIELD, R.; VERMERRIS, W. Lignin formation in plants. The dilemma of linkage specificity. **Plant Physiology**, v.126, p.1351-1357, 2001.

HON, D.N.-S.; SHIRAISHI, N. **Wood and cellulosic chemistry**. 2. ed. rev. e aum. New York: Marcel Dekker, 2001. 914p.

ISHIDA, Y.; GOTO, K; HIROAKI, Y; TSUGE, S.; OHTANI, H. SONODA, T.; ONA, T. Direct analysis of phenolic extractives in wood by thermochemolysis-gas chromatography in the presence of tetrabutylammonium hydroxide. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.78, p.200-206, 2007.

IBARRA, D.; DEL RÍO, J.C.; GUTIÉRREZ, A.; RODRÍGUEZ, I.M.; ROMERO, J.; MARTÍNEZ, M.J.; MARTÍNEZ, A.T. Chemical characterization of residual lignins from eucalypt paper pulps. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.74, p.116-122, 2005.

KURODA, K.; NAKAGAWA-IZUMI, A. Tetramethylammonium hydroxide of guaiacyl-syringyl and guaiacyl dehydrogenation polymers. **Organic Geochemistry**, v.36, p.53-61, 2005.

KURODA, K.; IZUMI, A.; MAZUMDER, B.B.; OHTANI, Y.; SAMESHIMA, K. Characterization of kenaf (*Hibiscus cannabinus*) lignin by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry in the presence of tetramethylammonium hydroxide. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.64, p.453-463, 2002a.

KURODA, K.; NISHIMURA, N.; IZUMI, A.; DIMMEL, D.R. Pyrolysis of lignin in the presence of tetramethylammonium hydroxide: A convenient method for S/G ratio determination. **Journal of agricultural and food chemistry**, v.50, p.1022-1027, 2002b.

LIN, S.Y.; DENCE, C.W. **Methods in lignin chemistry**. Berlin: Springer Verlag, 1992. 578p.

MARTÍNEZ, A.T.; ALMENDROS, G.; GONZÁLEZ-VILA, F.J.; FRÜND, R. Solid-state spectroscopic analysis of lignins from several Austral hardwoods. **Solid State Nuclear Magnetic Resonance**, v.15, p.41-48, 1999.

MORAIS, S.A.L.; NASCIMENTO, E.A.; MELO, D.C. Análise da madeira do *Pinus oocarpa*. Parte II – caracterização estrutural da lignina de madeira moída. **Revista Árvore**, v.29, n.3, p.471-478, 2005.

NETO, C.P; EVTUGUIN, D.; PINTO, P.; SILVESTRE, A.; FREIRE, C.
Química da madeira de *Eucalyptus globulus*: especificidades e impacto nos processos de cozimento e de branqueamento.

Disponível em:

<www.tecnicpa.com/files/quimicadamadeiradeeucalyptusglobulus.pdf>.

Acesso em: 17 jul. 2007.

NONIER, M.F; VIVAS, N.; GAULEJAC, N.V.; ABSALON, C.; SOULIÉ, P.; FOUQUET, E. Pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry of *Quercus* sp. Wood. Application to structural elucidation of macromolecules and aromatic profiles of different species. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.75, p.181-193, 2006.

ODIA, A.; MÉSZÁROS, E.; SIMÕES, R.; QUEIROZ, J.; JAKAB, E. Pyrolysis-GC/MS and TG/MS study of mediated laccase biodelignification of *Eucalyptus globulus* kraft pulp. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.78, p.233-242, 2007.

PÉREZ, J.; MUÑOZ-DORADO, J.; DE LA RUBIA, T.; MARTÍNEZ, J. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. **Int. Microbiology**, v.5, p.53-63, 2002.

PILÓ-VELOSO, D.; NASCIMENTO, E.A.; MORAIS, S.A.L. Isolamento e análise estrutural de ligninas. **Química Nova**, v.16, n.5, p.435-448, 1993.

POUTSMA, M.L. Fundamental reactions of free radicals relevant to pyrolysis reactions. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.54, p.5-35, 2000.

RALPH, J.; HATFIELD, R.D. Pyrolysis-GC-MS Characterization of Forage Materials. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.39, p.1426-1437, 1991.

ROWELL, R.M. **Handbook of wood chemistry and wood composites**. Boca Raton: CRC Press, 2005. 487p.

RODRIGUES, J.; MEIER, D; FAIX, O.; PEREIRA, H. Determination of tree to tree variation in syringyl/guaiacyl ratio of *Eucalyptus globulus* wood lignin by analytical pyrolysis. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.48, p.121-128, 1999.

SALIBA, E.O.S.; RODRIGUEZ, N.M.; MORAIS, S.A.L.; PILÓ-VELOSO, D. Ligninas - Métodos de obtenção e caracterização química. **Ciência Rural**, v.31, n.5, p.917-928, 2001.

SALO, S.; NIEMELÄ, S.; ELOMAA, M.; LINDBERG, J.J. Identification of lignins by pyrolysis methods. **Holzforschung**, v.43, n.4, p.257-260, 1989.

SHATALOV, A.A.; EVTUGUIN, D.V.; NETO, C.P. (2-O- α -D-Galactopiranosyl-4-O-methyl- α -D-glucurono)-D-xylan from *Eucalyptus globulus* Labill. **Carbohydrate Research**, v. 320, p. 93-99, 1999.

SILVA, V. L. **Caracterização de ligninas de *Eucalyptus* spp. pela técnica de pirólise associada à cromatografia gasosa e à espectrometria de massas**. Viçosa 2006. 68p. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa.

TAKAYAMA, M.; JOHJIMA, T.; YAMANAKA, T.; WARIISHI, H.; TANAKA, H. Fourier transform Raman assignment of guaiacyl and syringyl marker bands for lignin determination. **Spectrochimica Acta Part A**, v.53, p.1621-1628, 1997.

TERRÓN, M.C.; FIDALGO, M.L.; GALLETI, G.C.; GONZÁLEZ, A.E. Pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry of milled wood lignin of two Chilean woods naturally decayed by *Ganoderma australe*, *Phlebia chrysocrea* and a brown-rot fungus. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.33, p.61-75, 1995.

TSUTSUMI, Y.; KONDO, R.; SAKAI, K.; IMAMURA, H. The difference of reactivity between syringyl lignin and guaiacyl lignin in alkaline systems. **Holzforschung**, v.49, n.5, p.423-428, 1995.

VAN DER HAGE, E.R.E.; MULDER, M.M.; BOON, J.J. Structural characterization of lignin polymers by temperature-resolved in-source pyrolysis-mass spectrometry and Curie-point pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.25, p.149-183, 1993.

VINCIGUERRA, V.; NAPOLI, A.; BISTONI, A.; PETRUCCI, G.; SGHERZI, R. Wood decay characterization of a naturally infected London plane-tree in urban environment using Py-GC/MS. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.78, p.228-231, 2007.

ZIER, N.; SCHIENE, R.; FISCHER, K. Structural characterization of non-organosolv lignin by analytical pyrolysis and wet chemical degradation methods. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.40-41, p.525-551, 1997.

YOKOI, H.; NAKASE, T.; ISHIDA, Y.; OHTANI, H.; TSUGE, S.; SONODA, T.; ONA, T. Discriminative analysis of *Eucalyptus camaldulensis* grown from seeds of various origins based on lignin components measured by pyrolysis-gas chromatography. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.57, p.145-152, 2001.

WALLIS, A.F.A.; WEARNE, R.H.; WRIGHT, P.J. Analytical characteristics of plantation eucalypt woods relating to kraft pulp yields. **Appita**, v.49, p.427-432, 1996.

WAMPLER, T.P. **Applied Pyrolysis Handbook**. New York: Marcel Dekker, 1995. 361p.

WAMPLER, T.P. Introduction to pyrolysis-capillary gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v.842, p.207-220, 1999.

Anexos

ANEXO A

PIROGRAMAS DA SERRAGEM DE *Eucalyptus dunni*

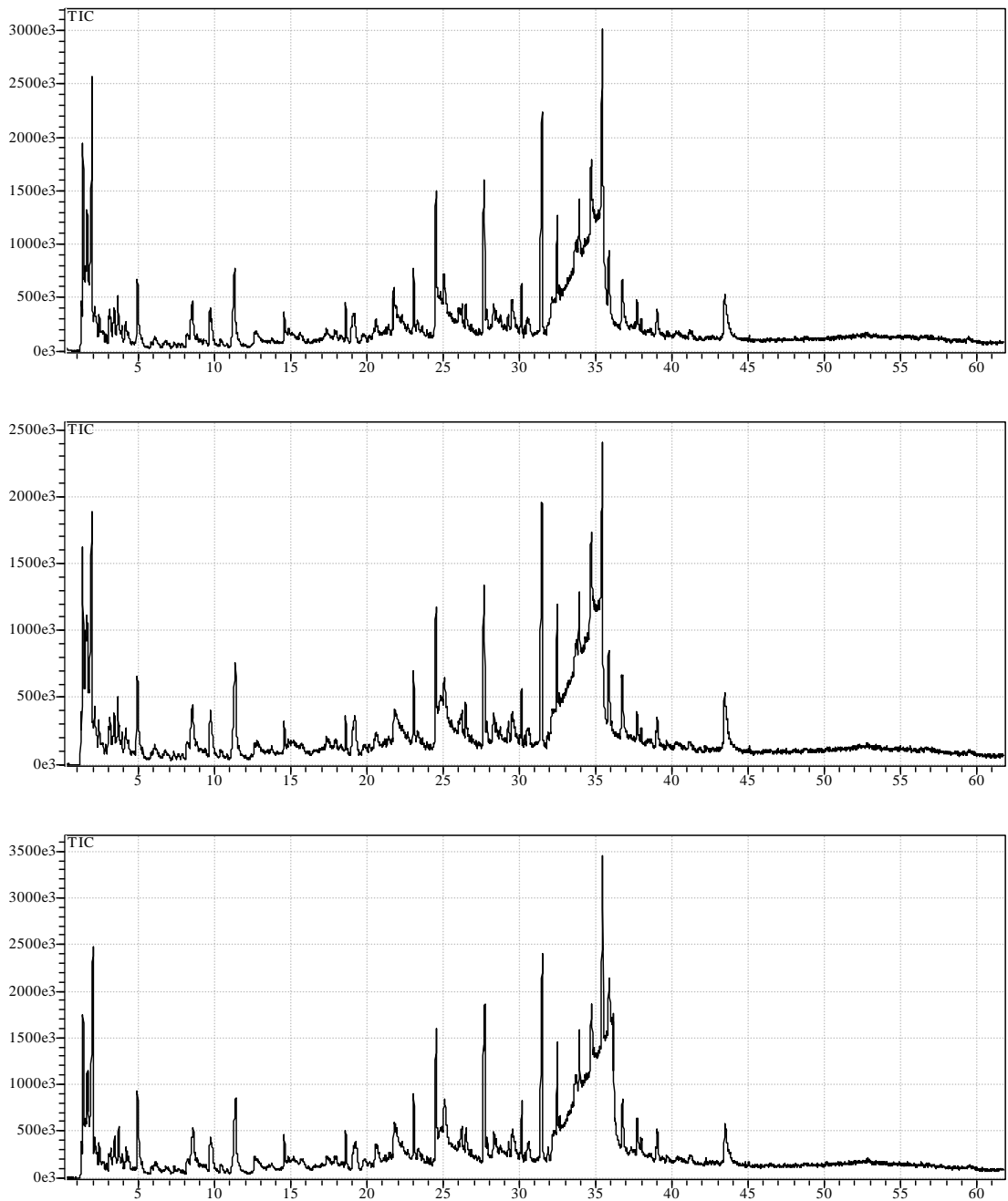


Figura 1A: Pirogramas da serragem de *Eucalyptus dunni* (triplicatas).

ANEXO B

PIROGRAMAS DA SERRAGEM DE *Eucalyptus globulus*

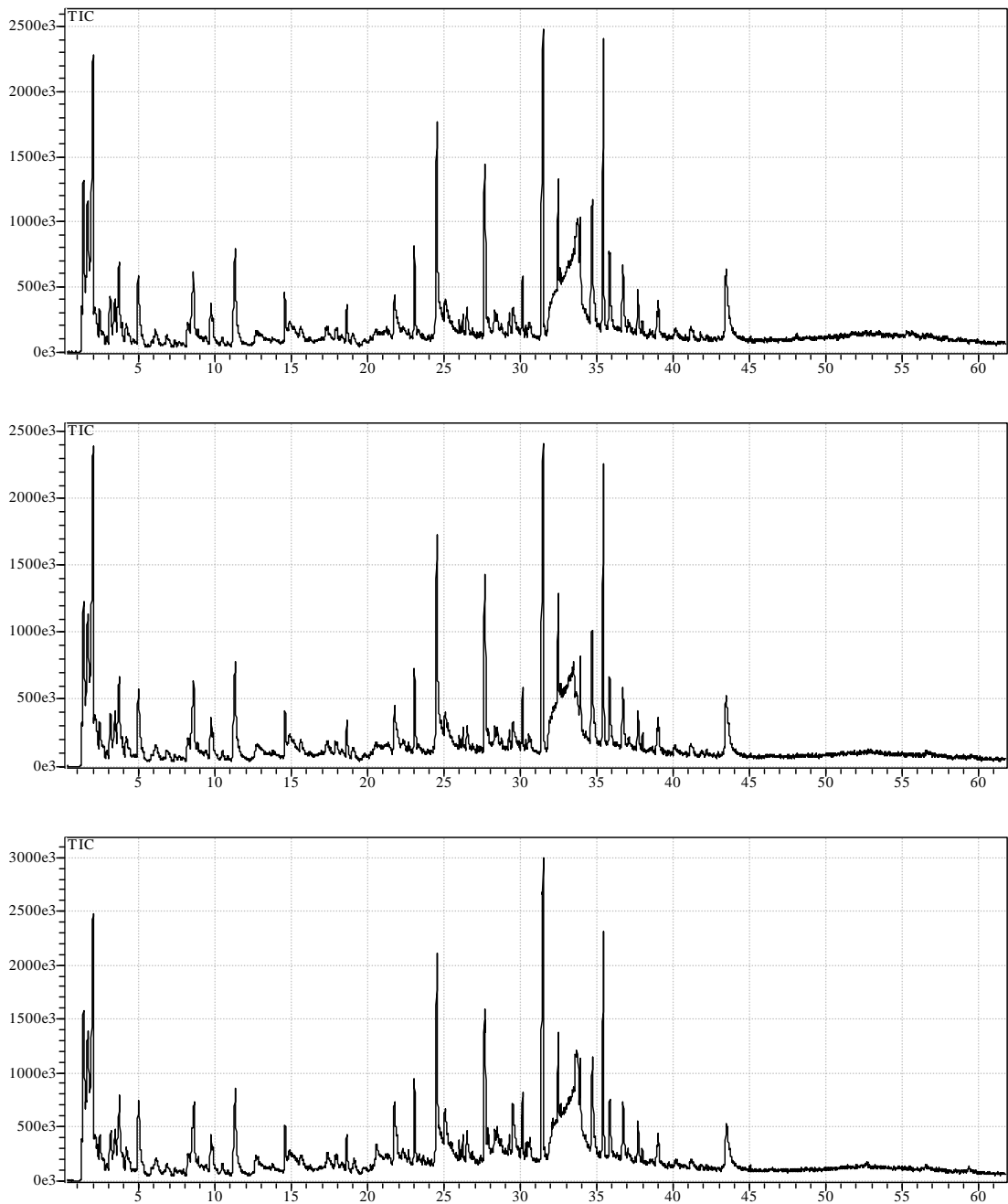


Figura 1B: Pirogramas da serragem de *Eucalyptus globulus* (triplicatas).

ANEXO C

PIROGRAMAS DA SERRAGEM DE *Eucalyptus grandis*

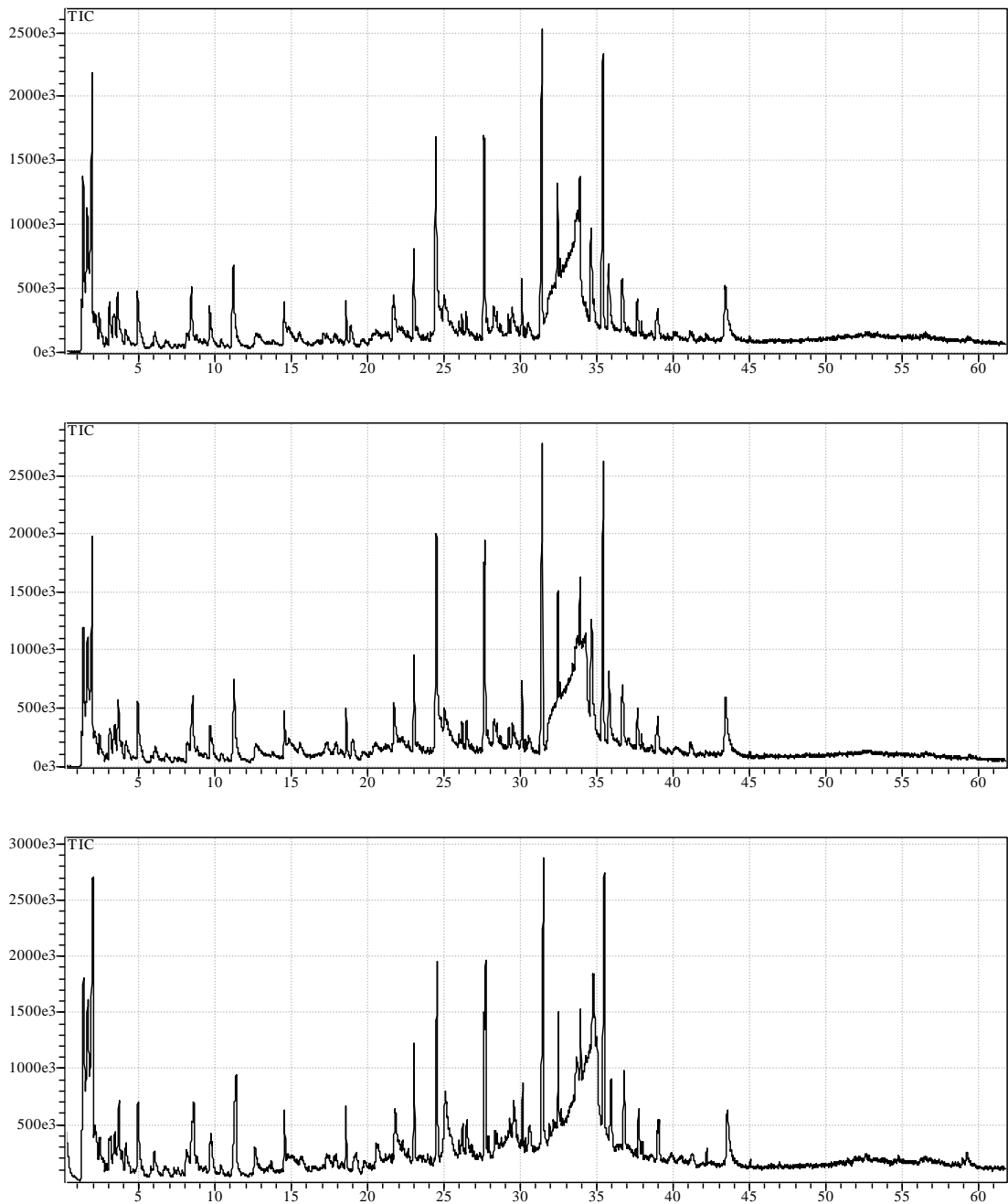


Figura 1C: Pirogramas da serragem de *Eucalyptus grandis* (triplicatas).

ANEXO D

PIROGRAMAS DA SERRAGEM DE *Eucalyptus nitens*

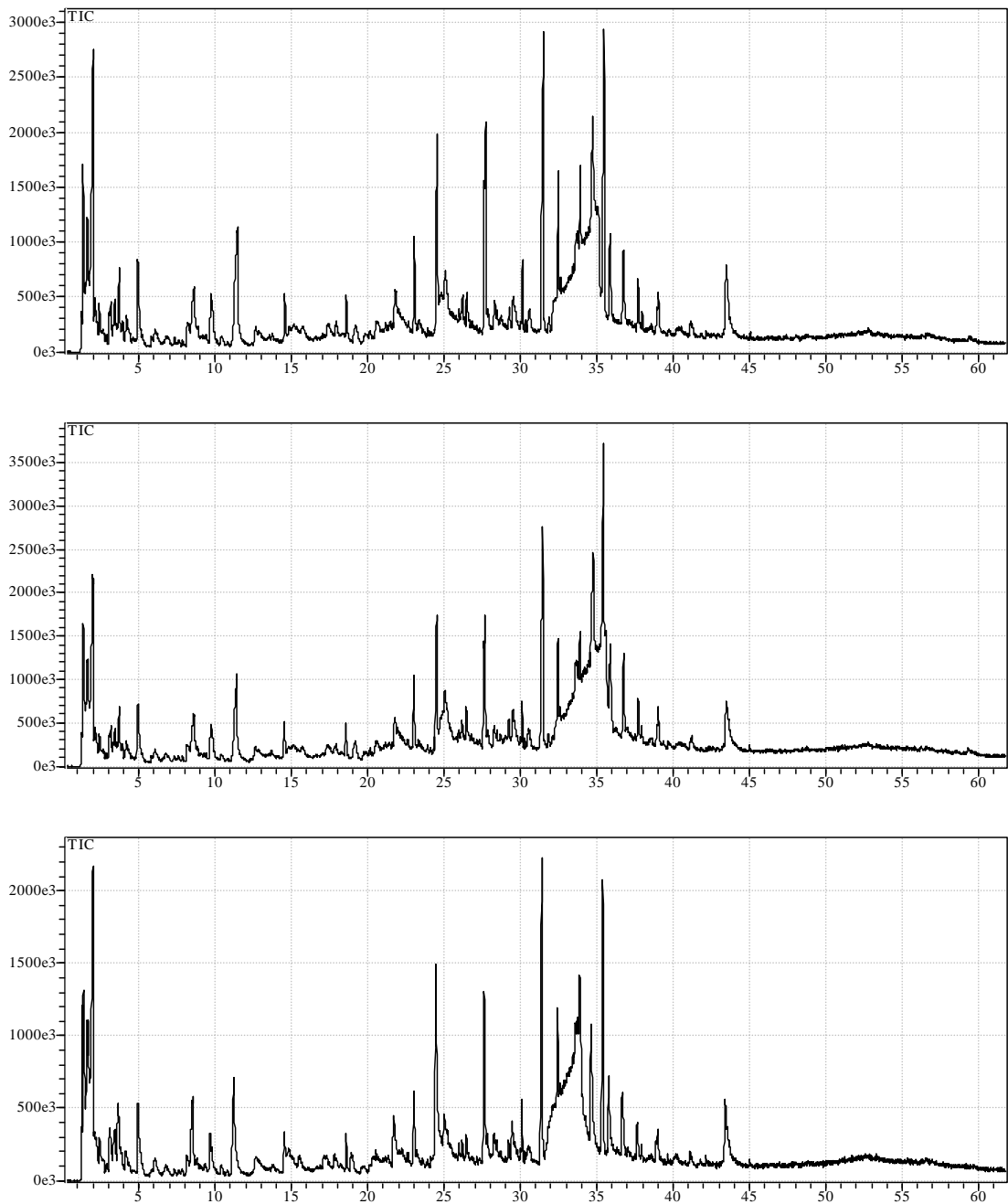


Figura 1D: Pirogramas da serragem de *Eucalyptus nitens* (triplicatas).

ANEXO E

PIROGRAMAS DA SERRAGEM DE *Eucalyptus urograndis*

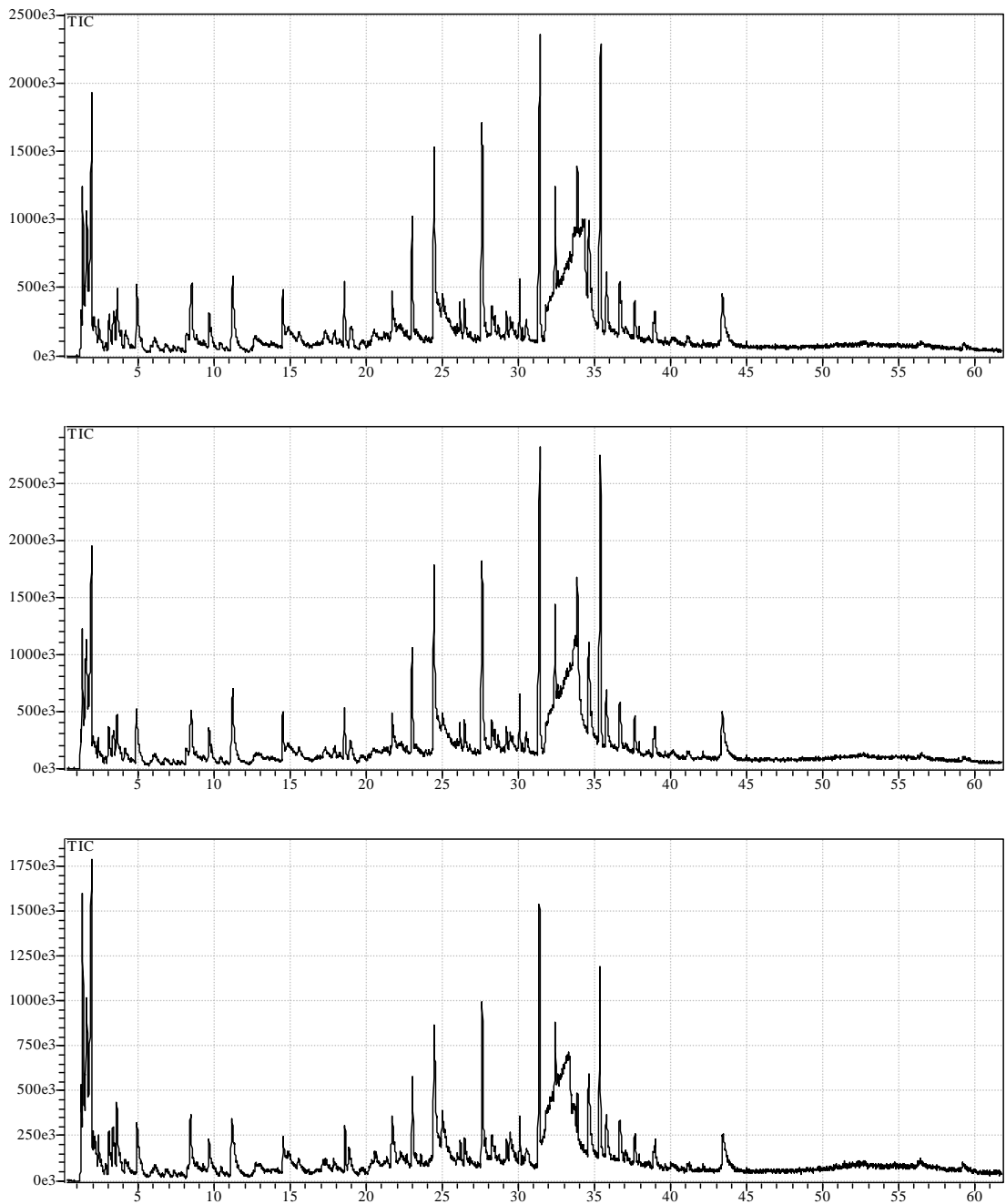


Figura 1E: Pirogramas da serragem de *Eucalyptus urograndis* (triplicatas).

ANEXO F

PIROGRAMAS DA SERRAGEM DE *Eucalyptus urophylla*

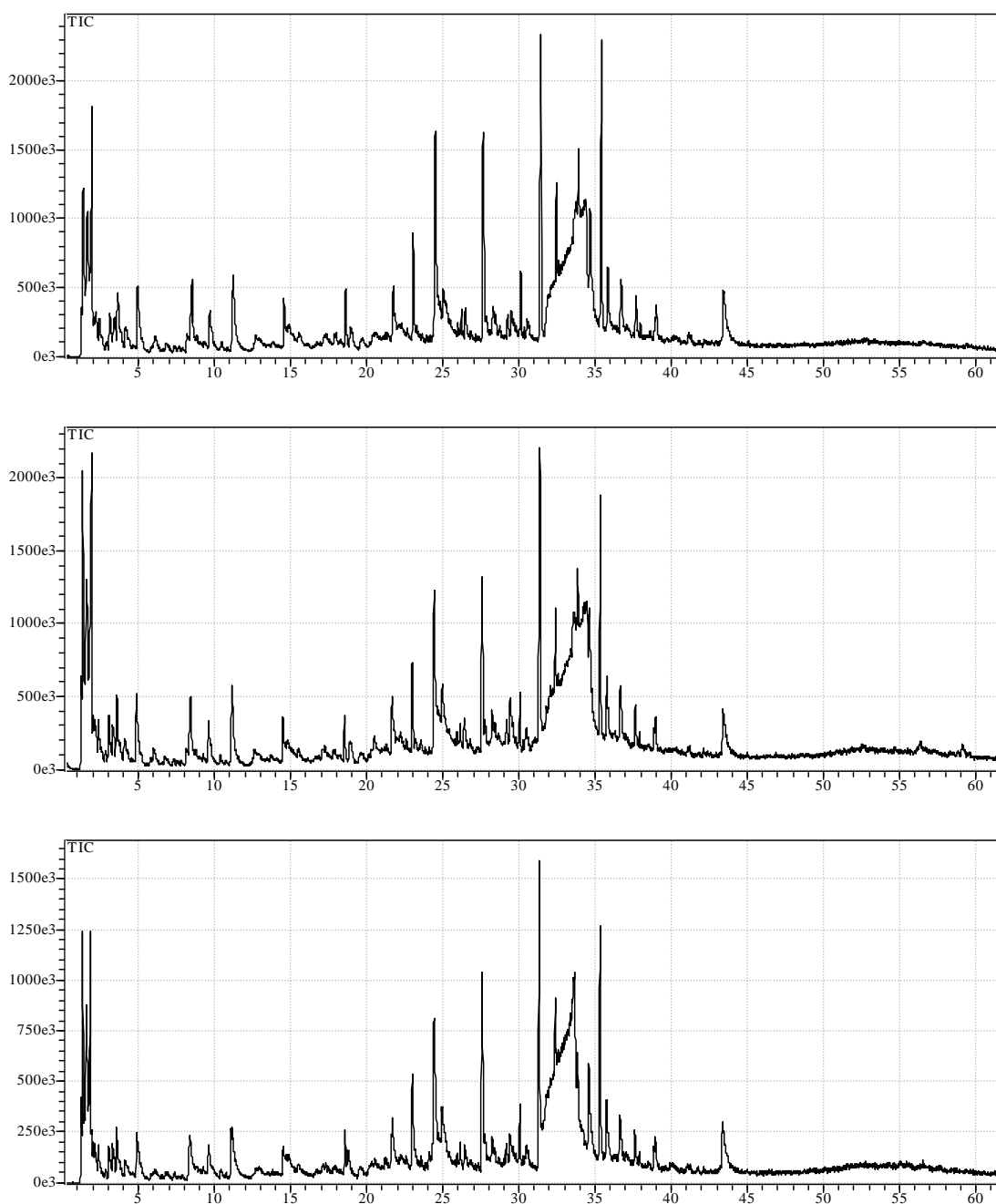


Figura 1F: Pirogramas da serragem de *Eucalyptus urophylla* (triplicatas).