

CLEIDE DE CASTRO JUSTINO GUIMARÃES

**DETERMINAÇÃO DA RELAÇÃO SIRINGILA/GUAIACILA DE LIGNINA DE
Eucalyptus spp. POR PIRÓLISE ANALÍTICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação do Mestrado Profissional em Tecnologia de Celulose e Papel, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2013

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

G963d
2013 Guimarães, Cleide de Castro Justino, 1971-
Determinação da relação siringila/guaiacila de lignina de
Eucalyptus spp. por pirólise analítica. / Cleide de Castro Justino
Guimarães. – Viçosa, MG, 2013.
xiii, 65f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.50-56.

1. Madeira - Química. 2. Cromatografia a gás.
3. Espectrometria de massa. 4. Lignina. 5. Branqueamento.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química.
Programa de Pós-Graduação Profissional em Tecnologia de
Celulose e Papel. II. Título.

CDO adapt. CDD 634.9813

CLEIDE DE CASTRO JUSTINO GUIMARÃES

**DETERMINAÇÃO DA RELAÇÃO SIRINGILA/GUAIACILA DE LIGNINA DE
Eucalyptus spp. POR PIRÓLISE ANALÍTICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação do Mestrado Profissional em Tecnologia de Celulose e Papel, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 29 de julho de 2013.

Jorge Luiz Colodette
(Coorientador)

Paulo Henrique Fidêncio
(Coorientador)

Luiz Cláudio de Almeida Barbosa
(Orientador)

DEDICATÓRIA

A larley, pelo sincero amor e carinho.

Aos meus anjinhos, Thiago e Matheus, por encherem minha vida.

À minha mãe, Maria das Graças, pela ternura e pelo amor incomparável.

Aos meus irmãos, Márcio, Marcelo e Marcos pelo apoio a qualquer hora.

Às minhas queridas irmãs, Shirley e Marcilene, por gostarem tanto de mim.

Aos meus sobrinhos, Pâmella, Thalles e Juliana pelos quais tanto tenho amor.

À Taís e meus sobrinhos Beto e Ana Júlia pelo amor e apoio gratuito.

A todos os meus cunhados e cunhadas pela cooperação.

À toda minha família por ser tão iluminada.

À memória de quem deixou saudades,

Em especial meu pai, Zezinho.

Dedico!!!

AGRADECIMENTOS

A Deus por permitir o milagre da vida.

À minha mãe Maria das Graças, pelo amor, confiança e incentivo constante para que eu realizasse meus sonhos e ao meu pai José Vicente – Sr. Zezinho, que em vida foi um exemplo de determinação, honestidade e amor. Amo muito vocês.

À Cenibra - Celulose Nipo-Brasileira, pela oportunidade do desenvolvimento desse trabalho.

Ao professor Orientador Luiz Cláudio de Almeida Barbosa pelas informações e constante disponibilidade.

Aos mestres, pela boa vontade na doação das informações.

Ao amigo Leonardo Caux pelo imensurável apoio, incentivo e amizade.

Ao coordenador Leandro Dalvi pela atenção e cooperação.

Ao gerente de departamento Sandro Morais.

Aos grandes colegas de trabalho do DEMAQ cujo companheirismo, sugestões e ajuda foram indispensáveis para realização deste trabalho, em especial à equipe de Pesquisa e Desenvolvimento – Beatriz, Raquel, Renato e Silvano.

Pela costumeira disponibilidade da equipe do laboratório de pesquisa florestal CENIBRA.

Aos Professores Coorientadores Jorge Luiz Colodette e Paulo Henrique Fidêncio.

Ao profissional José Luís do LASA pela cooperação e amizade.

Aos colegas do curso pelo agradável convívio e troca de experiência.

Enfim, a todos que torceram por mim, muito obrigada!

BIOGRAFIA

Cleide de Castro Justino Guimarães, filha de José Vicente Justino e Maria das Graças de Castro Justino, nasceu em 02 de maio de 1971 em Coronel Fabriciano, Minas Gerais. Irmã de Shirley, Márcio, Marcilene, Marcelo e Marcos Geraldo. Casada com Iarley Guimarães, mãe de Thiago Castro Justino Guimarães e Matheus Castro Justino Guimarães, residente na cidade de Coronel Fabriciano, Minas Gerais.

Concluiu o ensino médio no Colégio Padre de Man de Coronel Fabriciano, com o curso técnico em Química. Em 1994 concluiu a graduação em Engenharia Elétrica, pela Universidade do Leste de Minas - UNILESTE.

Ingressou na Cenibra - Celulose Nipo Brasileira em 1990, atuando no laboratório de pesquisa e desenvolvimento.

Em 1995 ingressou no programa de pós-graduação em Engenharia de Segurança do Trabalho pela UNILESTE; concluído em 1996.

Em 2002 ingressou no programa de MBA em Gestão Ambiental pela UNIFOA; concluído em 2003.

Em 2005 ingressou no programa de pós-graduação *lato sensu* em Tecnologia de Celulose e Papel pela Universidade Federal de Viçosa - UFV; concluído em 2006, apresentando como seminário e monografia o tema “Estudo do Branqueamento e das Propriedades Físico-Mecânicas e Óticas em Madeira de Tração *Eucalyptus Grandis*”.

Em Agosto de 2011 ingressou no programa de pós-graduação em Ciência Agrária, na área de Tecnologia de Celulose e Papel, pela Universidade Federal de Viçosa. Concluindo os requisitos necessários para obtenção do título de *Magister Scientiae* em julho de 2013.

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Composição química da madeira	4
2.1.1 Celulose	5
2.1.2 Hemicelulose.....	8
2.1.3 Extrativos da madeira.....	10
2.1.4 Lignina.....	10
2.2 Caracterização estrutural de lignina	15
2.2.1 Métodos para determinação da relação siringila/guaiacil.....	15
2.2.2 Pirólise analítica	16
2.2.2.1 Pirolisador de microforno.....	18
2.2.2.2 Pirolisador de Ponto de Curie (PC).....	18
2.2.2.3 Pirolisador resistivamente aquecido	19
2.2.3 Cromatografia gasosa	20
2.2.4 Espectrometria de massas.....	21
2.3 Estudo quimométrico	24
3 OBJETIVOS.....	27
4 MATERIAL E MÉTODOS	28

4.1 Coleta e preparo da amostra	28
4.2 Extração com acetona	29
4.3 Determinação da relação S/G por oxidação alcalina com nitrobenzeno.....	29
4.4 Determinação da relação S/G por Pi-CG/EM	30
4.5 Análise exploratória	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1 Características da pirólise das amostras de Eucalyptus.....	33
5.2 Determinação da relação siringil/guaiacil.....	38
6 CONCLUSÕES	49
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
8 ANEXOS	57
8.1 Anexo A	57
8.2 Anexo B	58
8.3 Anexo C	59

LISTA DE ABREVIATURAS

a.s.	Absolutamente seca
C	Carboidrato
CENIBRA	Celulose Nipo Brasileira
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
G	Unidade guaiacila
H	Unidade <i>p</i> -hidroxifenila
IE	Impacto de elétrons
LG	Lignina guaiacila
LM	Lignina modificada
LS	Lignina siringila
MM	Massa molecular
NI	Não identificado
Pc	Pico
PCA	Principal Component Analysis – “Análise das Componentes Principais”
Pi-CG/EM	Pirólise acoplada à cromatografia gasosa e à espectrometria de massas
R ²	Coeficiente de determinação
S	Unidade siringila
S/G	Relação siringila/guaiacila
t _R	Tempo de retenção
u.m.a	Unidade de massa atômica

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Identificação das amostras	28
Tabela 2. Produtos de pirólise a 550 °C observados nos pirogramas	36
Tabela 3. Dados utilizados no modelo linear constituídos pelas áreas relativas dos picos (%) dos marcadores utilizados e dos valores de relação S/G para as 21 amostras.....	43
Tabela 4. Parâmetros estimados para o modelo linear proposto.....	45
Tabela 5. Relação S/G determinada por Pi-CG/EM e por oxidação alcalina com nitrobenzeno em serragem de <i>Eucalyptus</i> spp.	46
Tabela 6. Relação S/G determinada por Pi-CG/EM em amostras com extrativos e sem extrativos.	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Parte da estrutura química parcial da celulose (SILVÉRIO, 2008).....	5
Figura 2. Modelo de estrutura da parede celular (Scallan e Tigerström, 1992 apud RAUVANTO, 2010).	6
Figura 3. Constituição da parede celulósica.....	7
Figura 4. Estrutura química parcial das hemiceluloses: A) O-acetil-4-O-metilglicuronoxilana; B) O-acetil-galactoglicomanana (MARCELO, 2007).	8
Figura 5. Precursores primários da lignina.....	12
Figura 6. Unidades aromáticas constituintes da lignina.....	12
Figura 7. Estrutura proposta para lignina presente em madeira de angiosperma	13
Figura 8. (a) Pirolisador de microforno e (b) pirolisador de Ponto de Curie. Figuras adaptadas de Wampler (1995).	17
Figura 9. Diagrama de blocos de um espectrômetro de massas.....	23
Figura 10. Fluxograma de atividades realizadas	32
Figura 11. Pirograma típico obtido para as amostras de Eucalyptus a 550 °C.....	34
Figura 12. Estrutura molecular dos compostos 2-metil-fenol e 3-metil-fenol	37
Figura 13. Espectro de massas dos compostos 2-metil-fenol	37
Figura 14. Espectro de massas do composto 3-metil-fenol.....	37
Figura 15. Escores das amostras dos diferentes clones de eucalipto, levando em consideração os picos dos pirogramas.	39
Figura 16. Disposição no gráfico dos pesos, das variáveis consideradas para explicar a influência nas separações das amostras.	40

Figura 17. Dendograma pelo método de agrupamentos referente à área relativa das amostras considerando 42 picos.	41
Figura 18. Dendograma pelo método de agrupamentos referente aos picos marcadores considerados no estudo de separação das amostras.	42
Figura 19. Correlação dos valores de S/G obtida pelo método usando nitrobenzeno e a relação S/G obtida pelo método com determinação por pirólise em amostras com extrativos.....	44
Figura 20. Resíduos em relação aos valores da relação S/G determinados pelo método com nitrobenzeno, em relação aos valores da relação S/G determinados pelo método de pirólise.	44
Figura 21. Correlação das amostras analisadas, obtendo-se os valores S/G por Pi-CG/EM em amostras com e sem extrativos.....	48
Figura 22. Correlação dos valores de S/G obtida pelo método usando nitrobenzeno e a relação S/G obtida pelo método com determinação por pirólise em amostras sem extrativos.....	48

RESUMO

GUIMARÃES, Cleide Castro Justino, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2013. **Determinação da relação siringila/guaiacila de lignina de *Eucalyptus* spp. por pirólise analítica.** Orientador: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa. Coorientadores: Jorge Luiz Colodette e Paulo Henrique Fidêncio

Durante a polpação Kraft e o branqueamento subsequente da polpa, a quase totalidade da lignina é removida. Portanto, o conhecimento da quantidade e qualidade da lignina, celulose e hemiceluloses da madeira é de grande importância para uma boa previsão do rendimento total do processo de extração da celulose e da qualidade do produto final. Sabe-se que a composição da lignina em relação às quantidades de unidades siringila (S) e guaiacila (G) pode afetar a eficiência da polpação kraft. A relação siringil/guaiacil (S/G) foi determinada em madeiras de clones de *Eucalyptus* cultivados na região de Guanhães do estado brasileiro de Minas Gerais por pirólise acoplada à cromatografia gasosa e à espectrometria de massas (Pi-CG/EM). As amostras foram pirolisadas a 550 °C e 39 compostos foram identificados, sendo 14 derivados de carboidratos e 25 derivados de lignina. A relação siringil/guaiacil 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 cálculos da relação S/G foram realizados considerando o grupo de marcadores Guaiacol; 4-metil-1,2-Benzenediol; 4-vinil guaiacol; Vanilina; Eugenol; Isoeugenol; como marcadores do tipo guaiacil e os compostos Metoxieugenol; *cis*-4-propenilsiringol; Siringaldeído; 4-vinilsiringol e *trans*-4-propenilsiringol como marcadores do tipo siringil. Estes marcadores foram utilizados na análise das componentes principais, separando os clones e identificar os compostos responsáveis na separação e observar a similaridade dos picos dos compostos por análise hierárquica por agrupamento. O modelo gerado apresentou uma equação com coeficiente de correlação eficiente para predizer o resultado de S/G pela técnica de pirólise. 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 e do consumo de pequenas quantidades de amostras.

ABSTRACT

GUIMARÃES, Cleide Castro Justino, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July 2013. **Determination of syringyl/guaiacyl lignin ratio in *Eucalyptus* spp. with analytical pyrolysis.** Adviser: Luiz Cláudio Barbosa de Almeida. Coadvisers: Jorge Luiz Colodette and Paulo Henrique Fidêncio

During Kraft pulping and subsequent pulp bleaching, almost all of the lignin is removed. Therefore, it is important to know about quantity and quality of lignin, cellulose and hemicellulose in the wood to predict the pulp extraction process and the final product's quality with good precision. It is known that the lignin composition concerning the amounts of syringyl units (S) and guaiacyl (G) can affect the efficiency of kraft pulping. Syringyl/guaiacyl ratio (S/L) was determined in *Eucalyptus* clones, grown in Guanhães region, Minas Gerais state, by pyrolysis coupled to gas chromatography and mass spectrometry (Py-GC/MS). Samples were pyrolyzed at 550 ° C and 39 compounds were identified - 14 derived from carbohydrates and 25 derived from lignin. Syringyl/guaiacyl ratio was calculated based on area values of the signals recorded in the pyrogram and compared with the results obtained by nitrobenzene alkaline oxidation method. Guaiacol, 4-methyl-1,2-Benzenediol, 4-vinyl guaiacol, vanillin, eugenol and Isoeugenol were used as guaiacyl type markers and Methoxyeugenol; *cis*-4-propenylsyringol, syringaldehyde, 4-vinylsyringol and *trans*-4-propenylsyringol as syringyl type markers to perform S/G ratio calculations. These markers were used in the analysis of the main components, which can separate the clones and identify the compounds responsible for the separation and observe the similarity of the peaks of the compounds for analysis by hierarchical clustering. The proposed methodology using lignin markers was proved useful in determining the S/G ratio in eucalyptus wood by Py-GC/MS, insofar as the analysis speed and the small amounts of samples consumption.

1 INTRODUÇÃO

A indústria de papel e celulose tem valor econômico significativo no cenário mundial, sendo o Brasil um dos principais representantes do setor. A produção nacional, principalmente de fibra curta, é predominantemente de *Eucalyptus* (mais de 85% do total), e a posição de destaque no mercado mundial foi alcançada graças à elevada produtividade das florestas nacionais de espécies do gênero *Eucalyptus* e a alta qualidade dessa madeira (ALVES *et al.*, 2011).

Essas espécies se adaptaram muito bem no país, apresentando matéria-prima com características adequadas. O desenvolvimento nacional nas áreas de silvicultura de florestas plantadas e de produção de polpa celulósica permitiu que o Brasil se transformasse em um dos maiores exportadores, sendo as principais espécies utilizadas o *E. grandis*, *E. saligna*, *E. urophylla* e híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla* (DUARTE, 2006).

Além das espécies citadas, outra de introdução recente no país, a *Eucalyptus globulus*, ganha destaque pelas características favoráveis na transformação de madeira em polpa celulósica. Uma dessas características é o maior conteúdo de suas unidades estruturais siringila em comparação às guaiacila em suas ligninas (MARCELO, 2007), fator extremamente importante no que diz respeito ao rendimento de polpa e deslignificação da mesma.

A lignina, cujo principal aproveitamento é como fonte de energia (a partir da queima) (PILÓ-VELOSO *et al.*, 1993), é um constituinte cuja abundância na madeira pode variar de 15 a 30%, dependendo da espécie vegetal. Trata-se de um componente bastante complexo, o que dificulta sua caracterização e justifica a constante busca por métodos analíticos rápidos e sensíveis para determinação de sua composição estrutural. Um melhor entendimento de seu comportamento no processo de fabricação de polpa é determinante durante a seleção de clones, otimização dos procedimentos e qualidade do produto final, assim como a redução de impacto ambiental causado pelo setor industrial (MARCELO, 2007).

As moléculas que formam a lignina apresentam diferenças estruturais, principalmente a relação entre as unidades siringila e guaiacila, essas características intrínsecas apresentam informações para processo de seleção de clones para a obtenção de árvores com maior qualidade para a extração de celulose. Com isso, torna-se necessário o desenvolvimento de técnicas analíticas capazes de determinar com rapidez e sensibilidade as unidades estruturais da lignina.

Métodos geralmente utilizados são a oxidação com permanganato, a oxidação alcalina com nitrobenzeno, a tioacidólise a espectroscopia no infravermelho e ressonância magnética nuclear. Algumas desvantagens em relação aos métodos citados é a demora no preparo de amostra e/ou dificuldades em determinar precisamente a composição da lignina devido a problemas de sensibilidade e resolução de espectros (NUNES, 2008).

A pirólise analítica é uma técnica de caracterização de determinado material, na ausência de oxigênio, pelas reações de degradação química induzida por energia térmica. Esse processo resulta em um conjunto de pequenas espécies moleculares, as quais são separadas, normalmente, em um cromatógrafo a gás. O cromatograma obtido a partir da separação dos produtos de pirólise é denominado de pirograma (IRWIN, 1979; TSUGE e OTHANI, 2002).

Através dos dados obtidos em análises por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas e à pirólise analítica Pi-CG/EM é possível realizar estudos de classificação de amostras com base no teor de vários compostos produtos de pirólise (YOKOI *et al.*, 2001; DEL RÍO *et al.*, 2001).

Métodos para caracterização da lignina de *Eucalyptus* por Pi-CG/EM tem sido relatados e propostos e resultados promissores têm sido obtidos (SILVA, 2006; MARCELO, 2007; NUNES, 2008).

Nesse contexto, o objetivo desse trabalho é aplicar e aprimorar a metodologia de determinação de relação siringil/guaiacil em amostras de eucalipto utilizadas na produção de polpa celulósica pela empresa CENIBRA – Celulose Nipo-Brasileira por Pi-CG/EM, levando em consideração o método de oxidação alcalina com nitrobenzeno, como método de referência; e, através da Análise das

Componentes Principais – PCA, realizar análise dos dados visando sua redução, eliminação de sobreposições e a escolha da forma mais representativa de dados a partir de combinações lineares das variáveis originais com o objetivo de caracterizar alguma classificação das amostras com base na composição da lignina.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Composição química da madeira

A madeira é um material heterogêneo, sendo sua variabilidade estrutural e química refletida numa ampla gama de propriedades físicas, tais como: densidade permeabilidade; comportamento quanto à capilaridade; condutividade térmica; difusão da água de impregnação, entre outras. O arranjo de seus componentes físicos (macroscópicos, microscópicos, ultramicroscópicos) e químicos define a estrutura lenhosa como uma engenhosa organização arquitetônica da madeira.

As células da madeira são constituídas por macromoléculas de polissacarídeos (celulose, hemicelulose) e lignina. Outros constituintes intercelulares da madeira são os compostos de massa molecular baixa, que, em geral, estão depositados fora das paredes das células e são denominados genericamente de extrativos. Algumas substâncias solúveis em água, como os sais inorgânicos, também estão presentes na madeira (SCHWANNINGER e HINTERTOISSER, 2002).

Embora diversas partes de plantas, como folhas e frutos, além de fibras de origem mineral e animal possam ser utilizadas para produção de celulose e papel, por motivos econômicos, estratégicos e ambientais a maioria da indústria se concentra no uso do tronco, ou lenho das árvores (D'ALMEIDA, 1988).

Devido à importância dessa matéria-prima e o papel que ocupa na economia de muitos países e regiões, entre muitos estudos realizados para o conhecimento necessário à otimização de seu uso, encontra-se a anatomia da madeira¹, através da qual é possível estabelecer uma compreensão inicial para outros estudos e etapas mais avançadas nos diversos processos que resultam na celulose e no papel (GUIMARÃES, 2006).

¹ As primeiras referências sobre a Anatomia vegetal são atribuídas a Teofrasto (369-202 a.C).
<<http://www.conhecendoamadeira.com/anatomia.php>>

2.1.1 Celulose

A celulose, material orgânico mais abundante existente na terra, é o principal componente da parede celular. É proveniente da deslignificação parcial ou total da matéria-prima vegetal utilizada, e sua estrutura (Figura 1) apresenta subunidades de β -D-glicose, unidas por ligações glicosídicas do tipo $\beta(1-4)$ com alto grau de polimerização.

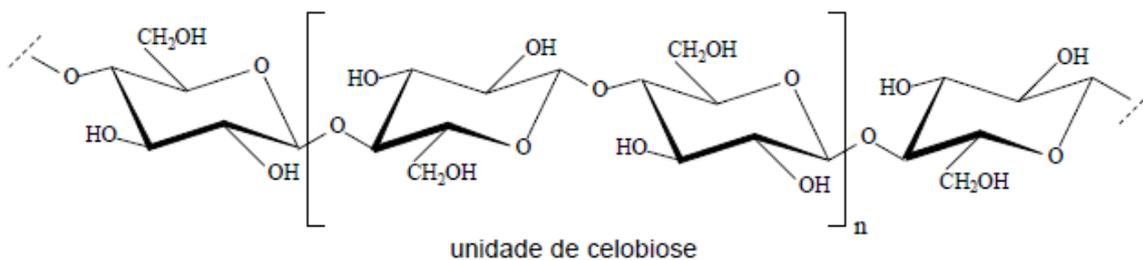


Figura 1. Parte da estrutura química parcial da celulose (SILVÉRIO, 2008).

Na parede celular da planta, as cadeias moleculares da celulose são dispostas em microfibrilas, em vários níveis de magnitude. Ela é considerada o sistema de nível mais alto, constituída por longas cadeias de celulose que ajudam a compor sua estrutura. As menores unidades, chamadas de “fibrilas elementares”, possuem diâmetro de cerca de 30 Å, são densamente empacotadas em unidades maiores (aproximadamente 120 μ m de diâmetro), formando estruturas muito rígidas (RAUVANTO, 2010; GOMES, 2007; MARCELO, 2007).

Scallan e Tigerström (1992 *apud* RAUVANTO, 2010) sugeriram um modelo para o arranjo fibrilar (Figura 2) onde microfibrilas de celulose fornecem o esqueleto da parede celular por ligações de hidrogênio entre as fibras, e poros oriundos da estrutura formada são preenchidos com lignina e hemicelulose.

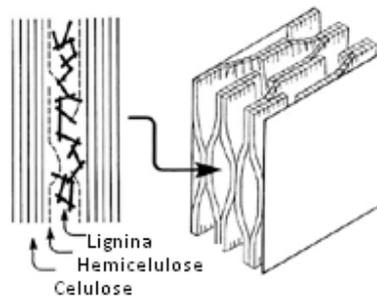


Figura 2. Modelo de estrutura da parede celular (Scallan e Tigerström, 1992 *apud* RAUVANTO, 2010).

Moléculas de celulose são completamente lineares e tem forte tendência para formar ligações de hidrogênio com as moléculas adjacentes e com outros compostos presentes na polpa, como as hemiceluloses. Além das ligações de hidrogênio ocorrem também interações eletrostáticas mais fracas principalmente entre os planos formados no encadeamento das microfibrilas. As ligações de hidrogênio e as interações eletrostáticas ocorrem devido à presença de grupos hidroxila e hidrogênios na molécula da celulose. Feixes de moléculas de celulose se agregam na forma de microfibrilas na quais regiões altamente ordenadas (cristalinas se alternam com regiões amorfas). As microfibrilas constroem fibrilas e estas constroem as fibras celulósicas. Como consequência dessa estrutura fibrosa a celulose possui alta resistência à tração e é insolúvel na maioria dos solventes.

Estudos realizados por meio de microscopia eletrônica demonstram que as células da madeira madura consistem de várias camadas de parede celular cercadas por uma substância intercelular amorfa.

Entre as células existe uma região chamada Lamela Média Composta que contém principalmente lignina, substâncias pécnicas e carboidratos não celulósicos. A parede primária (P) que é bastante delgada (0,1 - 0,2 μ m) contém uma rede desorganizada de microfibrilas de celulose que ocorrem ao acaso, embebidas em uma matriz que por muitos anos foi considerada como sendo constituída de pectinas amorfas e hemiceluloses sem nenhuma orientação estrutural. Entretanto, estudos mais recentes demonstram que as hemiceluloses são parcialmente orientadas. Imediatamente abaixo da parede primária está a parede secundária a qual compreende praticamente toda a parede celular. A

parede secundária é dividida em três camadas chamadas de S_1 , S_2 e S_3 . A camada externa (S_1) têm de 0,1- 0,3 μm de espessura e as microfibrilas estão orientadas de maneira cruzada. A camada S_2 é a mais espessa, tendo 1-5 μm e é responsável pela maior parte do volume da parede secundária. As microfibrilas da camada S_2 são orientadas quase que paralelamente ao eixo da fibra. Na finíssima camada S_3 (0,1 μm) as microfibrilas são orientadas na forma de uma hélice na direção transversal (Figura 3). A parte mais interna da parede celular consiste da chamada camada verrugosa muito provavelmente formada de fragmentos do protoplasma.

A distribuição da lignina, celulose, hemiceluloses e pectina na lamela média nas fibras de madeira é muito heterogênea. Estudos recentes indicam que aproximadamente 70-90% da lamela média é constituída de lignina.

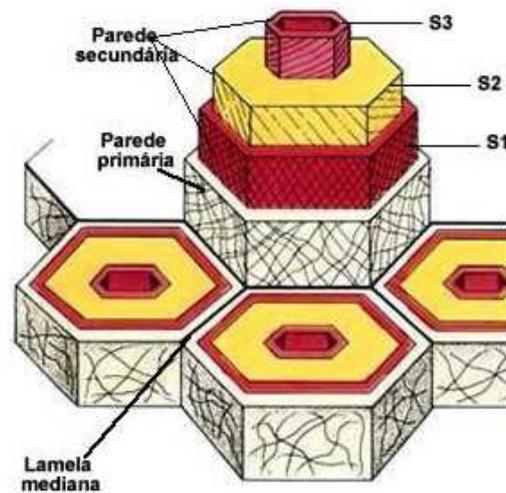


Figura 3. Constituição da parede celulósica

2.1.2 Hemicelulose

A hemicelulose é um heteropolissacarídeo responsável por aproximadamente 20-30% da massa seca da madeira, cuja principal função é proporcionar sustentação à parede celulósica. Ela é formada 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 (PENG *et. al.* 2012).

Em madeiras de angiospermas, a componente principal da hemicelulose é a glicuronoxilana (Figura 4-A), enquanto para gimnospermas é a galactomanana (Figura 4-B) (MARCELO, 2007).

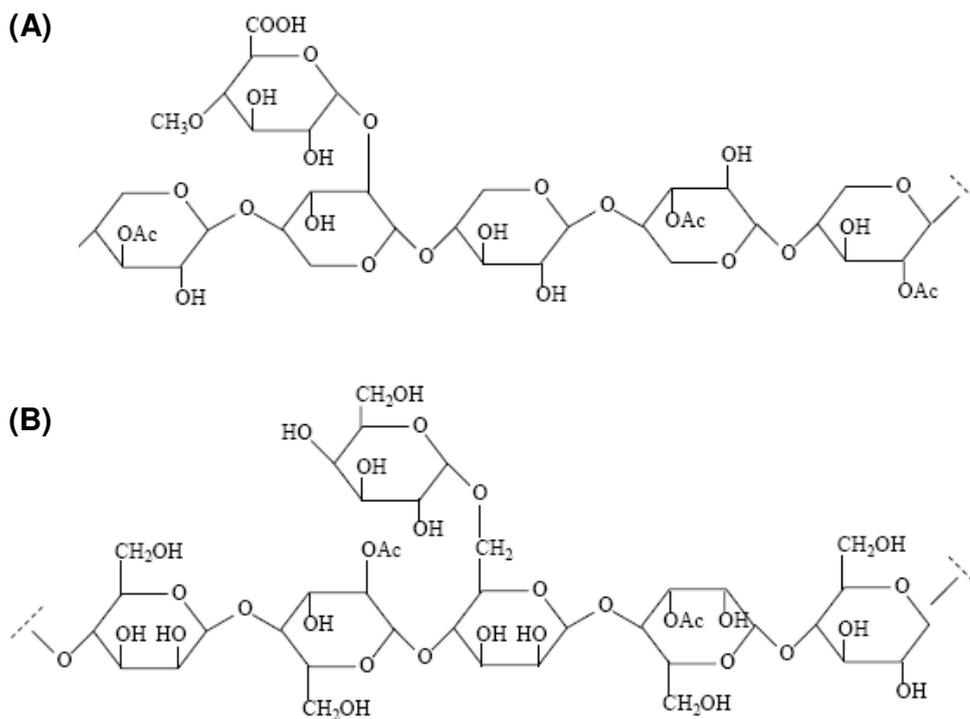


Figura 4. Estrutura química parcial das hemiceluloses: A) *O*-acetil-4-*O*-metilglicuronoxilana; B) *O*-acetil-galactoglicomanana (MARCELO, 2007).

As hemiceluloses estão associadas à celulose e à lignina nos tecidos vegetais, enquanto que a celulose é formada pela repetição da mesma unidade monomérica, nas hemiceluloses aparecem várias unidades de açúcares diferentes, de 5 ou 6 átomos de carbono. Deve-se sempre lembrar que o termo hemicelulose não designa um composto químico definido, mas sim uma classe de componentes poliméricos presentes em vegetais fibrosos, possuindo cada componente propriedades peculiares. Como no caso da celulose e da lignina, o teor e a proporção dos diferentes componentes encontrados nas polioses de madeira variam grandemente com a espécie e, provavelmente, também de árvore para árvore.

As hemiceluloses são responsáveis por diversas propriedades importantes das pastas celulósicas. Devido à ausência de cristalinidade, sua baixa massa molecular e sua configuração irregular e ramificada, as hemiceluloses absorvem água facilmente. Este fato contribui para: o intumescimento, a mobilidade interna e o aumento de flexibilidade das fibras, a redução do tempo e da energia requeridos no refino de pastas celulósicas, e o aumento da área específica ou de ligação das fibras.

Outra influência das hemiceluloses nas propriedades das fibras de pastas celulósicas pode ser observada na secagem. As hemiceluloses, sendo amorfas e adesivas por natureza, tendem, na secagem, a perder sua elasticidade. Nesse processo elas endurecem e tornam-se inacessíveis à água e aos agentes comuns de intumescimento, estendendo esta característica às fibras, que se tornam menos susceptíveis ao intumescimento e refino, quando secas.

A plasticidade e a grande área superficial, decorrentes da presença de hemiceluloses na superfície e no interior da fibra, levam a um aumento do contato fibra-fibra durante a formação da folha de papel e sua secagem.

Quantidades extremamente altas de hemiceluloses, por outro lado, podem resultar em um decréscimo das propriedades de resistência à tração e ao estouro, não devido ao efeito de ligação, mas possivelmente devido à diminuição da resistência da fibra individual, em decorrência do decréscimo do grau médio de polimerização do sistema.

2.1.3 Extrativos da madeira

Os extrativos da madeira compreendem uma ampla classe de compostos químicos, que podem ser removidos utilizando solventes orgânicos ou água (GUTIÉRREZ *et al.*, 2001a; YOKOI *et al.*, 2003; SUN e TOMKINSON, 2003).

Os extrativos lipofílicos são também conhecidos como resinas (GUTIÉRREZ *et al.*, 2001a). A composição dos extrativos pode variar, significativamente, entre diferentes espécies de madeira e também dentro das diferentes partes da árvore. Assim, determinadas madeiras podem ser caracterizadas em função da natureza e quantidade de seus extrativos, que são encontrados nas cascas, nas folhas, nas flores, nos frutos e nas sementes; em geral, as quantidades nessas partes da árvore são proporcionalmente maiores que na madeira (GULLICHSEN e PAULAPURO, 2000). Além disso, a quantidade e composição dos extrativos na madeira podem mudar consideravelmente, dependendo dos procedimentos que antecedem o processo de fabricação da polpa, como a época de colheita, a forma de transporte e a estocagem da madeira (SILVÉRIO *et al.*, 2007) .

2.1.4 Lignina

É a terceira substância macromolecular componente da madeira. As moléculas de lignina são constituídas por um sistema aromático composto de unidades de fenilpropano. É uma macromolécula amorfa, de natureza aromática e complexa, presente na parede celular e na lamela média dos vegetais, representando cerca de 20 a 30% de biomassa (SALIBA *et al.*, 2001).

Há maior teor de lignina em coníferas do que em folhosas (28% e 30% respectivamente) e existem algumas diferenças estruturais entre a lignina encontrada nas coníferas e nas folhosas. Durante o desenvolvimento das células, a lignina é incorporada como o último componente na parede, interpenetrando as fibrilas e assim fortalecendo, enrijecendo as paredes celulares.

A lignina compartilha rotas biossintéticas comuns com uma variedade de metabólitos secundários. Todos estes compostos são derivados da fenilalanina, o precursor de todas as rotas biossintéticas que partem da estrutura fenilpropanóide (C₉). É possível que as rotas biossintéticas que partem dos intermediários comuns à lignina possam afetar a biossíntese da lignina, mas não se sabe como estas rotas competidoras são reguladas, nem a extensão da especificidade por um dado tecido de vegetal das principais rotas metabólicas. São necessários mais estudos direcionados ao esclarecimento do desenvolvimento específico dessas rotas biossintéticas relacionadas na planta.

Em razão do seu grande potencial econômico pesquisas são desenvolvidas na modificação da biossíntese de ligninas. Árvores transgênicas com quantidades reduzidas de lignina ou com suas composições alteradas podem apresentar diferentes performances agrônômicas e na polpação da madeira (HALPIN *et al.*, 1994; NI *et al.*, GOMIDE *et al.*, 2005). Na polpação de madeiras, é importante e necessário ressaltar que a composição da lignina é um parâmetro muito importante quando se trata de referenciar a taxa de deslignificação, consumo de reagentes químicos e rendimento de polpa.

Acredita-se que a síntese da lignina foi uma adaptação básica e uma etapa fundamental na evolução das plantas terrestres superiores. Os organismos primitivos tais como fungos e algas não possuem lignina, aparentemente porque seus aglomerados de células não diferenciadas não requerem a ação protetora e de suporte que é oferecida pela lignina. Especula-se que a lignina originou como agente antimicrobial e que ao longo da evolução a lignina começou a desempenhar um papel no suporte mecânico e no transporte de água na planta.

Ela permitiu que as plantas aumentassem em diâmetro e altura uma vez que os tecidos lignificados eram capazes de resistir às forças de compressão e curvatura.

A biossíntese da lignina nas plantas é realizada pela rota do ácido chiquímico, sendo este convertido em ácido pufênico e, posteriormente, transformado nos aminoácidos tirosina e fenilalanina. Esses dois aminoácidos são

os pontos de partida para a produção dos álcoois *p*-cumarílico, coniferílico e sinapílico (Figura 5) nas vesículas de Golgi.

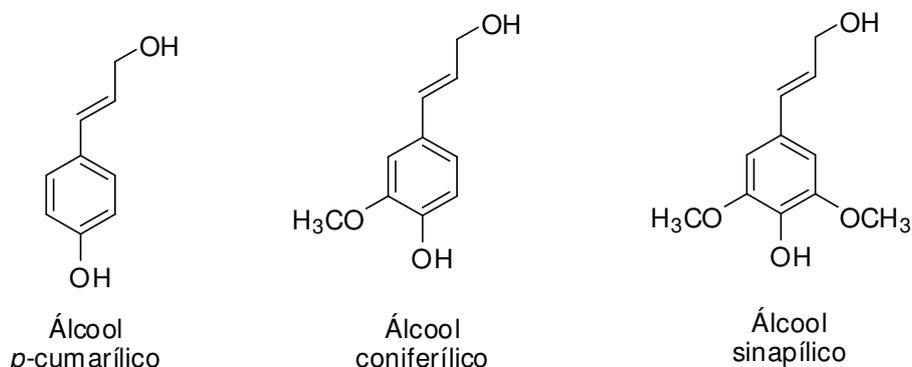


Figura 5. Precursores primários da lignina

Esses precursores entram em contato com enzimas desidrogenases (peroxidases e lacases), conduzindo a abstração inicial de um hidrogênio radicalar no fenol, o que dá início a todo o processo de polimerização nos sítios de lignificação (FREUDENBERG e NEICH, 1968).

As ligações para a formação da lignina podem ocorrer nos átomos de carbono da cadeia lateral do propano, no núcleo aromático e na hidroxila fenólica. A ligação de principal ocorrência entre as unidades de fenilpropano é do tipo β -O-4 (éter-arila). Além dessa ligação, outros tipos podem ocorrer, como as ligações 4-O-5, 1-O-4, 5-5, β -5, β -1, β - β e ligações condensadas nos carbonos 2 e 6.

Esses três precursores são a base do polímero e levam à formação das unidades manoméricas da lignina *p*-hidroxifenil (H), guaiacila (G) e siringila (S) conforme ilustrado na Figura 6.

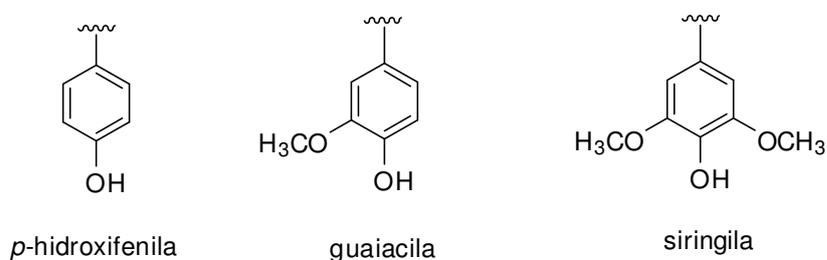


Figura 6. Unidades aromáticas constituintes da lignina

A lignina é encontrada em muitas espécies do reino vegetal, porém em proporções das unidades monoméricas não são as mesmas em todas elas e variam de acordo com a espécie, a localização no vegetal e até mesmo com a localização geográfica onde a árvore é cultivada (RODRIGUES *et al.*, 2001)

As ligninas de angiospermas, (Figura 7), como as dos *Eucalyptus* spp., geralmente consistem de unidades de siringila e guaiacila, enquanto nas gimnospermas predominam unidades guaiacila e pequenas quantidades de p-hidroxifenila. As ligninas de gramíneas incluem as três unidades citadas anteriormente (SARKANEN E HERGERT, 1971).

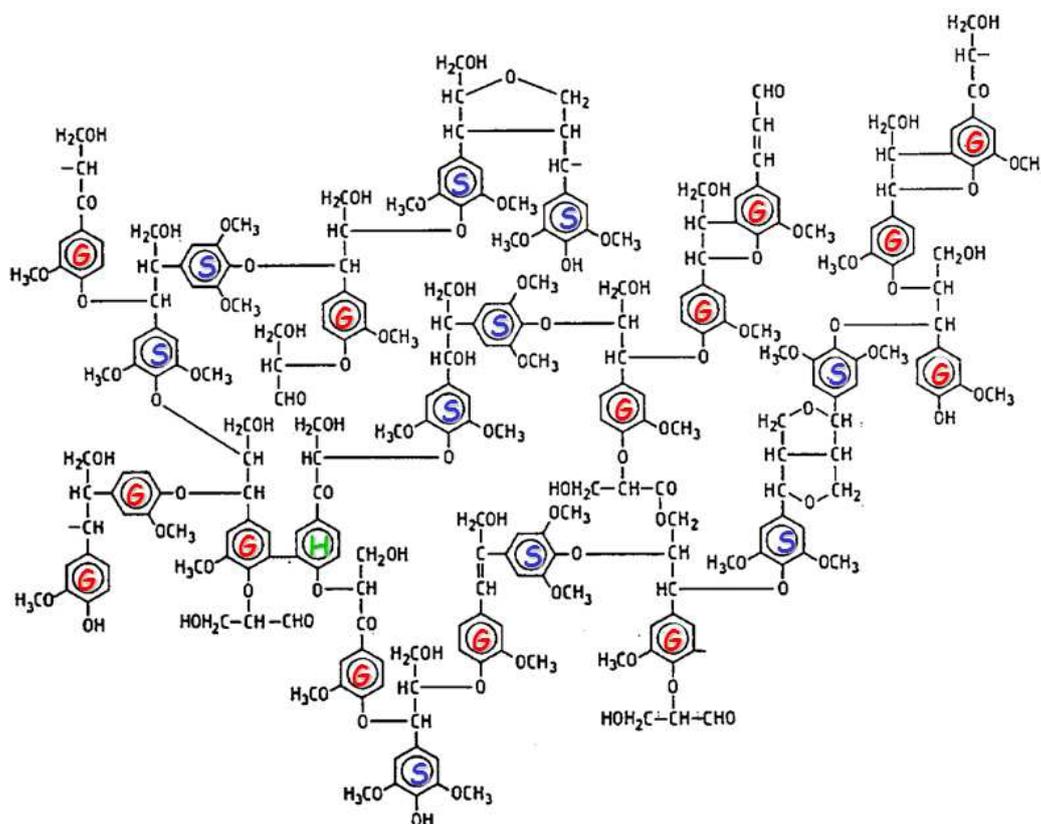


Figura 7. Estrutura proposta para lignina presente em madeira de angiosperma

É conhecido que a lignina siringila é mais reativa em sistemas alcalino que a lignina guaiacila (DEL RIO *et al.*, 2005), e a relação S/G nas ligninas de angiospermas pode afetar a eficiência da polpação kraft das madeiras na indústria de celulose e papel (COLLINS *et al.*, 1990). Logo, acredita-se que madeiras com alta relação siringila/guaiacila (S/G) sejam mais fáceis de deslignificar (TSUTSMI *et al.*, 1995). Isto pode ser justificado devido às unidades guaiacila terem um carbono aromático na posição C-5 disponível para realizar ligação carbono-carbono muito forte, contribuindo para um grau de condensação mais alto da lignina e conseqüentemente para uma maior resistência na deslignificação (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 (TSUTSMI *et al.*, 1995).

Acredita-se que benefícios econômicos e ambientais podem ser alcançados através da utilização de madeiras modificadas geneticamente para facilitar a deslignificação durante o processo de polpação.

Dessa forma, a composição estrutural da lignina, principalmente a relação siringila/guaiacila, é um importante parâmetro a ser avaliado em processos de seleção de clones, a fim de obter árvores com maior qualidade para a extração de celulose, considerando que a variação desta composição é dependente da origem, condições de crescimento e a espécie do eucalipto. (MARCELO, 2007; NUNES, 2008).

2.2 Caracterização estrutural de lignina

2.2.1 Métodos para determinação da relação siringila/guaiacil

É reconhecido que a composição química da madeira afeta grandemente a sua conversão em polpa celulósica. Na indústria de celulose e papel emprega-se um parâmetro para caracterizar as estruturas das ligninas no intuito de caracterizar e quantificar suas unidades manoméricas.

O parâmetro usualmente conhecido para tal caracterização 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 apud MARCELO, 2007).

Muitos métodos de degradação química têm sido utilizados para a determinação da relação S/G nas madeiras, por exemplo, a tioacidólise, a oxidação com permanganato de potássio e a oxidação alcalina com nitrobenzeno. Entretanto, esses métodos requerem procedimentos trabalhosos e demorados, uma vez que requerem o isolamento da lignina contida na madeira, e ainda, necessitam de grande quantidade de amostra de madeira. Análises espectroscópicas, como a espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e ressonância magnética nuclear (RMN) também tem sido utilizados para determinar a relação S/G em várias madeiras de folhosas. Porém, há dificuldades em determinar precisamente a relação S/G por estes métodos devido a problemas de sensibilidade e à baixa resolução dos espectros.

A pirólise acoplada à cromatografia gasosa e à espectrometria de massas (Pi-CG/EM) tem-se mostrado uma técnica rápida e altamente sensível para caracterizar as estruturas químicas da lignina. Essa técnica permite a análise de pequena quantidade de amostra sem a necessidade de manipulação prévia e, ou, isolamento da lignina, que é uma etapa bastante demorada e trabalhosa requerida em outros métodos (RALPH E RATFIELD, 1991; MEIR e FAIX, 1992).

2.2.2 Pirólise analítica

A pirólise analítica é uma técnica de caracterização de determinado material, na ausência de oxigênio, pelas reações de degradação químicas induzidas por energia térmica. A pirólise é definida como a quebra de macromoléculas em fragmentos menores. Esse processo resulta em um conjunto de pequenas espécies moleculares, as quais são relacionadas à decomposição da amostra original (UDEN,1993).

Um conjunto de pequenas espécies moleculares, resultado desse processo, é separado em um cromatógrafo a gás. É denominado pirograma o cromatograma obtido a partir da separação dos produtos de pirólise (IRWIN, 1979).

A degradação de uma molécula durante uma pirólise, pode ser explicado pela dissociação de uma ligação química e a produção de radicais, destacando-se três tipos de mecanismos de fragmentação: cisão aleatória de cadeia, cisão de cadeia lateral e despolimerização. Em cisões aleatórias de cadeia, as ligações de estrutura central ou principal do polímero são quebradas, produzindo pequenos fragmentos. A cisão de grupos laterais ocorre quando as ligações dos substituintes ligados à cadeia polimérica são mais fracas que as da cadeia principal do polímero. Assim, os grupos laterais são separados, levando a alterações na cadeia principal. A despolimerização constitui um terceiro tipo de processo pelo qual o polímero se transforma quase integralmente em monômeros. (SILVÉRIO *et al.*, 2008).

Os parâmetros como temperatura de pirólise, taxa de aquecimento e quantidade da amostra são fatores preponderantes para a reprodutibilidade dos resultados, mediante esse fator, é necessário um controle minucioso e uma efetiva otimização dos mesmos, pois esses influenciam diretamente os mecanismos de degradação térmica (SILVÉRIO, 2008).

O processo de pirólise analítica é realizado entre 500 e 800 °C. Contudo, temperaturas excessivamente altas expõem as moléculas a elevados níveis de energia, levando a uma extensiva degradação e, conseqüentemente, reduzindo a reprodutibilidade das análises. Por isso, o princípio da pirólise analítica é

selecionar a temperatura em que uma amostra é degradada para produzir uma quantidade de produtos indetectáveis e característicos daquela amostra (WAMPLER, 1999 *apud* SILVÉRIO, 2008).

O pirolisador é comercialmente classificado como de modo contínuo e pulsado. O primeiro inclui os de fornos ou microfornos (Figura 8a) e são pré-aquecidos na temperatura da pirólise final, antes da introdução da amostra (SMITH, 1997; WANG, 1999; HOSAKA *et al.*, 2007). Já os de modo pulsado incluem sistema usando filamento resistivamente aquecido, ou metal ferromagnético indutivamente aquecido por radiofrequência (Figura 8b). O último é chamado de pirolisador de Ponto de Curie (PC). Há ainda outro tipo de pirolisador, não rotineiramente relatado na literatura, que é o de sistema de pirólise a laser (WAMPLER, 1995; ROBERT, 1990; SMITH, 1997 *apud* SILVÉRIO, 2008).

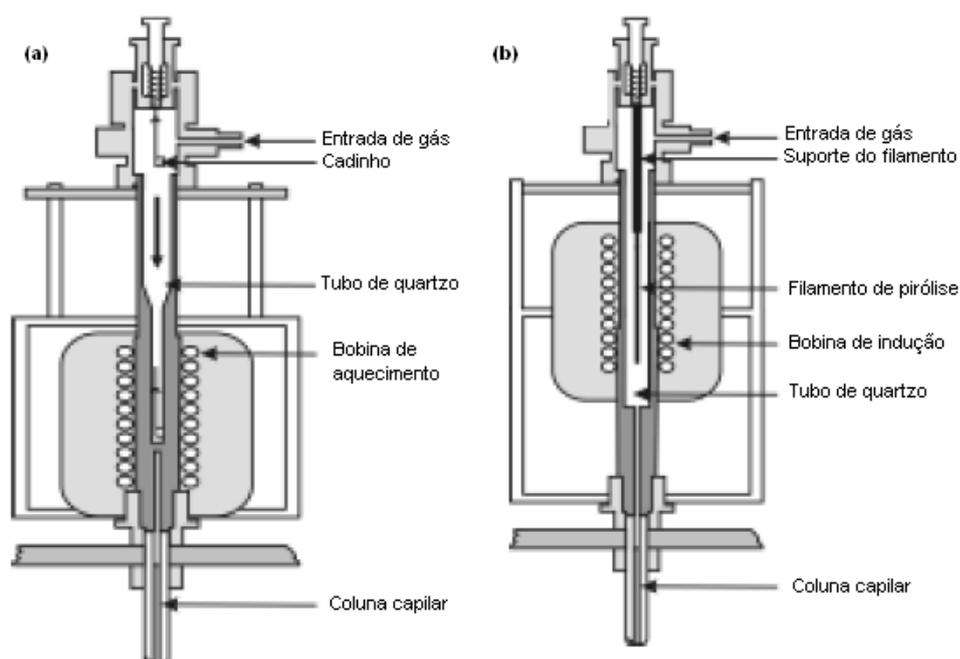


Figura 8. (a) Pirolisador de microforno e (b) pirolisador de Ponto de Curie. Figuras adaptadas de Wampler (1995).

2.2.2.1 Pirolisador de microforno

O pirolisador de microforno (Figura 8a) caracteriza-se por ser aquecido previamente, sem a presença da amostra, na temperatura desejada. Em seguida, o recipiente (cadinho) contendo a amostra a ser pirolisada é lançado no reator (tubo de quartzo) já aquecido (WAMPLER, 1995; SMITH, 1997). A quantidade de amostra deve ser extremamente pequena, geralmente entre 50-100 µg, para facilitar o seu aquecimento. Embora apresente alta reprodutibilidade em suas análises, os dados obtidos por esses pirolisadores são menos precisos que os pirolisadores de filamentos. Nesse tipo de pirolisador, a temperatura é monitorada por um termostato, não sendo tão precisa quanto no pirolisador que utiliza o Ponto de Curie.

2.2.2.2 Pirolisador de Ponto de Curie (PC)

Esse tipo de pirolisador utiliza um filamento ferromagnético que é indutivamente aquecido através de uma bobina de alta frequência. Dependendo da composição da liga metálica usada, o material atinge uma temperatura específica denominada Temperatura de Curie (ou Ponto de Curie) (MEIER e FAIX, 1992; SMITH, 1997). Nessa temperatura, nenhuma corrente é induzida e, portanto, a temperatura permanece constante (MEIER e FAIX, 1992; WAMPLER, 1999; STANKIESWICZ *et al.*, 1998). Dentre as ligas ferromagnéticas utilizadas, destacam-se as ligas constituídas de 60% de níquel e 40% de ferro, com PC de aproximadamente 500 °C. Essa temperatura é alcançada em milisegundos.

A amostra sólida ou suspensão a ser analisada é depositada na superfície do filamento ferromagnético com PC específico, antes do aquecimento do material. Por isso, quando se empregam pirolisadores PC, é necessário escolher o filamento adequado para cada tipo de amostra (MEIER e FAIX, 1992).

Uma limitação dessa técnica é a mudança nas características térmicas do filamento em razão do excesso de uso ou da presença de algumas substâncias que podem danificar a qualidade das pirólises subsequentes, diminuindo a

reprodutibilidade das análises. Por exemplo, durante a pirólise do poli (cloreto de vinila), ocorre a formação do ácido clorídrico, que pode reagir com o filamento de platina (GUTTERIDGE e NORRIS, 1979; SMITH, 1997).

Em pirolisadores PC, a reprodutibilidade das análises é afetada principalmente pela limpeza de partes do sistema. Para uma pirólise de qualidade, a presença de contaminantes pode resultar em efeitos adversos e alterar drasticamente o tipo e a quantidade dos seus produtos (WAMPLER, 1995). Para minimizar esse problema, os filamentos podem ser aquecidos na presença de ar a 1.000 °C, para remoção de resíduos orgânicos. Durante a limpeza do fio de Ponto de Curie ou dos filamentos em chama, pode ocorrer a formação de óxidos metálicos, que afetarão resultados de pirólises subsequentes. Para os sistemas de Ponto de Curie, a posição do fio na bobina de indução também afeta a natureza e a quantidade de produtos de pirólise (SMITH, 1997).

Embora apresente melhor reprodutibilidade das análises devido à temperatura de pirólise mais exata, esta técnica apresenta custos mais elevados do que o pirolisador de microforno. Isso devido à necessidade de se trocar o filamento, que pode sofrer desgaste acarretado pelo uso (ROBERT, 2002).

2.2.2.3 Pirolisador resistivamente aquecido

Na técnica com filamento resistivamente aquecido, uma corrente elétrica é passada através de uma bobina, ambos geralmente feitos de platina. A temperatura do filamento metálico é dependente da resistência do material, ou seja, quanto maior a resistência, maior a temperatura alcançada. O tempo de aquecimento também é da ordem de milisegundos, dependendo da constituição metálica do filamento (MEIER e FAIX, 1992; STANKIESWICZ *et al.*, 1998; WAMPLER, 1999).

Uma vantagem do pirolisador resistivamente aquecido é a possibilidade de se realizar pirólise em qualquer temperatura desejada, diferentemente do pirolisador PC, que ocorre em temperaturas específicas (WAMPLER, 1995).

Entretanto, as técnicas que utilizam filamentos indutivamente ou

resistivamente aquecidos podem causar modificações estruturais (desnaturação ou volatilização) antes de se alcançar a temperatura final de pirólise, visto que a amostra fica exposta a altas temperaturas. Por outro lado, no caso de pirolisador com microforno, a amostra é primeiramente colocada na posição de espera, em temperatura ambiente, e então inserida no forno de pirólise já aquecido (YOKOI *et al.*, 1999).

Uma análise comparativa entre as duas técnicas (microforno e filamento) mostrou que os resultados obtidos pelos diferentes métodos podem ser seguramente comparáveis, desde que todas as variáveis analíticas, isto é, tempo e temperatura de pirólise, tamanho da amostra, fase estacionária da coluna cromatográfica, gás eluente, etc., sejam estritamente controladas.

Misturas complexas de moléculas menores são produzidas devido à ocorrência da degradação térmica de macromoléculas, devido a este fato, é necessário o uso associado de outras técnicas, como a cromatografia gasosa.

A pirólise acoplada à cromatografia gasosa e à espectrometria de massas (Pi-CG/EM), no entanto, é uma técnica eficiente para a caracterização de macromoléculas como a lignina, pois é um método com alta sensibilidade, requer pouca quantidade de amostra (cerca de 100 µg) e não necessita de manipulação prévia e, ou, isolamento da lignina (MEIER e FAIX, 1992; DEL RIO *et al.*, 2001).

2.2.3 Cromatografia gasosa

Na cromatografia gasosa, os componentes de uma amostra vaporizada são separados em consequência de sua partição entre uma fase móvel gasosa e uma fase estacionária líquida ou sólida contida dentro da coluna. Ao realizar uma separação por cromatografia gasosa, a amostra é vaporizada e injetada na coluna cromatográfica. A eluição² é feita por um fluxo de fase móvel gasosa e inerte. Em contraste, com muitos outros tipos de cromatografia, a fase móvel não interage com as moléculas do analito; sua única função é transportar o analito através da

² Separação, fracionamento de uma mistura de partículas.

coluna (SKOOG *et al.*, 2009). Esta fase móvel em cromatografia gasosa é denominada gás de arraste e deve ser quimicamente inerte. O gás hélio é a fase móvel gasosa mais comum, embora o argônio, o nitrogênio e o hidrogênio sejam também empregados.

Dois tipos de coluna gerais são encontrados em cromatografia gasosa: colunas recheadas ou colunas capilares. As colunas capilares são consideradas mais eficientes.

A eficiência da coluna requer que a amostra seja de tamanho adequado e introduzido como uma zona “estreita” de vapor; a injeção lenta ou de amostras muito volumosas causa o espalhamento das bandas e uma resolução pobre.

A temperatura da coluna é uma variável importante que deve ser controlada dentro de poucos décimos de grau para se obter boa precisão. Assim, a coluna é normalmente abrigada em um forno termostaticado. A temperatura ótima da coluna depende do ponto de ebulição da amostra e do grau de separação requerido. Para amostras com uma ampla faixa de ponto de ebulição, é frequentemente desejável que se empregue uma programação de temperatura, pela qual a temperatura da coluna é aumentada, quer seja continuamente quer em etapas, à medida que a separação se processa.

Dezenas de detectores têm sido investigados e empregados em separações cromatográficas a gás. Sensibilidade adequada, boa estabilidade e reprodutibilidade, resposta linear, ampla faixa de temperatura, tempo de resposta curto, alta confiabilidade e facilidade de uso são características para um detector ideal.

2.2.4 Espectrometria de massas

Um dos detectores mais poderosos para a cromatografia gasosa é o espectrômetro de massas. A combinação da cromatografia a gás e a espectrometria de massas é conhecida como CG-MS³.

³ Do português cromatografia gasosa e do inglês *mass spectrometry*.

Um espectrômetro de massas mede a razão massa/carga (m/z) de íons que são produzidos pela amostra. A separação dos íons se dá com base na razão massa-carga das espécies iônicas. Em razão de os íons produzidos em espectrometria de massas serem geralmente monocarregados, a razão massa-carga é algumas vezes referida somente pelo termo “massa”. As massas atômicas são em geral expressas em termos de unidades de massa atômica (uma, ou daltons (Da))⁴. A maioria dos íons produzidos apresenta uma carga unitária ($z = 1$), de forma que a maioria dos espectrometristas de massas refere-se à medida de massa dos íons quando, na verdade, a razão massa/carga é que é medida (SKOOG *et al.*, 2009).

Um diagrama de blocos de espectrômetro de massas moleculares é mostrado na Figura 9. As moléculas da amostra entram no espectrômetro de massas pelo sistema de entrada. No caso de um CG, a amostra está na forma de vapor e a entrada deve ser interfaceada entre a pressão atmosférica do sistema de CG e a baixa pressão (10^{-5} a 10^{-8} Pa) do sistema do espectrômetro de massas. Um sistema complexo de vácuo é necessário para manter a pressão baixa. No espectrômetro de massas, as moléculas da amostra entram em uma fonte de ionização que ioniza a amostra. As fontes de ionização para a espectrometria de massas moleculares são energéticas o suficiente para decompor as moléculas da amostra em seus átomos constituintes.

As fontes de ionização em CG/MS produzem fragmentos, os quais podem também ser ionizados. Portanto, os íons das moléculas da amostra, denominados íons moleculares, íons de fragmentos e moléculas não-ionizadas, saem da fonte de ionização. As moléculas não-carregadas e os fragmentos são normalmente extraídos da fonte de íons através de bombas de vácuo empregadas para produzir o ambiente de baixa pressão. A próxima seção do espectrômetro de massas é o estágio analisador. O analisador serve para selecionar os íons de acordo com seu valor m/z . Os íons separados são então detectados e um gráfico contendo a

⁴ A u.m.a ou Da é definida como 1/12 da massa de um átomo neutro de $^{12}_6\text{C} = 1,6598 \cdot 10^{-24}$ g.

intensidade do sinal gerado pelo íon *versus* m/z é produzido pelo sistema de dados.

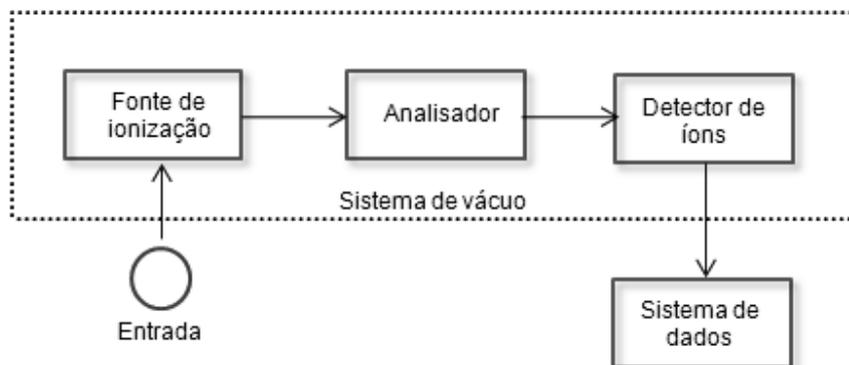


Figura 9. Diagrama de blocos de um espectrômetro de massas.

Muitos tipos diferentes de fontes de ionização estão disponíveis para a espectrometria de massas moleculares. Uma das mais comuns é a de impacto de elétrons⁵ (IE). Nessa fonte, as moléculas são bombardeadas com um feixe de elétrons de alta energia. Isso produz íons positivos, íons negativos e espécies neutras. Os íons positivos são dirigidos para o analisador por repulsão eletrostática (HOLLER *et al.*, 2009).

Em IE, o feixe de elétrons é tão energético que muitos fragmentos são produzidos. Esses fragmentos, contudo, são muito úteis na identificação das espécies moleculares que entram no espectrômetro de massas.

Em GC-MS, o espectrômetro de massas varre as massas repetidamente durante o experimento cromatográfico. Se o cromatograma ocorre em dez minutos, por exemplo, e uma varredura é obtida a cada segundo, 600 espectros de massas serão registrados. Os dados podem ser analisados pelo sistema de dados de diversas formas. Primeira, a abundância dos íons em cada espectro pode ser somada e colocada em um gráfico em função do tempo para fornecer um cromatograma do total de íons. Esse gráfico é similar a um cromatograma convencional. Pode-se também mostrar o espectro de massas em um tempo

⁵ Fonte de ionização utilizada neste trabalho.

particular durante o cromatograma para identificar-se as espécies que estão eluindo naquele momento.

2.3 Estudo quimométrico

A quimiometria é definida como um conjunto de ferramentas computacionais que utilizam algoritmos matemáticos e estatísticos para estudar dados de origem química, visando selecionar ou planejar as condições de realização de experimentos de forma otimizada e explorar o máximo de informações dos dados obtidos (FERREIRA *et al.*, 1999).

Embora esses experimentos envolvam um número elevado de variáveis, apenas pequena quantidade pode conter a maior parte das informações químicas, enquanto a maioria apresenta pouca contribuição em termos de informação.

A matriz dos dados é constituída por n medidas de diferentes propriedades (variáveis) obtidas a partir de m compostos (objetos), gerando uma matriz de dados X formada por $m \times n$ elementos (m linhas correspondentes aos compostos (ou amostras) e n colunas correspondentes às variáveis (concentrações destes compostos)) (NETO e MOITA, 1998).

Assim, a j -ésima variável é representada por um vetor coluna, enquanto o i -ésimo objeto é representado como um vetor linha chamado vetor resposta e pode ser descrito como um ponto no espaço n dimensional. Portanto, a matriz pode ser ilustrada graficamente tanto no espaço das linhas como no espaço das colunas. O espaço das linhas é formado com linhas da matriz como eixos. Para n colunas, o espaço das linhas consiste em colocar em gráfico n pontos (cada ponto correspondendo a uma coluna). A matriz no espaço das colunas é aquela em que as colunas formam os eixos, e as linhas, os pontos tridimensionais (NETO e MOITA, 1998).

Algumas apresentam valores absolutos, com ordem de grandeza muito superior à de outras variáveis. Com isso, o efeito daquelas de menor ordem de grandeza pode ser encoberto, ocorrendo perda de informação estatística e química. Para evitar isso, uma opção é fazer uma padronização dos dados em que

cada variável tenha a mesma influência no estágio inicial dos cálculos. Resumidamente, o principal objetivo da padronização e do escalonamento dos dados originais é expressar cada observação em termos de variações, independente do tipo de dado estudado. Em alguns casos, antes que o modelo seja desenvolvido, é necessário ajustar os dados originais devido às distorções causadas por escalas diferentes das diversas variáveis⁶. Esta transformação, chamada de autoescalonamento, expressa cada observação como o número de desvios-padrão da média.

Essa redução do número de variáveis é representada por gráficos bi ou tridimensionais, e denominada de análise das componentes principais. A análise das componentes principais é um dos métodos mais empregados na extração e interpretação de informação de dados multivariados. Também é possível formar grupos entre as amostras, de acordo com suas similaridades químicas e com todas as variáveis disponíveis, e representá-las de maneira bidimensional em um dendrograma.

Em geral, a análise de componentes principais (PCA) e de agrupamentos hierárquico (HCA) são técnicas de estatística multivariada complementares, que apresentam um amplo campo de aplicação em análise de dados (NETO e MOITA, 1998).

A Análise de Agrupamento designa uma série de procedimentos estatísticos sofisticados utilizados para descrever diversas técnicas computacionais cujo objetivo é relacionar e separar objetos em grupos. É uma técnica classificatória que deseja explorar as similaridades e dissimilaridades de variáveis definindo-os em grupos, definindo assim a distância euclidiana entre as variáveis (LINDEN, 2009).

Esses gráficos são obtidos a partir de uma matriz, em que os objetos são dispostos em linhas e as variáveis em colunas. Em geral, os objetos são

⁶ transformação sobre o conjunto original dos dados de modo que cada variável apresente média zero e variância igual a um (1).

compostos químicos, e as variáveis valores de concentrações, pH, condutividade, alturas (ou áreas) de sinais em espectros ou em cromatogramas (ou pirogramas).

Dessa forma, o conjunto de dados consiste de vários objetos, como os diferentes compostos identificados em um cromatograma (ou pirograma), e as variáveis seriam as diferentes concentrações ou intensidades dos sinais desses compostos no cromatograma.

Utilizando-se dados obtidos em análises por Pi-CG/EM é possível realizar estudos de classificação de amostras com base no teor dos vários compostos produtos da pirólise (YOKO *et al.*,2001; DEL RIO *et al.*,2001).

A utilização da PCA visa reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados original, preservando a maior quantidade de informação possível. Essa redução é obtida por meio do estabelecimento de novas variáveis ortogonais entre si, denominadas componentes principais (CPs). A organização é feita por ordem decrescente de importância, as CPs são combinações lineares das variáveis originais.

Os gráficos obtidos representam as amostras em um sistema cartesiano onde os eixos são as CPs. A primeira componente principal (CP1) é definida pela direção que descreve a máxima variância dos dados originais. A segunda componente principal (CP2) tem a direção da máxima variância dos dados no subespaço ortogonal à CP1, e as CPs subsequentes são ortogonais às anteriores e orientadas de maneira que descrevem sempre a máxima variância restante.

A Análise das Componentes Principais em conjunto com a pirólise analítica tem sido amplamente utilizada para o estudo de características de componentes da madeira de *Eucalyptus*, como lignina (YOKO *et al.*, 2001) e a celulose (PAPPA *et al.*, 2003), bem como o estudo de caracterização de extrativos na madeira (SILVÉRIO *et al.*, 2008).

3 OBJETIVOS

- Adaptar o método de determinação da relação S/G em madeiras do gênero *Eucalyptus* às condições de análise da CENIBRA, e aplicar o método otimizado em amostras comerciais.
- Otimizar as condições de análise para a determinação da composição estrutural da lignina em relação às unidades Siringila e Guaiacila para as espécies de *Eucalyptus* e os híbridos cultivados no Brasil nas áreas pertencentes à empresa CENIBRA.
- Aplicar métodos estatísticos e de análise multivariada, para identificar diferenças entre as amostras de clones e estudo de semelhança dos picos de pirogramas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta e preparo da amostra

Foram utilizadas para a realização deste trabalho híbrido de *Eucalyptus urograndis* (*E.grandis* x *E.urophylla*); híbrido *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus globulus* e híbrido *Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus globulus* com aproximadamente 4 anos de idade, provenientes do Estado de Minas Gerais, regional de Guanhães e região de Virginópolis, totalizando em 21 amostras (Tabela 1).

Tabela 1. Identificação das amostras

Amostra	Clone	Árvore	Cruzamento
2152A	405c06	1	<i>Grandis</i> x <i>Glóbulus</i>
2153A	405c06	2	<i>Grandis</i> x <i>Glóbulus</i>
2154A	405c06	3	<i>Grandis</i> x <i>Glóbulus</i>
2155A	426c06	1	<i>Urophylla</i> x <i>Glóbulus</i>
2156A	426c06	2	<i>Urophylla</i> x <i>Glóbulus</i>
2157A	426c06	3	<i>Urophylla</i> x <i>Glóbulus</i>
2158A	313c06	1	<i>Urophylla</i> x <i>Glóbulus</i>
2159A	313c06	2	<i>Urophylla</i> x <i>Glóbulus</i>
2160A	313c06	3	<i>Urophylla</i> x <i>Glóbulus</i>
2161A	386	1	<i>Grandis</i> x <i>Glóbulus</i>
2162A	386	2	<i>Grandis</i> x <i>Glóbulus</i>
2163A	386	3	<i>Grandis</i> x <i>Glóbulus</i>
2164A	1213	1	<i>Urophylla</i> x <i>Grandis</i>
2165A	1213	2	<i>Urophylla</i> x <i>Grandis</i>
2166A	1213	3	<i>Urophylla</i> x <i>Grandis</i>
2167A	323c06	1	<i>Urophylla</i> x <i>Glóbulus</i>
2168A	323c06	2	<i>Urophylla</i> x <i>Glóbulus</i>
2169A	323c06	3	<i>Urophylla</i> x <i>Glóbulus</i>
2170A	359c06	1	<i>Urophylla</i> x <i>Glóbulus</i>
2171A	359c06	2	<i>Urophylla</i> x <i>Glóbulus</i>
2172A	359c06	3	<i>Urophylla</i> x <i>Glóbulus</i>

As toras de madeira foram transformadas em cavacos utilizando um picador de laboratório, posteriormente os cavacos foram classificados manualmente para eliminação de pedaços de cascas, de nós e de cavacos com defeitos de corte. Os cavacos selecionados foram homogeneizados em misturadores esféricos mecânico com capacidade para 260 litros. Para a uniformização da umidade os cavacos foram secos ao ar. Após a secagem, os cavacos foram transformados em serragem em 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. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e fechados.

4.2 Extração com acetona

A remoção dos extrativos foi baseada na metodologia descrita pela Norma NBR 14853:2010. Uma quantidade de amostra de serragem (3 g a.s.) foi submetida à extração, por seis horas, em aparelho Soxhlet com aproximadamente 150 mL de acetona para a remoção dos extrativos na madeira. Após este período, removeu-se o excesso de solvente da serragem e posteriormente o solvente foi evaporado na capela.

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

4.3 Determinação da relação S/G por oxidação alcalina com nitrobenzeno

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

Uma 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 2,0 mol L⁻¹ e 0,5 mL de nitrobenzeno⁷. Após lacrar os reatores, a amostra foi levada ao banho de glicerina por 2,5 h a 170 °C. O material oxidado foi transferido para um funil de separação e extraído com clorofórmio em seis tempos de 2 minutos cada, utilizando-se 30,0 mL de clorofórmio em cada extração. Após a primeira extração foram adicionados 2,5 mL de HCl 4,0 mol L⁻¹ na fase aquosa. As fases orgânicas foram reunidas e o solvente evaporado totalmente 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). Posteriormente, 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 uma coluna LC-18. A fase móvel utilizada foi acetonitrila/água (1:6 v/v) em pH 2,6 tamponado com ácido trifluoracético (TFA). A análise no ultravioleta foi realizada no comprimento de onda de 280 nm, na temperatura de 40 °C, utilizando fluxo de 1,5 mL min⁻¹. Os padrões utilizados foram vanilina, para a unidade guaiacila e siringaldeído, para unidade siringila. As curvas de calibração⁸ foram realizadas nas concentrações de 0,375; 0,75; 1,125 e 1,500 mmol L⁻¹ para a vanilina e 0,825; 1,650; 2,475 e 3,300 mmol L⁻¹ para o siringaldeído, o solvente utilizado foi acetonitrila/água 1:1 v/v. A relação S/G foi obtida pela razão entre a concentração de siringaldeído e a concentração de vanilina. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

4.4 Determinação da relação S/G por Pi-CG/EM

A pirólise foi realizada em um sistema *on-line* constituído de um pirolisador de microforno vertical Frontier Lab, modelo PY-2020iS (Single-Shot Pyrolyzer),

⁷ Reagente utilizado para oxidar a lignina.

⁸ Curva analítica com as soluções padrão de vanilina e siringaldeído.

acoplado a um cromatógrafo a gás e espectrômetro de massas Shimadzu modelo GC-MS QP2010 Ultra (Anexo A). As análises da serragem por pirólise foram realizadas em duplicatas, seguindo a metodologia proposta por Silva (2006).

A amostra de serragem (50 a 100 µg) foi introduzida em cadinho de platina, o qual foi acomodado no suporte de amostragem do pirolisador. A temperatura do pirolisador foi ajustada para 550 °C e após atingir esse valor, a amostra foi injetada na câmara de pirólise aquecida sob atmosfera de hélio a 100kPa (SILVA, 2006).

Os produtos de pirólise foram transferidos automaticamente para o injetor do cromatógrafo a gás, aquecido a 100 °C, usando hélio como gás de arraste com fluxo de 1 mL min⁻¹. A razão de split⁹ foi de 1/10. A separação dos compostos foi realizada por coluna capilar de sílica fundida TR-5¹⁰ (60m × 0,25 mm de diâmetro × 0,25 µm de filme); com temperatura programada em 45 °C por 4 minutos até alcançar 240 °C numa taxa de aquecimento de 4 °C min⁻¹ e permanecendo nessa temperatura por 10 minutos (SILVA, 2006). O tempo total da análise foi de 62,75 minutos.

O espectrômetro de massas foi operado no modo de ionização por impacto de elétrons com energia de 70 eV e varredura de massas no intervalo de 50 a 350 u.m.a. A temperatura no detector e na interface do CG/EM foi de 250 °C e 290 °C, respectivamente.

Os compostos foram identificados com base nas bibliotecas Wiley, 7^a edição e Nist, 8^a edição. Dados da literatura também foram utilizados para a identificação dos compostos (DEL RIO *et al.*, 2005; RALPH e HATFIELD, 1991; NUNES, 2008).

As áreas foram obtidas através da integração dos sinais registrados no pirograma. A quantificação foi baseada nas áreas relativas dos compostos produtos da pirólise.

A Figura 10 apresenta o resumo das atividades realizadas.

⁹ Técnica utilizada quando os compostos de interesse estão em altas concentrações ou quando se trabalha com uma amostra totalmente desconhecida. A fração injetada pode ser variada mudando-se a razão do divisor.

¹⁰ Coluna composta de 5% de fenil e 95% de dimetilpolisiloxano, possuindo um caráter apolar.

4.5 Análise exploratória

Os resultados foram analisados utilizando-se o software *Statistica*[®] 11.0 da *Statsoft*, através das técnicas de Análise Hierárquica por Agrupamentos (AHA), Análise das Componentes Principais (ACP) e experimentos ANOVA.

A relação siringil/guaiacil foi determinada por uma equação que prediz um modelo linear.

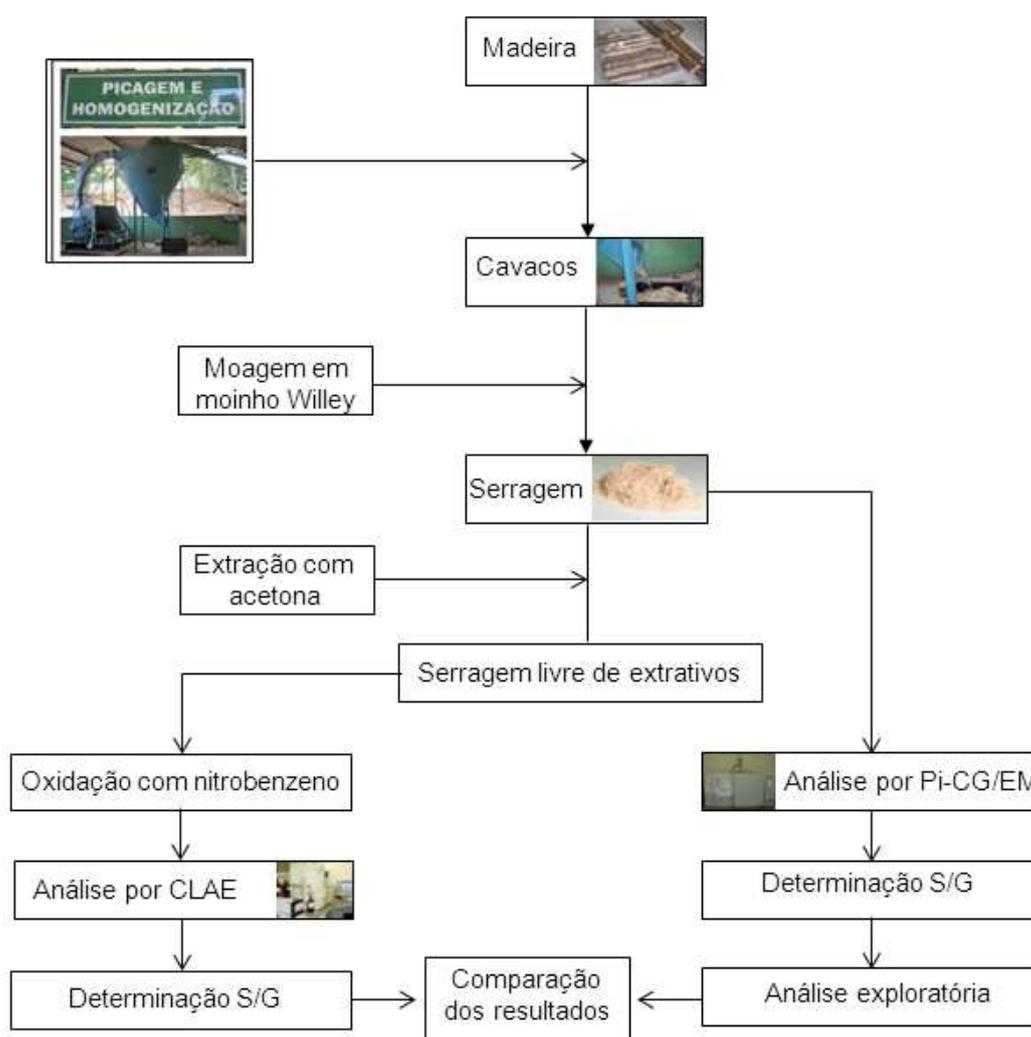


Figura 10. Fluxograma de atividades realizadas

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Características da pirólise das amostras de *Eucalyptus*

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. 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.

Neste contexto, serragens de diferentes híbridos 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.

Para este estudo foi definido o uso de temperatura de pirólise a 550 °C por ser a temperatura mais adequada no comportamento pirolítico da serragem do eucalipto, uma vez que, nessa temperatura os compostos lignocelulósicos são totalmente pirolisados e não sofrem degradações severas, conforme citado por Silva (2006).

Foi observado um perfil de pirograma muito semelhante para todas as amostras analisadas, independente do clone ou da área de cultivo. A Figura 11 apresenta um pirograma típico das amostras de *Eucalyptus* a 550 °C (o pirograma da Figura 11 é referente à amostra identificada como Amostra 10, com a presença de extrativos).

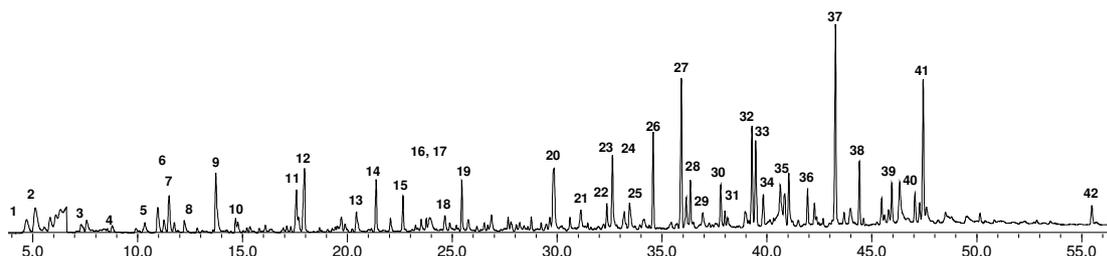


Figura 11. Pirograma típico obtido para as amostras de *Eucalyptus* a 550 °C

Os derivados de lignina forneceram espectros de massas com íon molecular bastante intenso, correspondendo na maioria das vezes ao pico base. 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.

Os produtos degradados apresentados na Tabela 2 foram classificados de acordo com a sua origem, como carboidrato (C), lignina siringila (LS), lignina guaiacila (LG) e derivado modificado da lignina (LM). Os derivados modificados da lignina foram considerados os compostos cujas unidades não pertencem aos tipos guaiacila e siringila. A Tabela 2 apresenta os compostos e valores de área relativa da amostra 10 em estudo, sem a presença de extrativos.

Os espectros de massas obtidos foram comparados com dados da literatura, sendo identificados um total de 42 compostos, sendo 14 compostos derivados de carboidratos, 9 de lignina siringila, 13 de lignina guaiacila e 3 de lignina modificada. Estes compostos foram identificados anteriormente em madeiras de *Eucalyptus* cultivados no Brasil (MARCELO, 2007; NUNES, 2008). Devido à falta de similaridade de seus espectros de massas com os espectros de referência, três picos (Pc1-Pc2-e Pc13) observados nos pirogramas não puderam ser identificados.

As análises dos pirogramas das serragens com e sem extrativos apontaram a predominância de compostos fenólicos derivados da lignina.

Os produtos de pirólise de lignina apresentaram-se mais abundantes e mais facilmente identificáveis do que os derivados de carboidratos. Isso se deve à maior estabilidade térmica dos compostos aromáticos da lignina durante a pirólise e

frente ao impacto de elétrons do espectrômetro de massas, resultando em espectros de massas com íons moleculares mais abundantes. Além disso, os carboidratos podem sofrer múltiplos rearranjos sob condições de pirólise, resultando em vários isômeros com espectros de difícil interpretação devido à ausência de íons moleculares (NONIER *et al.*, 2006).

O pico de maior intensidade dos derivados de lignina foi o correspondente ao 4-vinilsiringol e *trans*-4-propenilsiringol (picos 37 e 41 respectivamente). Dentre os derivados de carboidratos, os picos de maiores intensidades foram correspondentes aos compostos 2-Furanocarboxaldeído e ciclopenten-1,2-diona (picos 9 e 12 respectivamente).

Os compostos de lignina do tipo *p*-hidroxifenil ou derivados de extrativos não foram observados, provavelmente devido a suas baixas concentrações no tipo da amostra analisada.

Observou-se a presença dos compostos derivados de lignina modificada (2-metil-fenol; 3-metil-fenol e 3-metoxicateol), estes derivados modificados podem ser encontrados quando a lignina é submetida à pirólise em temperatura próxima a 600 °C, como já citado em trabalhos anteriores (GUTIÉRREZ *et al.*, 2006; SILVA, 2006; NUNES, 2008).

Os compostos derivados de lignina modificada apresentado na Figura 12 (2-metil-fenol e 3-metil-fenol) correspondentes aos picos 17 e 18 respectivamente, apresentaram tempo de retenção bem próximos. A temperatura de ebulição dos compostos 2-metil-fenol e 3-metil-fenol é de 191 °C e 203 °C, respectivamente. Como o composto 2-metil-fenol apresenta temperatura de ebulição inferior ao composto 3-metil-fenol, o mesmo sai primeiro, ou seja, apresenta um tempo de retenção menor quando comparado com o composto 3-metil-fenol.

Tabela 2. Produtos de pirólise a 550 °C observados nos pirogramas

Nº do pico	t _R (min)	Principais m/z	Composto	Tipo	MM (g mol ⁻¹)	Área *
1	4,695	58	NI	-	54	1,46
2	5,115	56, 71, 86	NI	-	86	3,01
3	7,299	70, 55	But-2enal	C	70	0,65
4	7,562	74	3-hidroxiacetaldeído	C	74	0,72
5	10,330	55, 82	Penta-1,4-Dien-3-Ona	C	82	0,85
6	11,249	55, 84	Furan-2(3H)-ona	C	84	0,70
7	11,495	58, 57	Butan-2,3-diona	C	86	2,24
8	12,830	95, 67	2-Furaldeído	C	96	0,28
9	13,721	96, 67, 97	2-Furanocarboxaldeído	C	96	3,71
10	14,662	98, 81, 69	2-Furanometanol	C	98	0,47
11	17,567	55, 84	Furan-2(5H)-ona	C	84	1,80
12	17,953	70, 98, 83	ciclopenten-1,2-diona	C	98	4,05
13	20,427	94	NI	-	94	1,21
14	21,363	114, 58, 69	5,6-Diidro-4-hidroxipiran-2(2H)-ona	C	114	2,78
15	22,649	112	Ciclopenten-1-ona	C	112	1,66
16	23,512	69, 98	4-Metil-(5H)-furan-2-ona	C	98	0,53
17	23,753	108, 79, 90	2-metil-fenol	LM	108	0,36
18	24,642	108, 79, 90	3-metil-fenol	LM	108	1,00
19	25,451	109, 124, 81	Guaiacol	LG	124	2,01
20	29,843	110, 138, 123	4-metil-2-metoxi	LG	138	4,72
21	31,123	97, 126, 69	5-(hidroximetil)-furanocarboxaldeído	C	126	1,09
22	32,364	124, 78, 108	1,2-Benzenediol, 3-metil	LG	124	1,18
23	32,631	140, 125, 97	3-Metoxicateol	LM	140	3,89
24	33,196	152, 137, 122	4-Etilguaiacol	LG	152	0,82
25	33,445	124, 78, 107	4-metil-1,2-Benzenediol	LG	124	1,64
26	34,571	150, 135, 107	4-vinil guaiacol	LG	150	4,35
27	35,915	154, 139, 93	Siringol	LS	154	7,96
28	36,349	154, 139, 111	3,4-dimetoxifenol	LS	154	1,75
29	36,931	123, 138	3-Metilguaiacol	LG	138	0,56
30	37,793	152, 123, 137	Vanilina	LG	152	2,12
31	37,993	164, 149, 77	Eugenol	LG	164	0,61
32	39,282	168, 153, 125	Metilsiringol	LS	168	4,54
33	39,458	164, 149, 131	Isoeugenol	LG	164	4,32
34	39,823	137, 166, 122	Homovanilina	LG	166	1,61
35	41,041	166, 151, 123	Acetoguaiacona	LG	166	2,74
36	41,935	167, 182, 107	4-etilsiringol	LG	182	1,46
37	43,265	180, 165, 137	4-vinil siringol	LS	180	10,35
38	44,404	194, 91, 179	Metoxieugenol	LS	194	2,92
39	45,949	194, 91, 119	<i>cis</i> -4-propenilsiringol	LS	194	1,42
40	46,327	182, 167, 111	Siringaldeído	LS	182	2,72
41	47,444	194, 91, 119	<i>trans</i> -4-propenilsiringol	LS	194	6,75
42	55,487	208, 165, 137	Sinapaldeído	LS	208	0,99

*Área relativa: porcentagem em relação à soma de todas as áreas dos picos do pirograma

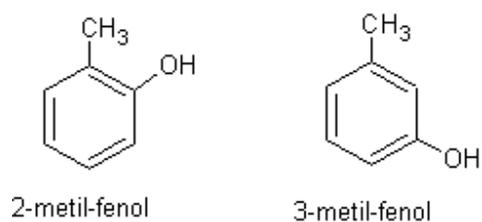


Figura 12. Estrutura molecular dos compostos 2-metil-fenol e 3-metil-fenol

Conforme apresentado na Figura 13 e Figura 14, pode-se observar o espectro de massas dos dois compostos em questão, onde ambos apresentam m/z principal no valor correspondente a 108 g mol^{-1} . Os compostos referentes ao m/z 90 e 79 são provenientes da fragmentação da molécula principal.

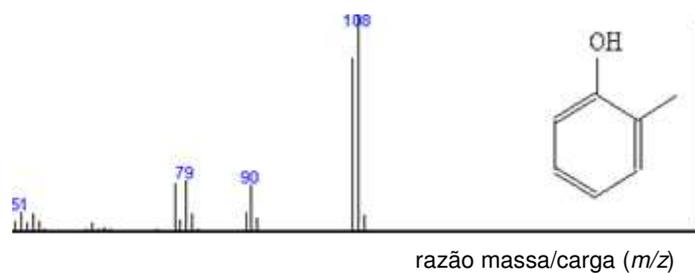


Figura 13. Espectro de massas dos compostos 2-metil-fenol

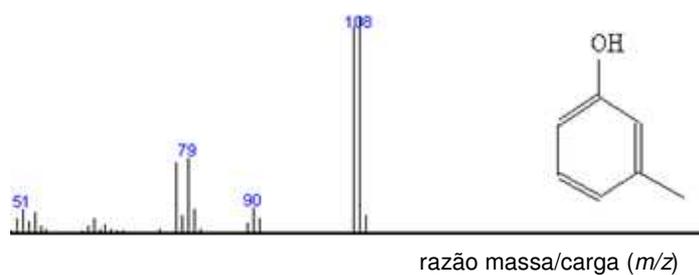


Figura 14. Espectro de massas do composto 3-metil-fenol

5.2 Determinação da relação siringil/guaiacil

Os testes estatísticos foram realizados considerando os dados das áreas relativas dos compostos de cada amostra analisada com os dados de S/G realizados pela técnica de oxidação alcalina por nitrobenzeno (Anexo B).

Com o propósito de verificar características constitucionais da lignina das amostras, foi realizada também análise exploratória através da Análise de Componentes Principais, sendo consideradas as variáveis, as áreas dos compostos marcadores estabelecidos e os valores de relação S/G estabelecidos pela análise por oxidação alcalina com nitrobenzeno. Os dados da matriz (Tabela 3) foram submetidos à análise de componentes principais.

Na análise das componentes principais notou-se uma separação dos clones das amostras de eucalipto, com um total de variância acumulada de 72,25% nas Componentes Principais (CP) 1 e 2, como mostra a Figura 15 na projeção dos escores. No quadrante identificado como escores negativos para a CP1 e positivo para a CP2, as amostras 54A; 55A; 56A; 59A e 60A agruparam neste quadrante. Já as amostras 53A; 62A e 65A se dispuseram no quadrante positivo da CP1 e positivo da CP2, enquanto que as amostras 57A; 58A; 67A; 68A; 69A; 70A e 72A se localizam no quadrante negativo para as duas CPs. No quadrante positivo na CP1 e negativo na CP2 encontram-se dispostas as amostras 52A; 61A; 63A; 64A; 66A e 71A, mostrando uma diferenciação das amostras consideradas.

Já na Figura 16 dos pesos, as variáveis referentes aos picos foram observadas, no sentido de, mostrar as influências das mesmas na separação das amostras representadas no gráfico dos escores. Desta forma, as variáveis do quadrante em que a CP1 é negativa e CP2 positiva, influenciam no agrupamento das amostras neste quadrante, assim as variáveis Pc38 (metoxieugenol), Pc39 (*cis*-4-propenilsiringol), Pc40 (siringaldeído) e Pc41 (*trans*-4-propenilsiringol). As variáveis Pc37 (4-vinil siringol) e a relação Siringil/Guaiacil tiveram influência na separação das amostras nos quadrantes negativos para CP2 e negativo para a CP1. As amostras do quadrante positivo tanto para CP1 e CP2, foram separadas

pela influência das variáveis, Pc25(4-metil-1,2-benzenediol), Pc30 (vanilina), Pc31 (eugenol) e Pc33 (isoeugenol). As amostras do quadrante positivo para CP1 e negativo para CP2, foram separadas pela influência das variáveis Pc19 (guaiacol), Pc26 (4-vinil guaiacol).

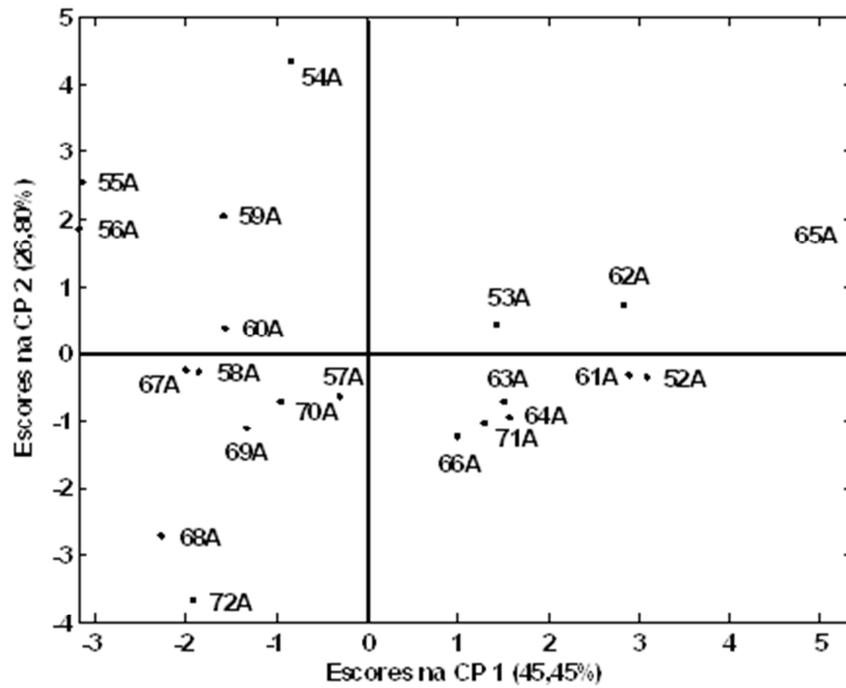


Figura 15. Escores das amostras dos diferentes clones de eucalipto, levando em consideração os picos dos pirogramas.

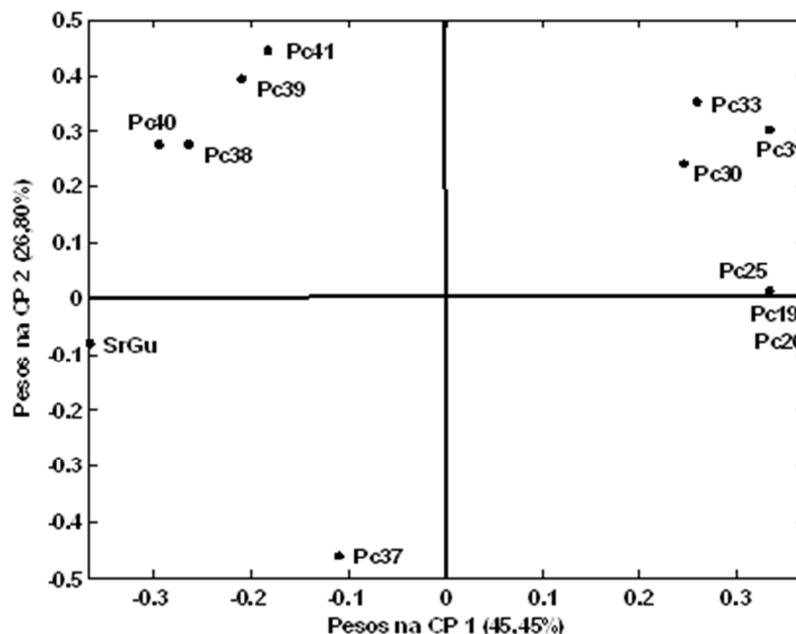


Figura 16. Disposição no gráfico dos pesos, das variáveis consideradas para explicar a influência nas separações das amostras.

Na avaliação para definição de marcadores foi empregada análise hierárquica por agrupamento (*cluster analysis*)¹¹.

A Figura 17 apresenta o dendograma submetido com todas as áreas relativas dos picos obtidos nos pirogramas das amostras avaliadas com o parâmetro de análise de referência de S/G por oxidação alcalina por nitrobenzeno., em que, nota-se a pouca formação de grupos e uma alta similaridade de valor de sinal, para os sinais 1 e 2 com menores distâncias no gráfico. Os picos 22,38,39,40 e 41 já evidenciam a formação de um grupo e os picos 19,25,26,30,31 e 33 evidenciam a formação de outro grupo.

Na Figura 18 são apresentados os marcadores selecionados a partir do critério da distância euclidiana e dos picos que apresentaram $p < 0,05$ na tabela de correlação de matrizes; onde apresentam significância na análise de variância de acordo com modelo linear. As informações foram cruzadas, avaliadas e

¹¹ Termo usado para descrever diversas técnicas numéricas cujo propósito fundamental é classificar os valores de uma matriz de dados sob estudo em grupos discretos.

estabelecidas utilizando a tabela de regressão e a análise hierárquica por agrupamento.

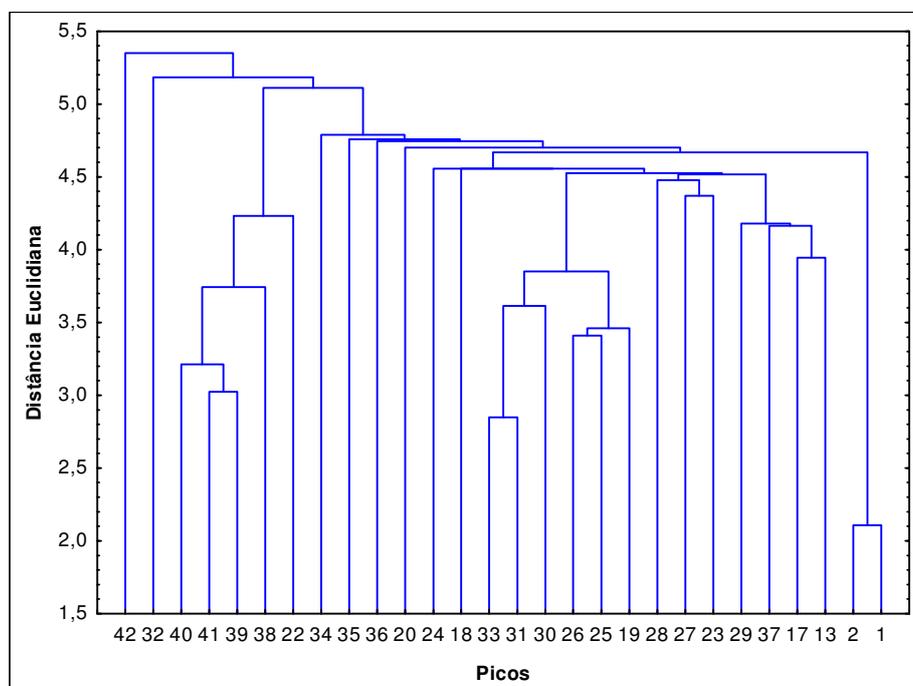


Figura 17. Dendrograma pelo método de agrupamentos referente à área relativa das amostras considerando 42 picos.

A análise hierárquica de agrupamento mostrou uma similaridade entre as áreas consideradas, evidenciando dois grupos de variáveis com maiores similaridades entre si. No grupo 1, composto pelas variáveis dos picos 19, 25, 26, 30, 31 e 33, que foram provenientes da degradação da lignina guaiacila (LG), neste grupo os picos mais similares são os 31 e 33, denotado pela menor distância. No grupo 2 os picos são 38, 39, 40 e 41, em que os picos 39 e 41 são os mais similares entre si, é formado pela degradação da lignina siringila (LS), conforme Figura 18.

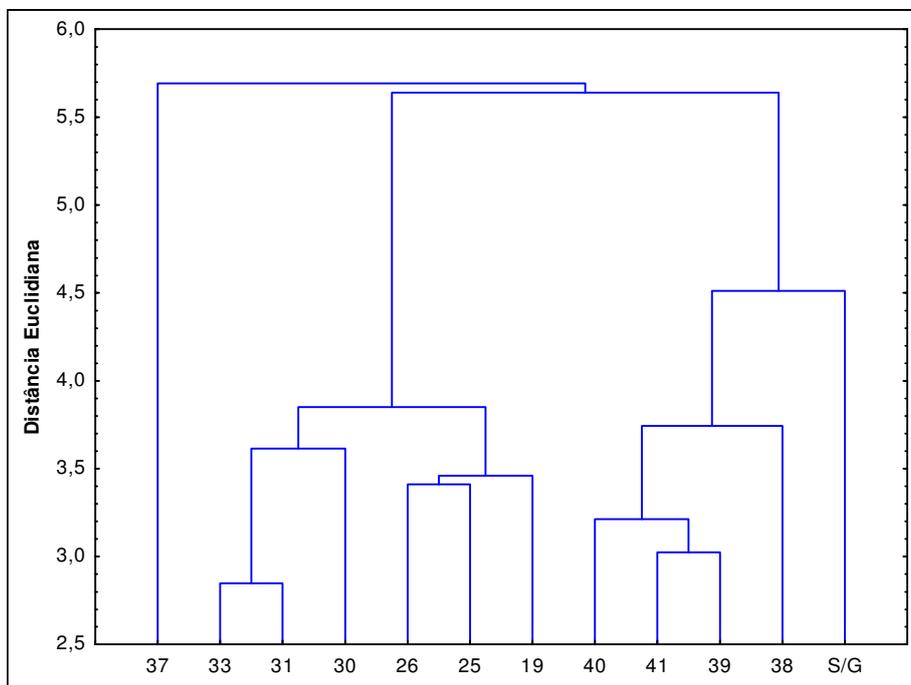


Figura 18. Dendrograma pelo método de agrupamentos referente aos picos marcadores considerados no estudo de separação das amostras.

A qualidade do ajuste pode ser verificada mediante a Figura 19 onde os dados se ajustam à reta identidade, apresentando um coeficiente de correlação de 0,9408; demonstrando pouca flutuação em relação à reta linear. Esta flutuação pode ser observada na Figura 20, em que os resíduos apresentados em relação ao método de referência a relação S/G Nitrobenzeno em comparação a relação S/G Marcadores, experimento realizado com pirólise. Os resíduos se distribuem no intervalo de -0,3 a 0,3 na proporção de 100%, no intervalo de resíduo de -0,2 a 0,2 a proporção é de 90%, sendo que na proporção de 47,62 % dos resíduos estão entre -0,1 a 0,1, isto evidencia um indicativo que as determinações comparativas dos métodos relacionados, são bastante próximas nos valores obtidos.

Tabela 3. Dados utilizados no modelo linear constituídos pelas áreas relativas dos picos (%) dos marcadores utilizados e dos valores de relação S/G Nitrobenzeno para as 21 amostras.

Amostra	S/G	Pico 19	Pico 25	Pico 26	Pico 30	Pico 31	Pico 33	Pico 37	Pico 38	Pico 39	Pico 40	Pico 41
2152A	3,10	2,17	1,95	4,91	2,05	0,56	4,48	10,10	3,17	1,59	2,07	5,91
2153A	3,12	1,66	1,38	5,22	1,79	0,57	4,35	10,15	2,86	1,69	3,66	7,89
2154A	2,96	1,47	1,32	3,70	2,05	0,62	4,50	9,54	3,76	2,08	6,19	9,31
2155A	3,53	1,41	0,79	3,47	1,58	0,48	4,50	10,28	3,98	2,07	5,69	8,80
2156A	3,71	1,30	1,27	2,89	1,76	0,46	4,00	9,99	3,46	2,06	6,73	8,26
2157A	3,53	1,89	1,10	4,16	1,87	0,44	4,16	10,75	2,90	1,58	4,53	7,81
2158A	3,56	1,87	0,85	3,82	1,70	0,48	3,70	11,28	3,44	1,88	4,04	8,02
2159A	3,65	1,51	0,84	3,26	2,07	0,50	4,72	10,34	3,68	1,92	3,43	8,31
2160A	3,69	1,29	1,34	3,47	1,99	0,46	3,98	10,31	3,39	1,74	3,60	7,94
2161A	2,81	2,01	1,64	4,35	2,12	0,61	4,32	10,35	2,92	1,42	2,72	6,75
2162A	2,87	2,15	1,61	4,54	2,11	0,58	4,91	10,33	3,18	1,53	3,02	7,11
2163A	2,83	1,95	1,41	4,18	2,19	0,51	4,05	11,07	3,21	1,59	2,09	7,05
2164A	2,90	1,77	1,64	4,18	2,02	0,54	4,21	11,29	3,17	1,61	1,74	6,85
2165A	2,68	2,84	2,10	4,99	2,13	0,67	5,09	9,50	2,95	1,79	0,43	7,20
2166A	2,86	1,59	1,46	4,33	1,84	0,53	4,31	11,70	3,52	1,65	1,11	6,50
2167A	3,89	1,52	0,72	3,67	1,95	0,44	4,10	10,75	3,50	1,75	3,91	7,09
2168A	3,68	1,50	0,66	3,03	1,73	0,40	3,51	11,35	3,19	1,56	3,06	6,17
2169A	3,61	1,53	0,63	3,56	1,82	0,44	3,99	10,47	3,38	1,56	2,21	6,86
2170A	3,51	1,69	0,71	3,64	1,82	0,48	4,39	11,29	3,54	1,51	2,56	7,52
2171A	3,30	1,62	1,41	4,57	1,77	0,57	4,44	10,93	3,07	1,60	2,00	6,43
2172A	3,53	1,56	1,68	3,98	1,13	0,34	3,45	12,02	3,05	1,71	3,41	6,50

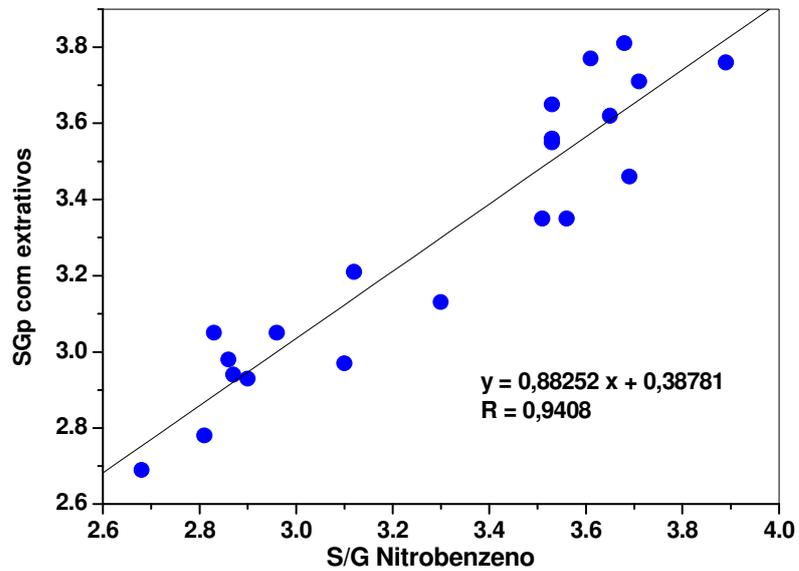


Figura 19. Correlação dos valores de S/G obtida pelo método usando nitrobenzeno e a relação S/G obtida pelo método com determinação por pirólise em amostras com extrativos.

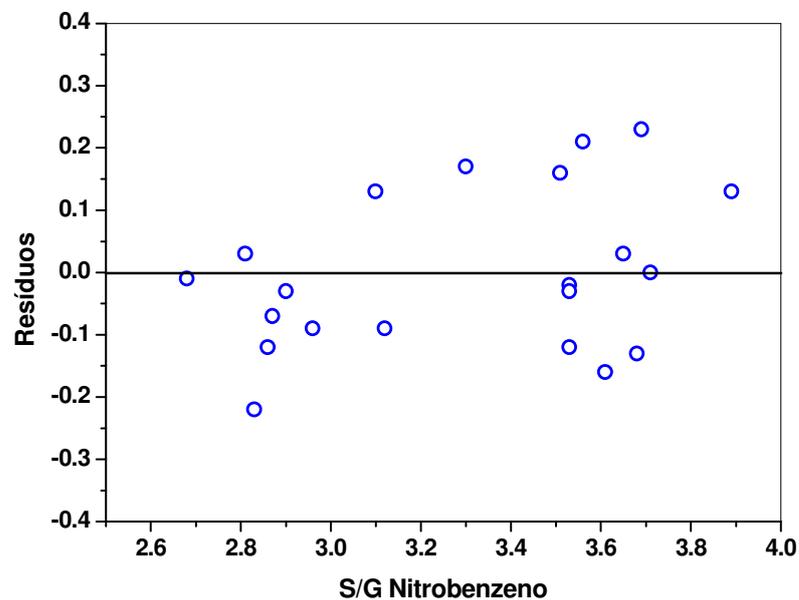


Figura 20. Resíduos em relação aos valores da relação S/G determinados pelo método com nitrobenzeno, em relação aos valores da relação S/G determinados pelo método de pirólise.

Na Tabela 4 são apresentados os valores obtidos dos picos marcadores que irão compor o modelo da equação com os coeficientes para cada pico e o intercepto da equação. O modelo apresentou um coeficiente de correlação de 0,9408.

Tabela 4. Parâmetros estimados para o modelo linear proposto

	Tipo	Composto	Coefficiente	p
Intercepto	-	-	7,80493	0,007713
Pico 19	LG	Guaiacol	-0,18343	0,409924
Pico 25	LG	4-metil-1,2-Benzenediol	-0,43154	0,039989
Pico 26	LG	4-vinil guaiacol	-0,02172	0,891036
Pico 30	LG	Vanilina	-0,03650	0,915941
Pico 31	LG	Eugenol	-3,50997	0,027795
Pico 33	LG	Isoeugenol	0,19653	0,415948
Pico 37	LS	4-vinil siringol	-0,16618	0,237860
Pico 38	LS	Metoxieugenol	-0,33694	0,326745
Pico 39	LS	<i>cis</i> -4-propenilsiringol	0,65366	0,274814
Pico 40	LS	Siringaldeído	-0,00098	0,987432
Pico 41	LS	<i>trans</i> -4-propenilsiringol	-0,10439	0,377288

Após ter sido estabelecido a equação que prediz o modelo para determinação da relação S/G por pirólise, foi calculado os valores referentes à análise com os 11 marcadores derivados de lignina das amostras avaliadas, conforme apresentado na Tabela 5. Os valores obtidos da relação S/G ficaram muito próximos da relação obtida pela oxidação por nitrobenzeno.

Tabela 5. Relação S/G determinada por Pi-CG/EM e por oxidação alcalina com nitrobenzeno em serragem de *Eucalyptus* spp.

Relação S/G		
Amostra	S/Gp *	S/G **
2152A	2,97	3,10
2153A	3,21	3,12
2154A	3,05	2,96
2155A	3,65	3,53
2156A	3,71	3,71
2157A	3,55	3,53
2158A	3,35	3,56
2159A	3,62	3,65
2160A	3,46	3,69
2161A	2,78	2,81
2162A	2,94	2,87
2163A	3,05	2,83
2164A	2,93	2,90
2165A	2,69	2,68
2166A	2,98	2,86
2167A	3,76	3,89
2168A	3,81	3,68
2169A	3,77	3,61
2170A	3,35	3,51
2171A	3,13	3,30
2172A	3,56	3,53

*Com a utilização dos 11 marcadores de derivados de lignina das amostras com extrativo e
 ** pelo método da oxidação alcalina com nitrobenzeno.

Pelos testes estatísticos verificou-se claramente que a determinação da relação S/G por Pi-CG/EM utilizando-se as áreas relativas dos picos dos compostos marcadores forneceram resultados estatisticamente equivalentes aos obtidos pelo método de oxidação alcalina com nitrobenzeno.

Foi observado que os híbridos *Eucalytus Urophylla x glóbulos* apresentaram teores de S/G superiores aos demais híbridos avaliados.

A serragem com e sem extrativos tiveram valores muito próximos da relação S/G para as amostras avaliadas (Tabela 6). Neste caso, a equação apresentou coeficiente angular próximo de um e coeficiente linear mais próximo de zero, além de coeficiente de regressão linear mais próximo de um, indicando que

os valores obtidos estão relacionados com os valores de referência. Não foi observado influência dos extrativos na determinação S/G por Pi-CG/EM, afirmando assim a teoria descrita por (SILVA, 2006).

Tabela 6. Relação S/G determinada por Pi-CG/EM em amostras com extrativos e sem extrativos.

Relação S/G		
Amostra	S/Gp*	S/Gp**
2152A	2,97	3,27
2153A	3,21	3,21
2154A	3,05	3,08
2155A	3,65	3,56
2156A	3,71	3,59
2157A	3,55	3,64
2158A	3,35	3,30
2159A	3,62	3,54
2160A	3,46	3,46
2161A	2,78	2,66
2162A	2,94	3,31
2163A	3,05	3,05
2164A	2,93	2,82
2165A	2,69	2,86
2166A	2,98	2,85
2167A	3,76	3,66
2168A	3,81	3,76
2169A	3,77	3,82
2170A	3,35	3,35
2171A	3,13	3,45
2172A	3,56	3,68

*Com a utilização dos 11 marcadores de derivados de lignina das amostras com extrativo e

** Com a utilização dos 11 marcadores de derivados de lignina das amostras sem extrativo

A Figura 21 apresenta boa correlação entre os valores obtidos por Pi-CG/EM em amostras com extrativos e sem extrativos. Apresentando um valor de coeficiente de correlação de 0,90665. A Figura 22 apresenta boa correlação entre os valores obtidos por Pi-CG/EM em amostras sem extrativos com o método por oxidação por nitrobenzeno. Apresentando um valor de coeficiente de correlação de 0,8755.

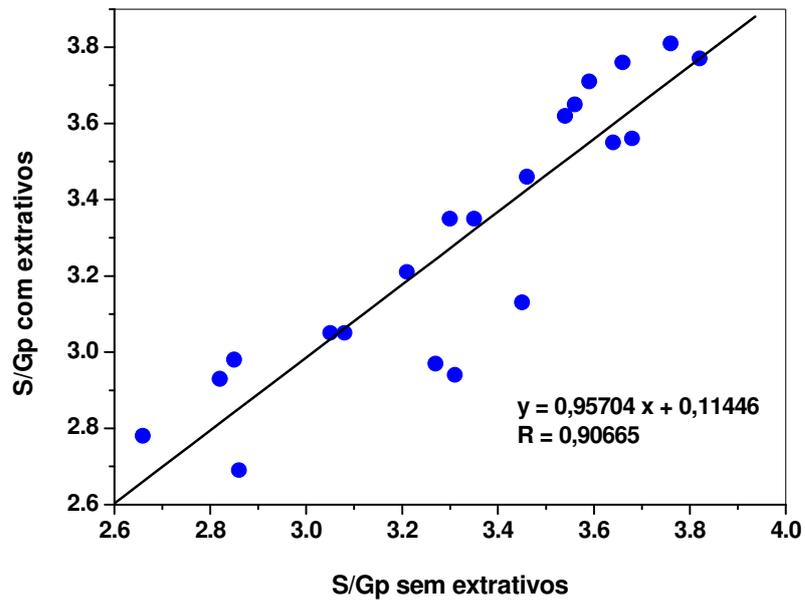


Figura 21. Correlação das amostras analisadas, obtendo-se os valores S/G por Pi-CG/EM em amostras com e sem extrativos.

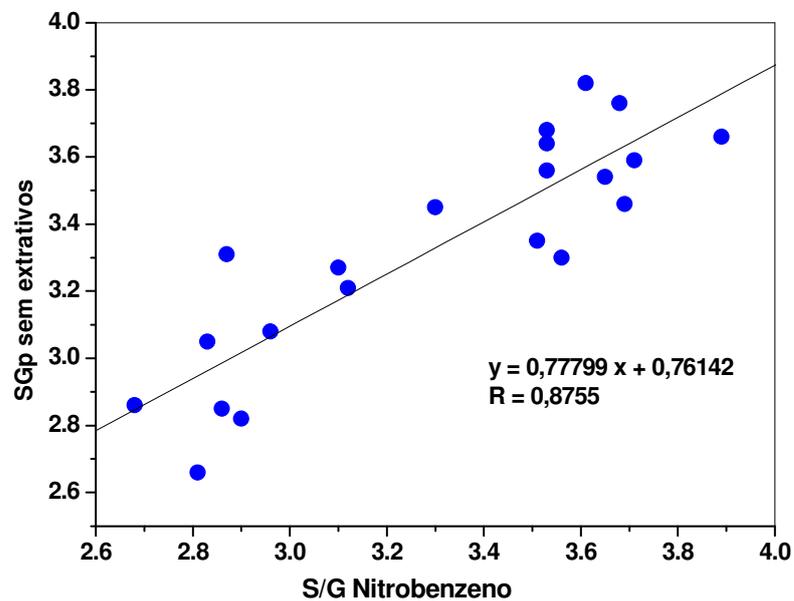


Figura 22. Correlação dos valores de S/G obtida pelo método usando nitrobenzeno e a relação S/G obtida pelo método com determinação por pirólise em amostras sem extrativos.

6 CONCLUSÕES

Os resultados mostraram que a técnica de pirólise acoplada à cromatografia gasosa e à espectrometria de massas é uma técnica eficiente para estudos da composição da lignina, em especial a relação siringila/guaiacila.

Foram estabelecidos onze marcadores de lignina pela Análise de Componentes Principais.

No grupo avaliado os compostos marcadores utilizados foram o Guaiacol; 4-metil-1,2-Benzenediol; 4-vinil guaiacol; Vanilina; Eugenol; Isoeugenol; como marcadores do tipo guaiacil e os compostos Metoxieugenol; *cis*-4-propenilsiringol; Siringaldeído; 4-vinil siringol e *trans*-4-propenilsiringol como marcadores do tipo siringil.

A análise multivariada por componentes principais e similaridade por análise hierárquica por agrupamento, foi capaz de evidenciar as separações das amostras e evidenciar os compostos responsáveis pela localização de cada amostra, no que se refere à separação das mesmas.

A equação ajustada para o modelo apresentou um coeficiente de correlação capaz de mostrar as semelhanças nas determinações dos métodos de análise para a relação S/G.

Foi observado que os extrativos não apresentam interferência na determinação da relação S/G da lignina por Pi-CG/EM.

Os resultados deste trabalho mostraram que a técnica apresenta consideráveis vantagens em relação ao método de oxidação alcalina por nitrobenzeno como a simplicidade e rapidez no preparo das amostras, rápida caracterização das amostras além de analisar quantidades pequenas de amostra.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, I. C. N.; GOMIDE, J. L.; COLODETTE, J. L.; da SILVA, H. D. Caracterização tecnológica da madeira de *Eucalyptus bethamii* para produção de celulose Kraft. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 21, n. 1, p. 167-174, 2011.

BROWNIG, B.L. **The chemistry of wood**. 1963.

COLLINS, D.J.; PILOTTI, C.A; WALLIS, A.F.A. **Appita Journal**, v.43, p. 193-198, 1990.

D'AIMEIDA, M. L. O. **Tecnologia de fabricação da pasta celulósica**. 2^a Ed. São Paulo. Serviço nacional de Aprendizagem Industrial – SENAI/IPT, 1988. ISBN: 85-09-000340-9 (Celulose e papel, Vol. I)

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

DEL RÍO, J. C.; GUTIÉRREZ, A.; ROMERO, J.; MARTÍNEZ, M. J; MARTÍNEZ, A.T. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.74, p.104-109, 2005.

DUARTE, F. A. S. **Avaliação da madeira de *Betula pendula*, *Eucalyptus globulus* e de híbrido de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* destinadas à produção de polpa celulósica Kraft**. 2006. 107 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

FERREIRA, M. M. C.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPE, P. L. O; Quimiometria I: Calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**, 1999, 22(5), 724-731.

GOMES, A. F. **Avaliação das características da madeira e da polpa de *Eucalyptus* mediante a aplicação de métodos não destrutivos na árvore viva.** 2007. 124 p.

GOMIDE, J. L.; DEMUNER, B.J. **O Papel**, v. 47, p. 36-38, 1986.

GUIMARÃES, C.C.J.; **Estudo do Branqueamento e das Propriedades Físico-Mecânicas e Óticas em Polpa Proveniente de Madeira de Tração de *Eucalyptus grandis*.** 2006. Monografia Pós-Graduação Lato Sensu - Universidade Federal de Viçosa.

GULLICHSEN, J.; PAULAPURO, H.; H.; **Forest products chemistry.** OyHelsinki: Fapet Oy, 2000, Book 3,350 p.

GUTIÉRREZ, A.; DEL RÍO, J. C.; Gas chromatography/mass spectrometry demonstration of steryl glycosides in eucalypt wood, kraft pulp and process liquids. **Rapid Commun Mass Spectrom**, 2001a, 15(24), 2515-2520.

GUTIÉRREZ, A.; RODRÍGUEZ, I. M.; DEL RIO, J.C. Chemical characterization of lignin and lipid fractions in industrial hemp bast fibers used for manufacturing high-quality paper. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.54, p.2138-2144, 2006.

HAPIN, C.; KNIGHT, M. E.; FOXON, G. A.; CAMPBELL, M.M.; BOUDET, A. M.; BOON, J.J.; CHABBERT, B.; TOLLIER, M. T.; SHUCH, W. **Manipulation of lignin quality by down-regulation of cinnamyl alcohol dehydrogenase.** The Plant Journal, v.6, p. 339-350, 1994.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S.R. **Princípios de Análise Instrumental.** 6ª edição – Porto Alegre, 2009.

HOSAKA, A.; WATANABE, C.; TSUGE, S.; **Development of a new “flow-through” sample cup for the vertical micro-furnace pyrolyzers to reduce undesirable secondary reactions and band broadening of resulting pyrolyzates.** J. Anal. Appl. Pyrolysis. 2007, 78, 452-455.

IRWIN, W. J.; **Analytical pyrolysis** – An overview; J. Anal. Appl. Pyrol. 1979, 1, 3-25.

KLOCK, U.; MUÑIZ, G. I. B.; HERNANDEZ, J. A.; ANDRADE, A. S. **Química da Madeira (3ª Edição revisada).** 2005. 86p. Disponível em: <<http://www.marioloureiro.net/ciencia/biomass/quimicadamadeira.pdf>> Acesso em 09 mar. 2012.

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

LINDEN, R. Técnicas de agrupamento. **Sistema de Informação da FSMA**, n. 4, p. 18-36, 2009.

MARCELO, C. R. **Determinação da relação siringila/guaiacila em ligninas de *Eucalyptus* spp. por pirólise associada à cromatografia gasosa e à espectrometria de massas.** 2007. 78 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

MEIER, D.; FAIX, O. Pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. In: LIN, S.Y.; DENCE, C.W.; (Eds.). **Methods in lignina chemistry.** Berlin: Springer-Verlag, 1992. P. 177-199.

NETO, J. M. M.; MOITA, G. C.; Uma introdução à análise exploratória de dados multivariados, **Química Nova**, 1998, 21(4), 467-469.

NUNES, C. A. **Uso da pirólise acoplada à cromatografia gasosa e à espectrometria de massas na determinação da relação siringil/guaiacil em ligninas de *Eucalyptus* spp.** 2008. 48 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

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. **Jornal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.78, p.233-242,2007.

PENG, F.; PENG, P.; XU, F.; SUN, R. Fractional purification and bioconversion of hemicellulose. **Biotechnology Advances**. Disponível online em 27/01/12.

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.

RALPH, J.; HATFIELD, R.D. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.39, p.1426-1437,1991.

RAUVANTO, I. **The intrinsic mechanisms of softwood fiber damage in brown stock fiber line unit operations.** 2010. 62 p. Tese (Doutorado em Ciências – Tecnologia) – Departamento de Química, Universidade de Tecnologia de Lappeenranta, 2010.

RODRIGUES, J.; GRAÇA, J.; PEREIRA, H. Influence of tree eccentric growth on syringyl:guaiacyl ratio in *Eucalyptus globules* wood lignina assessed by analytical pyrolysis. **Jornal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.58-59, p.481-489,2001

ROBERT, A. W.J.; ROSE, M.E.; Mass spectrometry for chemists and biochemists, 2nd ed., Cambridge: Cambridge (UK), 1990.

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.

SARKANEN, K.V; HERGERT, H.L. **Lignins: occurrence, formation, structure and reaction**. New York: Wiley, 1971.

SCALLAN, A. M; TIGERSTRÖM, A.C. Swelling and elasticity of the cell walls of pulp fibres. **Journal of Pulp and Paper Science**, v. 18, n.5, p. 188-193, 1992.

SCHWANNINGER, M.; HINTERSTOISSER, B.; Comparison of the classical wood extraction method using a Soxhlet apparatus with an advanced extraction method. **Holz als Roh-und Werkstoff**, v. 60, p. 343-346, 2002.

SILVA, V. L. **Caracterização de ligninas *Eucalyptus* spp. pela técnica de pirólise associada à cromatografia gasosa e à espectrometria de massas**. 2006. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

SÍLVÉRIO,, F. O., BARBOSA, L. C. A., FIDÊNCIO, P. H., CRUZ, M. P., MALTHA, C. R. A., MILANEZ, A. F., PILÓ-VELOSO, D., **Effect of Storage Time on Composition and Content of Extractive in Eucalyptus Cultivated in Brazil**. *Bioresource and Technology*. 2007, doi:10.1016/j.biortech.2007.09.066.

SILVÉRIO, F. O. **Caracterização de extrativos de madeira de *eucalyptus* e depósitos de *pitch* envolvidos na fabricação de celulose e papel**. 2008. 157 p. Tese (Doutorado em Ciências – Química) – Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, 2008.

SILVÉRIO, F. O; BARBOSA, L.C.A; PILÓ-VELOSO, D. A Pirólise como técnica analítica. **Química Nova**, v. 31, n.6, p.4-9, 2008.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R. **Fundamentos de química analítica**. 8ª edição – São Paulo, 2009.

SMITH, C.; **Pyrolysis Measurements** in: Frank, S.; Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry, Prentice Hall PTR, Upper Saddle River, 1997, 893-931, cap. 49.

STANKIEWICZ, B. A.; BRIGGS, D. E.; EVERSLED, R. P.; **Chemical Composition of Paleozoic and Mesozoic Fossil Invertebrate Cuticles as revealed by Pyrolysis-Gas chromatography/mass spectrometry**. Energy Fuels. 1997, 11, 515-521.

SUN e TOMKINSON, J. Comparative study of organic solvent and water-soluble lipophilic extractives from wheat straw I: yield and chemical composition. **Journal of Wood Science**, 2003, 49, 47-52.

TSUTSUMI, Y.; KONDO, R.; SAKAI, K.; IMAMURA, H. **Holzforschung**, v.49, p. 423-428, 1995.

UDEN, P.C.; **Pure Appl. Chemistry**. 1993, 65, 2405.

WANG, F. C.; **Polymer analysis by pyrolysis gas chromatography**, J. Chromatogr. A. 1999, 843, 413-423.

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

WAMPLER, T. P.; **Introduction to pyrolysis-capillary gas chromatography**. J. chromatography., A. 1999, 842, 207-220.

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

YOKOI, H.; NAKASE, T.; ISHIDA, Y.; OHTANI, H.; TSUGE, S.; SONODA, T.; ONA T.; Rapid characterization of wood extractives in wood by thermal desorption-gas chromatography in thepresence of tetramethylammonium acetate. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, 2003,67, 191-200.

8 ANEXOS

8.1 Anexo A



Amostra	Picos																																										S/G
	1	2	13	17	18	19	20	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42															
1	1,72	3,55	0,57	0,31	0,78	2,17	4,36	0,83	3,43	0,69	1,95	4,91	7,31	2,06	0,48	2,05	0,56	5,18	4,48	1,52	1,79	1,23	10,10	3,17	1,59	2,07	5,91	0,54	3,10														
2	1,49	3,81	0,96	0,39	0,66	1,66	4,39	0,79	3,00	0,79	1,38	5,22	6,44	1,96	0,60	1,79	0,57	5,16	4,35	1,79	1,79	1,51	10,15	2,86	1,69	3,66	7,89	1,58	3,12														
3	1,75	3,26	0,65	0,30	0,60	1,47	3,30	1,39	3,26	1,06	1,32	3,70	6,53	1,63	0,18	2,05	0,62	5,46	4,50	1,64	1,87	1,38	9,54	3,76	2,08	6,19	9,31	0,16	2,96														
4	1,92	3,44	0,75	0,19	0,69	1,41	3,73	1,70	3,50	0,34	0,79	3,47	7,19	1,90	0,26	1,58	0,48	4,76	4,50	1,52	2,12	1,41	10,28	3,98	2,07	5,69	8,80	0,25	3,53														
5	1,35	3,04	0,50	0,19	0,56	1,30	3,32	1,41	3,98	1,21	1,27	2,89	7,31	2,11	0,59	1,76	0,46	4,77	4,00	1,27	2,87	1,30	9,99	3,46	2,06	6,73	8,26	1,35	3,71														
6	1,31	3,28	0,53	0,18	0,63	1,89	3,64	1,13	3,57	0,49	1,10	4,16	6,99	1,78	0,45	1,87	0,44	4,70	4,16	1,51	2,52	1,32	10,75	2,90	1,58	4,53	7,81	2,05	3,53														
7	1,04	2,81	1,16	0,33	0,58	1,87	0,69	0,64	3,66	0,58	0,85	3,82	8,84	1,90	0,22	1,70	0,48	5,08	3,70	1,60	2,64	1,64	11,28	3,44	1,88	4,04	8,02	0,28	3,56														
8	2,12	4,14	0,84	0,28	0,92	1,51	3,79	1,09	3,55	1,15	0,84	3,26	7,02	1,89	0,83	2,07	0,50	4,48	4,72	1,72	2,07	1,31	10,34	3,68	1,92	3,43	8,31	0,48	3,65														
9	1,72	3,61	0,55	0,37	0,60	1,29	0,59	0,99	3,55	0,71	1,34	3,47	6,67	2,64	0,63	1,99	0,46	5,56	3,98	1,64	2,61	1,46	10,31	3,39	1,74	3,60	7,94	0,84	3,69														
10	1,46	3,01	1,21	0,36	1,00	2,01	4,72	1,18	3,89	0,82	1,64	4,35	7,96	1,75	0,56	2,12	0,61	4,54	4,32	1,61	2,74	1,46	10,35	2,92	1,42	2,72	6,75	0,99	2,81														
11	1,65	3,58	1,62	0,36	0,72	2,15	4,43	0,85	3,74	0,83	1,61	4,54	7,33	1,84	0,73	2,11	0,58	4,60	4,91	1,64	2,37	1,39	10,33	3,18	1,53	3,02	7,11	0,10	2,87														
12	1,46	3,06	1,22	0,31	0,63	1,95	3,67	0,87	3,68	1,15	1,41	4,18	8,19	1,58	0,54	2,19	0,51	5,06	4,05	1,68	2,14	1,54	11,07	3,21	1,59	2,09	7,05	0,08	2,83														
13	1,45	2,90	1,43	0,38	0,98	1,77	4,37	1,23	3,84	0,87	1,64	4,18	7,81	2,10	0,96	2,02	0,54	4,77	4,21	1,61	2,54	1,50	11,29	3,17	1,61	1,74	6,85	0,76	2,90														
14	1,03	2,99	1,30	0,51	0,78	2,84	2,64	1,00	4,69	0,86	2,10	4,99	8,35	2,94	0,76	2,13	0,67	4,75	5,09	1,54	2,15	1,63	9,50	2,95	1,79	0,43	7,20	0,05	2,68														
15	1,44	3,36	1,40	0,41	0,61	1,59	4,02	0,74	3,61	0,95	1,46	4,33	7,33	2,05	0,58	1,84	0,53	5,37	4,31	1,61	1,87	1,51	11,70	3,52	1,65	1,11	6,50	0,37	2,86														
16	2,43	4,72	1,56	0,37	0,77	1,52	3,61	1,03	4,02	0,44	0,72	3,67	7,64	1,91	0,82	1,95	0,44	4,55	4,10	1,68	2,22	1,30	10,75	3,50	1,75	3,91	7,09	0,00	3,89														
17	2,42	4,46	1,83	0,44	0,86	1,50	3,56	1,05	3,98	0,57	0,66	3,03	7,98	1,68	0,83	1,73	0,40	3,86	3,51	1,60	2,50	1,35	11,35	3,19	1,56	3,06	6,17	0,18	3,68														
18	2,31	4,18	1,28	0,31	0,65	1,53	3,50	1,14	4,03	0,45	0,63	3,56	6,93	2,37	0,70	1,82	0,44	5,05	3,99	1,59	2,64	1,34	10,47	3,38	1,56	2,21	6,86	0,49	3,61														
19	1,84	3,49	1,35	0,34	0,79	1,69	3,78	1,00	4,11	0,51	0,71	3,64	8,13	2,07	0,63	1,82	0,48	5,02	4,39	1,36	2,27	1,35	11,29	3,54	1,51	2,56	7,52	0,44	3,51														
20	1,79	3,71	1,29	0,30	0,65	1,62	3,96	1,10	3,70	0,86	1,41	4,57	6,45	2,17	0,65	1,77	0,57	5,42	4,44	1,69	2,27	1,34	10,93	3,07	1,60	2,00	6,43	0,46	3,30														
21	1,91	4,20	1,51	0,30	0,54	1,56	3,42	0,95	3,94	0,54	1,68	3,98	6,46	2,29	0,77	1,13	0,34	5,52	3,45	1,40	2,29	1,60	12,02	3,05	1,71	3,41	6,50	1,40	3,53														

8.3 Anexo C

Os espectros de massas a seguir referem-se aos principais espectros dos compostos observados.

Pico 03 – But-2-enal



Pico 05 - Penta-1,4-Dieno-3-Ona



Pico 06 - Furan-2(3H)-ona



Pico 09 - 2-Furanocarboxaldeido



Pico 11 - Furan-2(5H)-ona



Pico 12 - ciclopenten-1,2-diona



Pico 16 - 4-Metil-(5H)-furan-2-ona



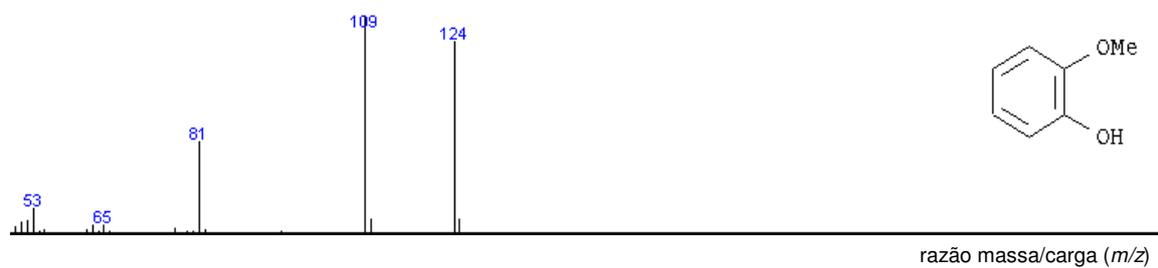
Pico 17 – 2-metil-fenol



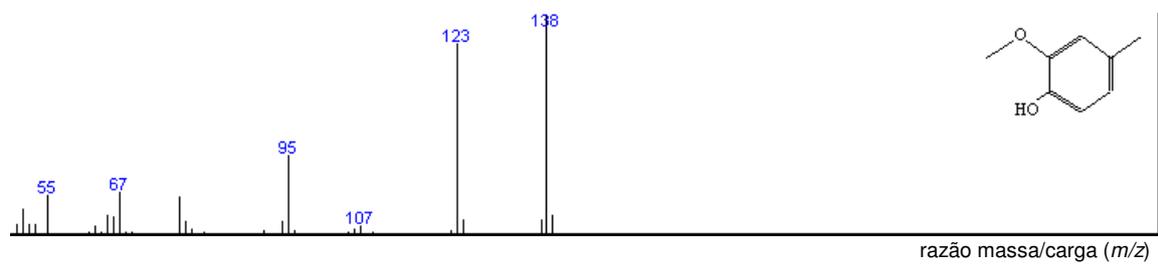
Pico 18 – 3-metil-fenol



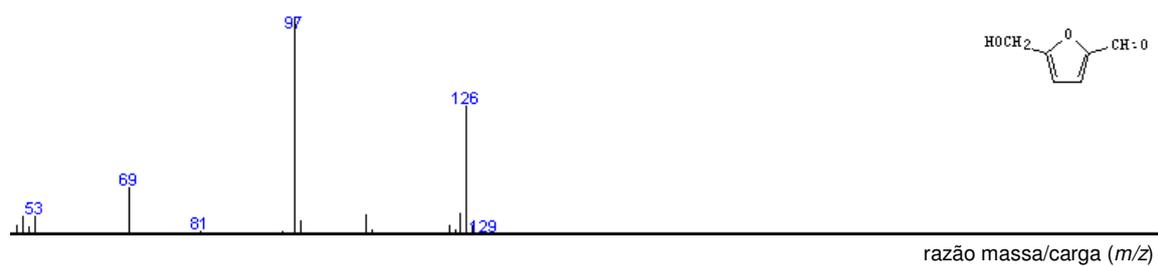
Pico 19 - Guaiacol



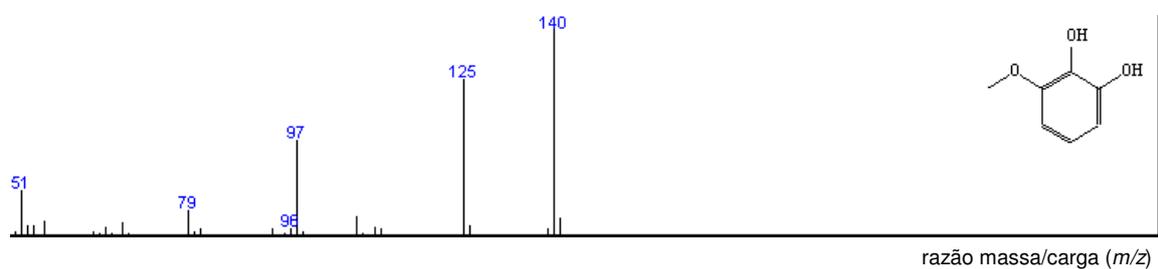
Pico 20 - 4-metil- 2-Metoxi



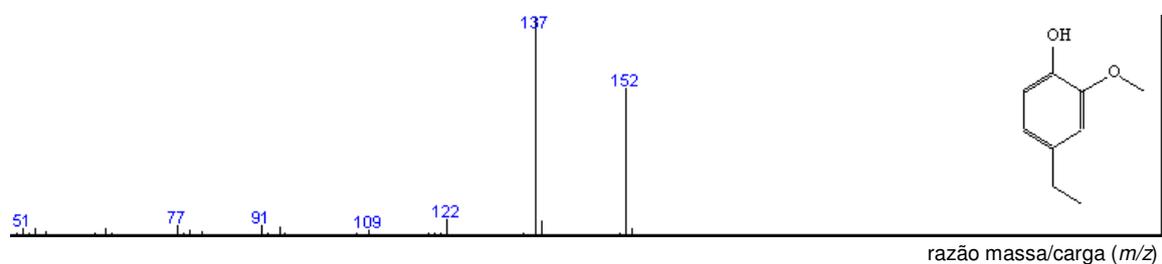
Pico 21 - 5-(hidroxi metil)-furancarboxaldeido



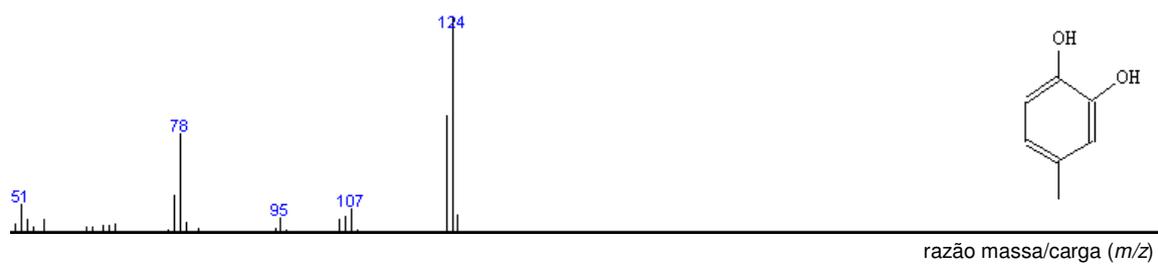
Pico 23 - 3-Metoxicateol



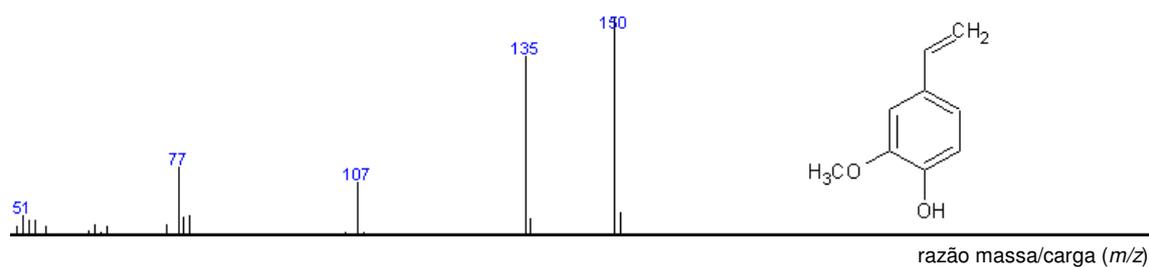
Pico 24 - 4-Etilguaiacol



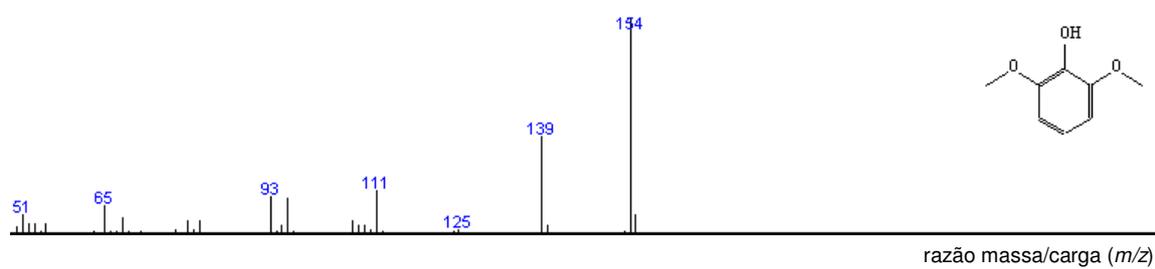
Pico 25 - 4-metil-1,2-Benzenediol



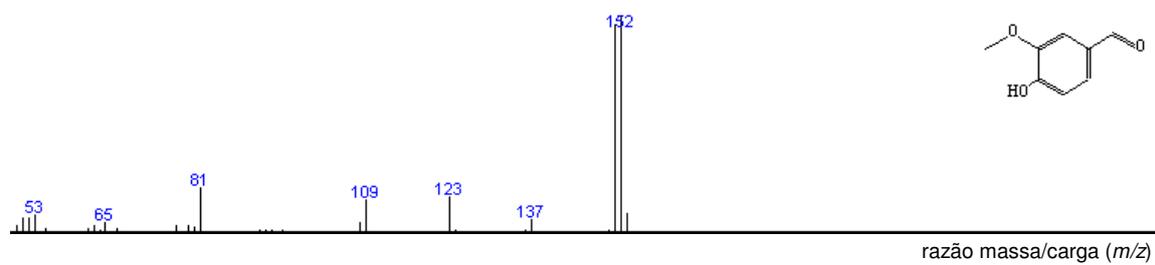
Pico 26 - 4-vinil guaiacol



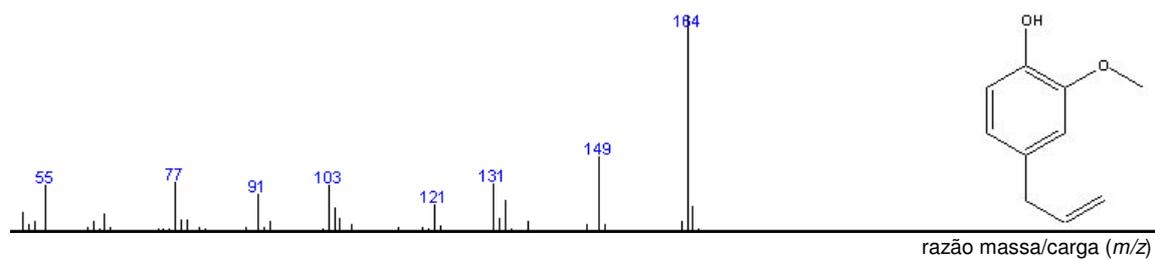
Pico 27 - Siringol



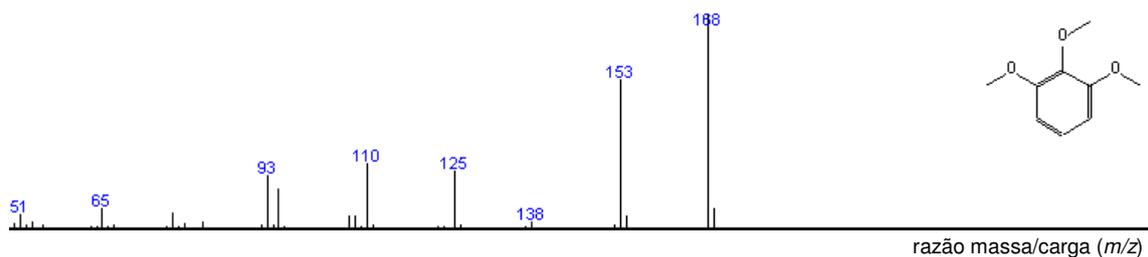
Pico 30 - Vanilina



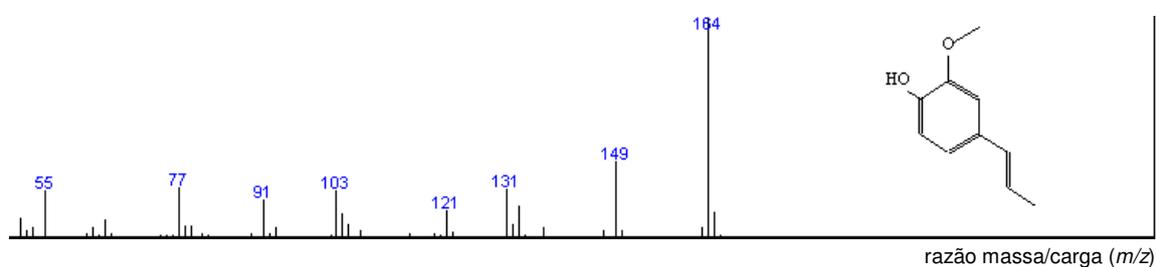
Pico 31 - Eugenol



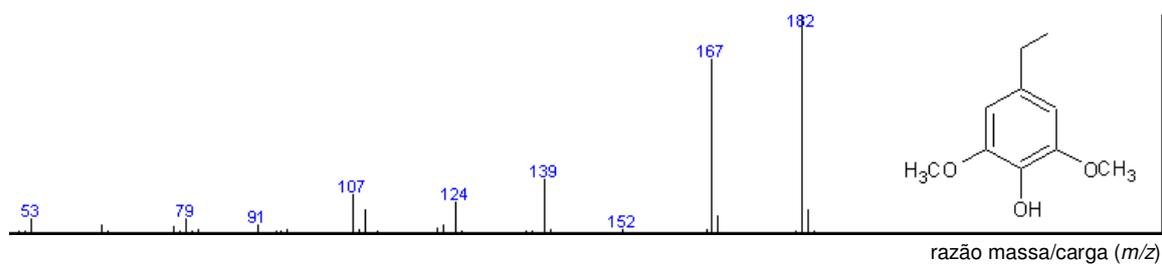
Pico 32 - Metilsiringol



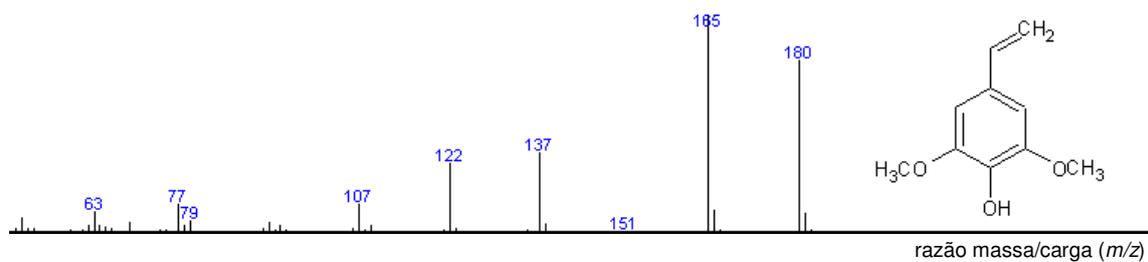
Pico 33 – Isoeugenol



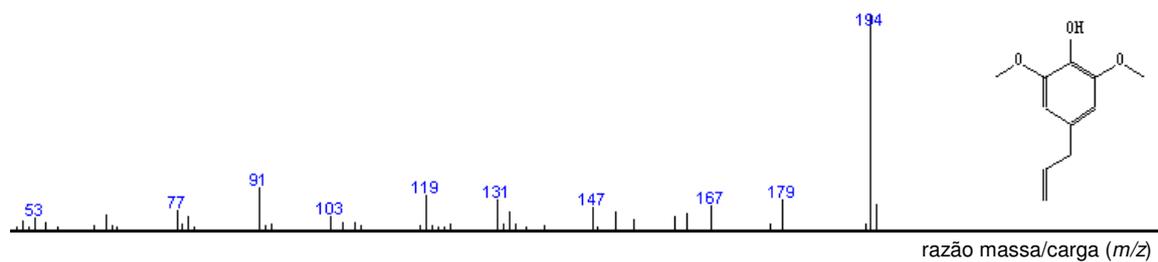
Pico 36 - 4-etilsiringol



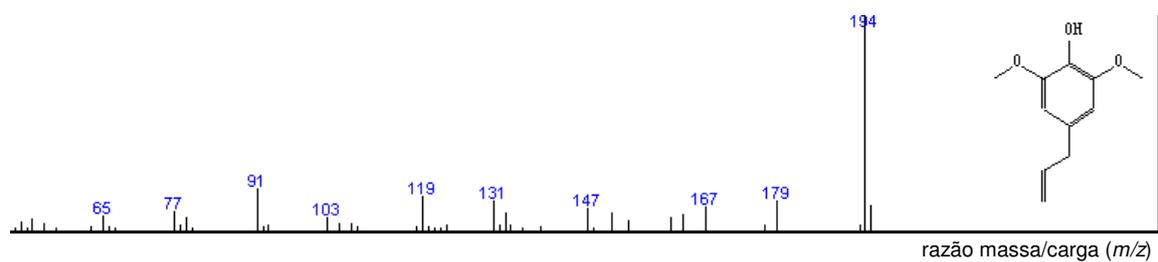
Pico 37 - 4-vinil siringol



Pico 38 - Metoxieugenol



Pico 39 - *cis*-4-propenilsiringol



Pico 40 - Siringaldeído

