



### CIRCULAR TÉCNICA Nº 29

PBP/1.11.3 (Arquivar nesta pasta)

#### **ESTUDO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS COMO TRAÇADORES TAXONÔMICOS DAS SEMENTES DO GÊNERO *Eucalyptus***

Rosani Franco de Faria\*  
Antonio Celso Facco\*  
Henrique V. do Amorim\*\*  
Luiz E. G. Barrichello\*\*\*  
José O. Brito\*\*\*

A taxonomia clássica tem recebido nos últimos vinte anos grande contribuição da taxonomia química, principalmente na elucidação de problemas relativos à classificação vegetal.

A tentativa de se identificar as espécies do gênero *Eucalyptus* através de estudos em laboratório, tem uma grande importância prática, principalmente por serem as sementes das espécies cultivadas, na sua maioria, muito pequenas e parecidas entre si, dificultando a identificação a olho nu, que normalmente só é possível depois de um período de 30-45 dias de germinação e posterior observação da forma das folhas.

Entre os traçadores taxonômicos encontramos os compostos fenólicos, alcalóides, estilbenos, etc... O método mais utilizado para a separação dos compostos fenólicos e sua identificação é a cromatografia de papel e de camada delgada.

O objetivo primeiro deste trabalho, que está sendo realizado pela Seção de Química, Celulose e Papel do Departamento de Silvicultura com a colaboração do Departamento de química da ESALQ, é resolver um problema prático, isto é, identificar um lote de sementes, classificando-o dentro da espécie. Através de cromatografia de papel bidimensional foram constatadas diferenças nos compostos fenólicos existentes nas sementes de algumas das espécies de maior importância econômica e de difícil identificação prática, como o *E. saligna* e o *E. grandis*.

O trabalho visa também estabelecer as possíveis diferenças entre os compostos fenólicos de sementes de mesma espécie porém de procedências diferentes. Estão sendo

---

\* Acadêmicos de Engenharia Florestal – ESALQ/USP

\*\* Departamento de Química – ESALQ/USP

\*\*\* Seção de Química, Celulose e Papel – Departamento de Silvicultura – ESALQ/USP

comparadas as espécies mais plantadas no Brasil, inicialmente com análises de procedências identificadas e depois com híbridos.

Embora esse estudo venha sendo desenvolvido à apenas alguns meses, já apresenta resultados positivos. Quatro espécies de grande importância florestal (*E. saligna*, *E. grandis*, *E. tereticornis*, *E. robusta*) mostraram diferenças marcantes nos compostos fenólicos como podemos observar nos esquemas das páginas 3, 4, 5 e 6. Essas diferenças, que podem ser dadas pela presença ou não de determinado fenol, ou ainda pela sua intensidade fluorescente nas diferentes espécies, possibilitam identificar as espécies através da cromatografia, encurtando o tempo de 30-45 dias para um dia.

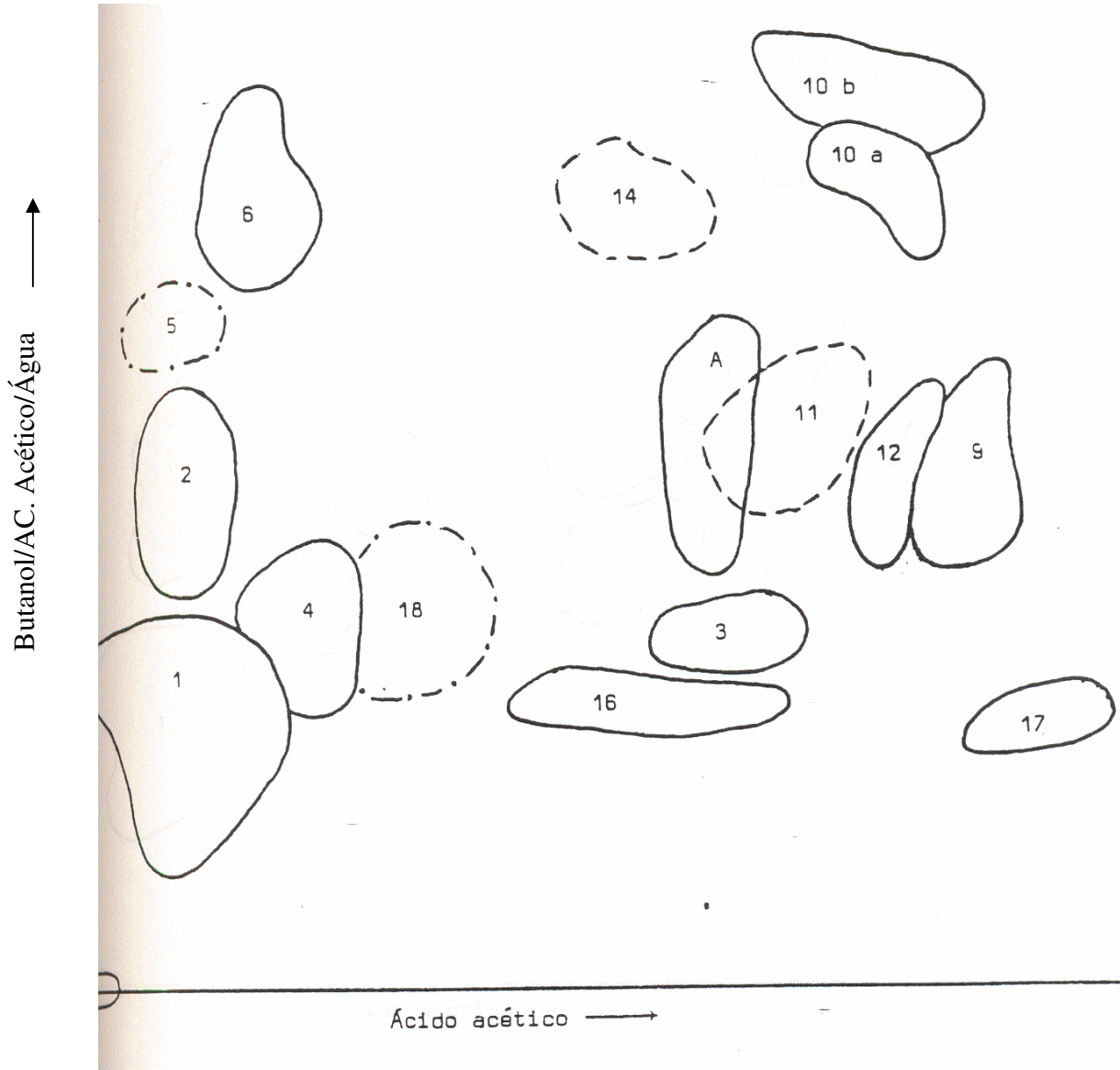
A técnica usada e os resultados iniciais serão resumidamente apresentados a seguir.

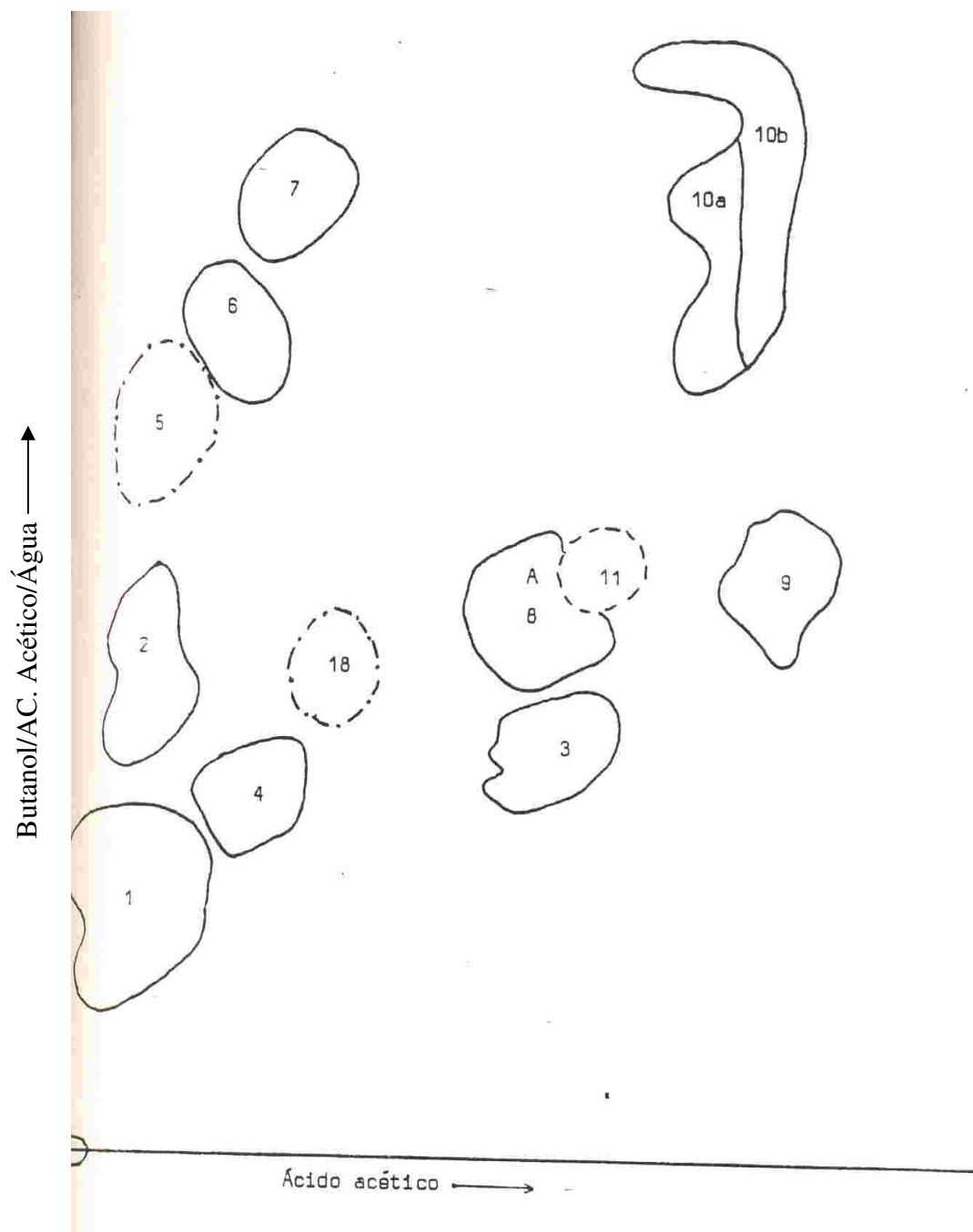
As sementes acompanhadas das “impurezas” (pois a maior parte dos fenóis, estão nos óvulos não fecundados ou sementes estéreis) são inicialmente pesados e trituradas em moinho Wiley. A extração é feita com uma solução metabólica em ebulição com refluxo. Depois de feita a filtração à quente faz-se a redução do volume e retoma-se o concentrado a quantidade ideal usando-se a mesma solução metabólica. Conserva-se o extrato em geladeira.

O cromatograma é desenvolvido em duas direções, a primeira com ácido acético/butanol/água e a segunda com solução aquosa de ácido acético.

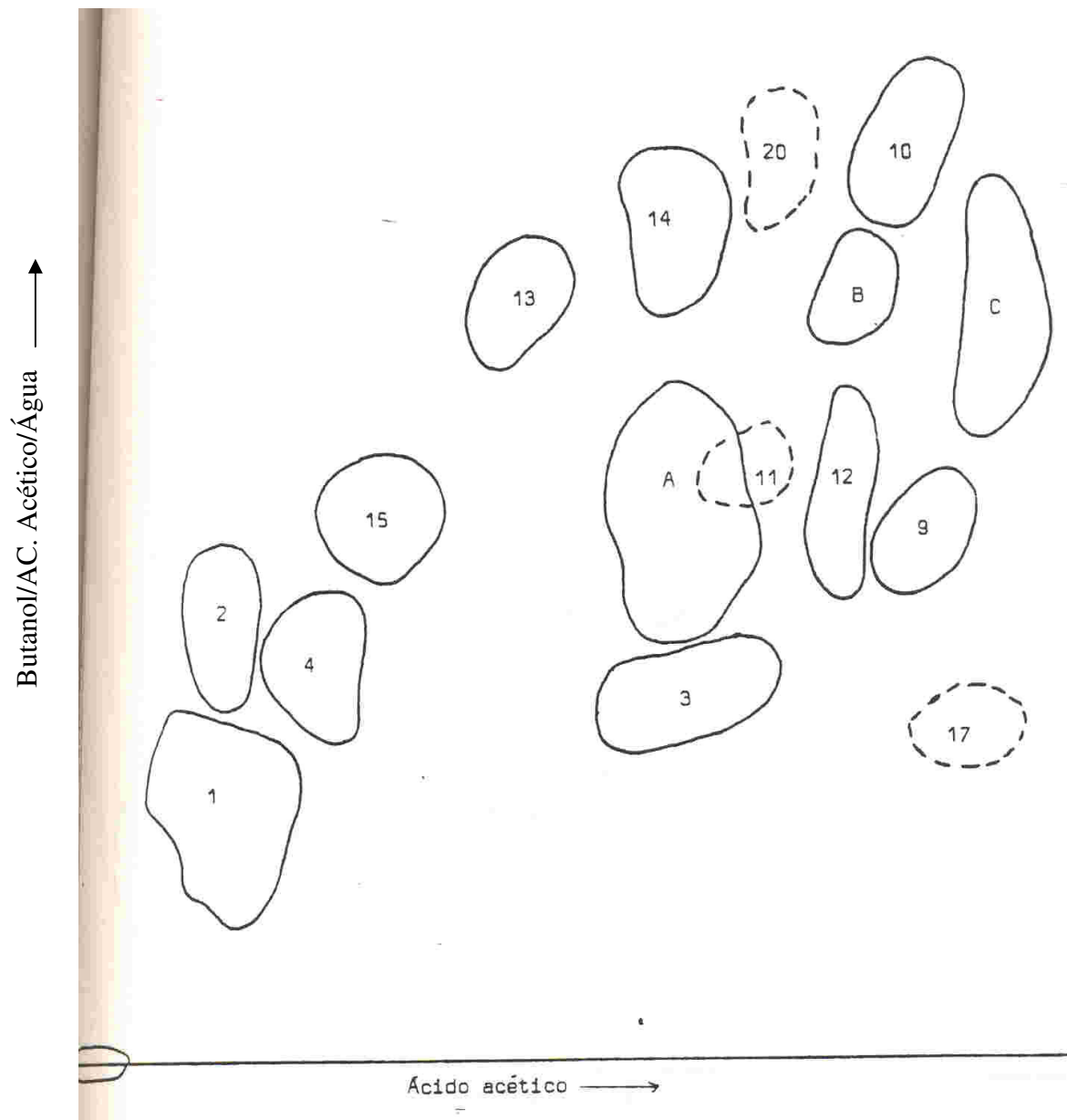
A identificação é feita por fluorescência na luz ultravioleta de comprimento de onda 366 nm e 24 nm e U.V. + vapor de amônia.

Esquema 1. Distribuição dos compostos fluorescentes no cromatograma bidimensional para *Eucalyptus saligna*.

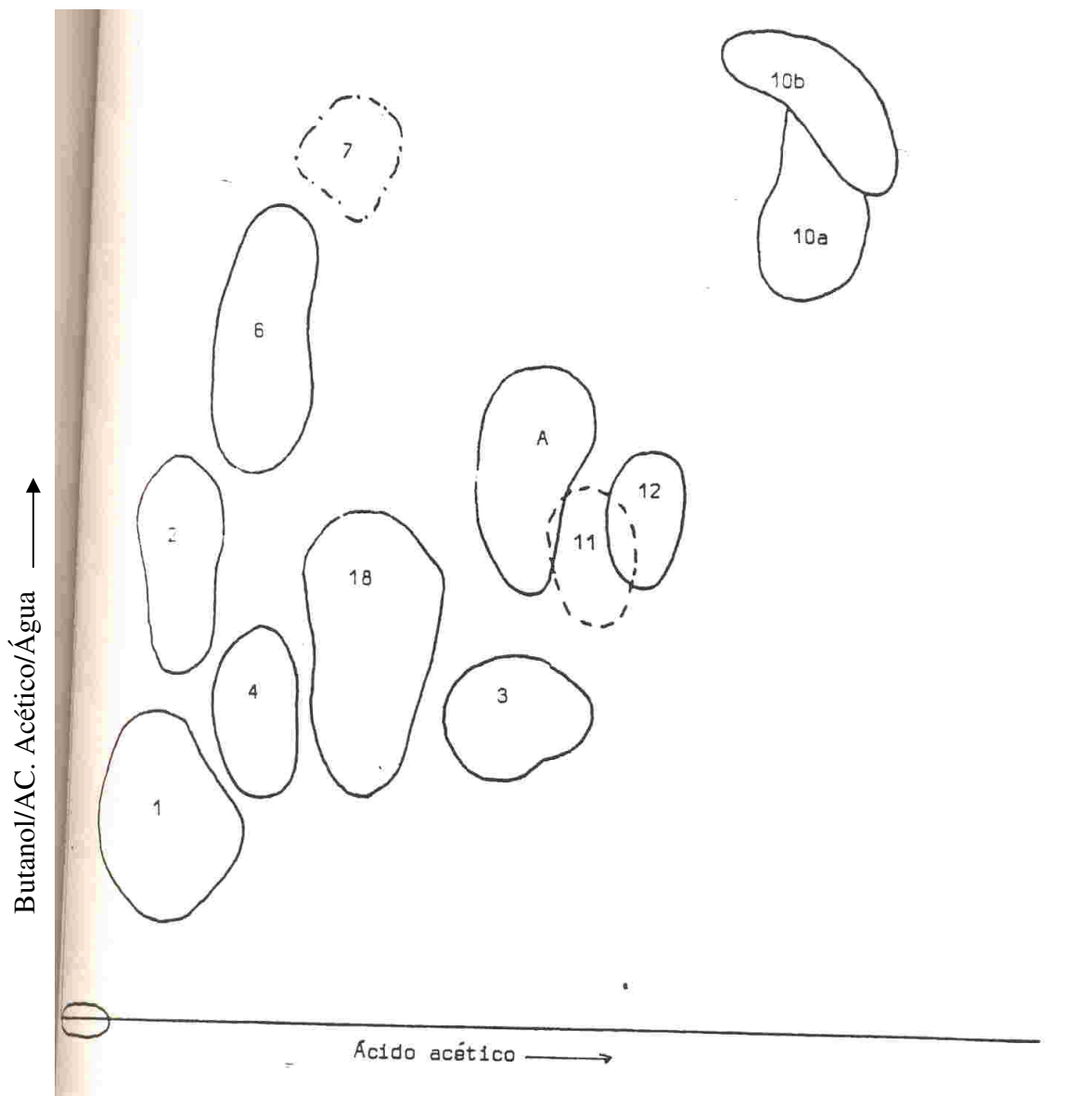




Esquema 2. Distribuição dos compostos fluorescentes no cromatograma bidimensional para *Eucalyptus grandis*.



Esquema 3. Distribuição dos compostos fluorescentes no cromatograma bidimensional para *Eucalyptus tereticornis*.



Esquema 4. Distribuição dos compostos fluorescentes no cromatograma bidimensional para *Eucalyptus robusta*.

Quadro das diferenças observadas nos compostos fluorescentes, mostrando a intensidade de cada mancha, sob luz ultravioleta.

Manchas	E. saligna		E. grandis		E. tereticornis		E. robusta	
	366 nm	254 nm	366 nm	254 nm	366 nm	254 nm	366 nm	254 nm
1	+++	+++	++	+++	++	+++	+	+
2	+	++	+	++	+	+	++	+
3	++	++	+++	+	++	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+	+
5	+	-	+	-	-	-	-	-
6	+	+	+	+	-	-	+++	+
7	-	-	+	+	-	-	++	+
8	-	-	++	+	-	-	-	-
9	+	+	++	+	+	+	-	-
10a	+	+++	+	+	++	+	+	+
10b	+	+	++	+	+	+	+	+
11	-	++	-	+	-	+	-	+
12	+	+	-	-	+	+	+	+
13	-	-	-	-	+	++	-	-
14	-	+	-	-	+	++	-	-
15	-	-	-	-	+	+	-	-
16	+	+	-	-	-	-	-	-
17	+	+	-	-	-	+	-	-
18	+	-	+	-	-	-	+++	+++
19	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	++	-	-

+++ - alta intensidade  
 ++ - média intensidade  
 + - baixa intensidade  
 - - não detectado

A quantificação através de eluição das manchas e leituras em comprimentos de ondas máximos do composto em questão também está sendo desenvolvida.

#### - RESULTADOS

As análises iniciais foram realizada com as seguintes espécies:

Espécies	Procedência
1. <i>Eucalyptus saligna</i>	- Austrália
2. <i>Eucalyptus grandis</i>	- Sul da África – Natal
3. <i>Eucalyptus tereticornis</i>	- São José – SP
4. <i>Eucalyptus robusta</i>	Ouro Fino - MG

Os resultados são apresentados esquematicamente em forma de desenhos das manchas observadas pela fluorescência na luz ultravioleta e quadro comparativo.

## - DISCUSSÃO DOS RESULTADOS E CONCLUSÕES

Cada composto fluorescente recebeu um determinado número, totalizando vinte compostos.

Alguns, como os compostos de número 1, 2, 3 e 4 estão presentes em todas as espécies estudadas o que nos indica serem características do Gênero *Eucalyptus*, porém maiores estudos deverão ser efetuados para comprovação definitiva.

Na espécie *E. saligna*, os compostos mais característicos são os de número 16, 3 e 17 por sua fluorescente intensidade e o de número 5 pela presença quando observado em ambos os comprimentos de onda. A distribuição no papel, a extensão da mancha 11 também são características da espécie em questão.

O *Eucalyptus grandis* possui, além de uma típica separação dos compostos fenólicos, um fenol, no caso de número 8, bastante característico.

A espécie *E. robusta* é facilmente identificada pelos compostos de número 2, 6 e 18, que possuem uma intensidade elevada, principalmente o de número 18.

Quanto ao *E. tereticornis* a característica marcante é o conjunto dos compostos de número 1, 4, 15, 13, 14, 20 e 10 que formam um “arco” fluorescente quando o cromatograma é observado no comprimento de onda 254nm. Possuem também o composto de nº 20, que só foi observado nessa espécie.

Na presença da amônia observa-se a mancha (A) em todos os cromatogramas por'em com uma fluorescência de intensidade variável, a saber: *E. saligna* (++) , *E. grandis* (+++), *E. tereticornis* (+++) e *E. robusta* (+++). Por outro lado, também são constatadas as presenças dos compostos indicados pelas letras B e C no cromatograma do *E. tereticornis*.