

STELA MARIS DE MORAES ROMANOWSKI

ESTUDO DE SUBSTITUÍNTES EM XILANA DE
Mimosa scabrella (bracatinga) EM DIFERENTES
ESTÁGIOS DE CRESCIMENTO

Tese apresentada ao Departamento de
Bioquímica da Universidade Federal do Pa-
raná, para obtenção do grau de Mestre em
Ciências.

CURITIBA

1986

Trabalho orientado por:

Prof. Dr. João Batista Chaves Corrêa

Profa. Dra. Fany Reicher

Ao Hamilton, com carinho, pelo
amor, apoio e sacrifício da au
sência.

Aos meus filhos, Rodolfo e Felipe,
pelas horas que não lhes dispensei.
Aos meus pais, com gratidão.

SUMÁRIO

Agradecimentos	iii
Lista de Figuras	v
Lista de Tabelas	vi
Lista de Siglas	viii
Resumo	x
I. INTRODUÇÃO	01
II. MATERIAIS E MÉTODOS	25
II.1 - Métodos Gerais	25
II.2 - Hidrólises Ácidas	27
II.3 - Redução e acetilação dos produtos das hidrô- lises ácidas	27
II.4 - Obtenção das amostras	28
II.5 - Extração das <u>O</u> -acetil xilanas	29
II.6 - Oxidação com m-periodato de sódio e degrada- ção de Smith	31
II.7 - Degradação controlada de Smith da <u>O</u> -acetil .. xilana	32
II.8 - Análise por metilação dos oligossacarídeos	

resultantes da degradação controlada de Smith da <u>0</u> -acetil xilana	33
II.9 - Estudo da ligação éster entre o ácido 4- <u>0</u> -metil glucurônico da xilana e a lignina	34
II.10 - Efeito da etanolamina sobre a ligação éster entre o ácido urônico e a lignina nas hemiceluloses	36
II.11 - Esquema de extração convencional da <u>0</u> -acetil xilana do caule de <i>M. scabrella</i>	37
II.12 - Esquema de extração suave da <u>0</u> -acetil xilana do caule de <i>M. scabrella</i>	38
III. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
III.1 - Obtenção das <u>0</u> -acetil xilanas	39
III.2 - Oxidação com m-periodato de sódio e degradação de Smith	50
III.3 - Degradação controlada de Smith da <u>0</u> -acetil xilana	52
III.4 - Análise por metilação dos oligossacarídeos resultantes da degradação controlada de Smith da <u>0</u> -acetil xilana	55
III.5 - Estudo da ligação éster entre o ácido 4- <u>0</u> -metil glucurônico da xilana e a lignina ..	58
III.6 - Efeito da etanolamina sobre a ligação éster entre o ácido urônico e a lignina nas hemiceluloses.	64
IV. CONCLUSÕES	67
V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. João Batista Chaves Corrêa, por sua orientação, estímulo, amizade e dedicação.

À professora Dra. Fany Reicher, pela co-orientação, apoio e amizade.

Aos professores Dr. Philip Albert James Gorin e Dr. José Domingos Fontana, pelas sugestões e colaboração.

Ao professor Dr. Marcello Iacomini, Coordenador do Curso de Pós-Graduação, pelo incentivo.

Ao Engenheiro Florestal Hamilton Luiz Romanowski, pela coleta e determinação da idade, das amostras de *M. scabrella*.

Às amigas Mônica H. C. Grochocki, Maria de Lourdes C. C. da Silva, Maria Rita Sierakowski, Madalena Baron e Miriam Blumel, pela amizade, discussões e colaboração.

A todos os professores, funcionários e pós-graduandos do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Paraná, pelo coleguismo, colaboração e sugestões.

À Nilce do Rocio Chiquito, pelo trabalho datilográfico.

À equipe da Biblioteca do Setor de Ciências Biológicas, pela assistência.

Ao CNPq pelo suporte financeiro.

À tantos outros, que direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA

01	Estrutura da parede celular de fibra de madeira .	02
02	Hidrólise de pentosanas com formação de furfural	09
03	Medicamentos derivados de furfural	11
04	Síntese dos vários açúcares-nucleotídeos que agem como precursores dos polissacarídeos da parede celular vegetal	20
05	Relação entre a idade e teor de grupos <u>O</u> -acetílicos nos caules, holoceluloses e <u>O</u> -acetil xilanas de <i>M. scabrella</i>	47
06	Determinação do consumo de m-periodato de sódio pela <u>O</u> -acetil-(4- <u>O</u> -metil-glucurono) xilana de <i>M. scabrella</i>	51
07	Cromatograma em g.l.c. dos produtos 1, 2, 3 e 4 , resultantes da degradação controlada de Smith da <u>O</u> -acetil-(4- <u>O</u> -metil glucurono) xilana	53
08	Cromatogramas em g.l.c. da <u>O</u> -acetil-(4- <u>O</u> -metil-glucurono) xilana na forma de acetatos de alditóis .	60
09	Cromatogramas em g.l.c. da lignina liberada de uma <u>O</u> -acetil-(4- <u>O</u> -metil-glucurono) xilana saponificada	63

LISTA DE TABELAS

TABELAS

I	Composição química de caules de <i>M. scabrella</i> de diferentes idades	40
II	Composição em monossacarídeos neutros das <u>0</u> -acetil xilanas, solúveis em água, do caule de <i>M. scabrella</i>	44
III	Composição em monossacarídeos neutros das <u>0</u> -acetil xilanas, insolúveis em água, do caule de <i>M. scabrella</i>	45
IV	Composição e rendimento das <u>0</u> -acetil xilanas (Frações I e II), solúveis em água, obtidas de caule de <i>M. scabrella</i>	48
V	Teor de grupos <u>0</u> -acetílicos em <u>0</u> -acetil xilanas solúveis e insolúveis em água, de <i>M. scabrella</i>	49
VI	Análise dos produtos da degradação controlada de Smith da <u>0</u> -acetil-(4- <u>0</u> -metil-glucorono) xilana do caule de <i>M. scabrella</i>	54
VII	Análise por metilação dos produtos da degradação controlada de Smith da <u>0</u> -acetil-(4- <u>0</u> -metil-glucurono) xilana do caule de <i>M. scabrella</i>	56
VIII	Análise de lignina e ácido urônico na <u>0</u> -acetil-(4- <u>0</u> -metil-glucurono) xilana antes e após carbo	

	xi-redução (NaBH_4) e saponificação (NaOH)	62
IX	Efeito da etanolamina alcoólica sobre o ácido urônico e sobre a lignina da <u>O</u> -acetil-(4- <u>O</u> -metil-glucurono) xilana no processo de delignificação do caule de <i>M. scabrella</i>	65

LISTA DE SIGLAS

DMSO	- dimetil sulfóxido
d.i.	- diâmetro interno
EDTA	- ácido etilenodiaminotetraacético
c.p.	- cromatografia em papel
g.l.c.	- cromatografia gás-líquido
G.P.	- grau de polimerização
NaBH ₄	- boroidreto de sódio
NaIO ₄	- m-periodato de sódio
R _{xil}	- mobilidade relativa à xilose
T	- tempo de retenção
U.V.	- ultra violeta
v	- volume
Frações I	- <u>O</u> -acetil-xilanas obtidas por extração com <u>ben</u> zeno-etanol em Soxhlet, EDTA e oxalato de <u>amô</u> nio, Cl ₂ , etanolamina em etanol fervente e DMSO. Sendo: B ₆ M-I amostra correspondente a uma árvore de 6 meses. B ₅ t-I amostra correspondente ao topo de uma árvore com 5 anos B ₅ m-I amostra correspondente ao meio de uma árvore com 5 anos.

B₅b-I amostra correspondente à base de uma árvore com 5 anos.

Frações II - O-acetil-xilanas obtidas por extração com benzeno-etanol à 28°C, Cl₂, etanol à temperatura ambiente, DMSO. Sendo:

B₆M-II amostra correspondente à uma árvore de 6 meses.

B₅t-II amostra correspondente ao topo de uma árvore com 5 anos.

B₅m-II amostra correspondente ao meio de uma árvore com 5 anos.

B₅b-II amostra correspondente à base de uma árvore com 5 anos.

RESUMO

O caule de *Mimosa scabrella* foi escolhido como modelo para estudo de substituintes na O-acetil (4-O-metil-glucurono) xilana de madeiras duras em diferentes idades.

As O-acetil xilanas foram obtidas por dois processos diferentes, sendo que o método convencional utilizou delipidificação em Soxhlet, depectinização a 50°C, delignificação com Cl₂ a 50°C, extração da clorolignina com etanolamina alcoólica fervente e DMSO. No método suave, as amostras foram delipidificadas a temperatura ambiente, cloradas a 50°C, a clorolignina extraída com etanol a 25°C e as hemiceluloses obtidas com DMSO.

Verificou-se que o uso da etanolamina, além de alterar os rendimentos dos polissacarídeos, pode promover a β-eliminação do ácido 4-O-metil-α-D-glucurônico, que está esterificado pela lignina nas O-acetil-(4-O-metilglucurono) xilanas.

No pó de madeira dos caules de *M. scabrella* em diferentes idades, bem como nas respectivas holoceluloses e hemiceluloses, foram determinados os teores de acetil²⁶. Estes, em contradição aos trabalhos de WAITE e GORROD⁸¹ e de JOSELAU⁴⁶, apresentaram um maior teor nos tecidos jovens, que pode ser atribuído a maior necessidade de hidratação destes tecidos.

Através de carboxi-redução do caule de *M. scabrella* com NaBH₄ e saponificação de uma O-acetil xilana do mesmo material com

NaOH , foi possível verificar que ~32% das unidades totais de ácido urônico encontram-se esterificadas pela lignina.

A xilana de *M. scabrella* contém grupos O-acetílicos como substituintes em C-2, C-3 e C-2,3 das unidades de D-xilopiranoses, numa proporção molar, aproximada de 14, 16 e 5% respectivamente^{67, 68}. Estes grupos encontram-se distribuídos ao longo da molécula da xilana em pequenos blocos de duas ou três unidades substituídas em série, ao lado de uma ou duas não substituídas e, também, por uma unidade substituída intercalada por unidades não substituídas.

I - INTRODUÇÃO

As células vegetais estão envolvidas por um agregado organizado de moléculas de celulose, polissacarídeos não celulósicos e lignina, a parede celular. Esta é biologicamente importante por três razões principais: determinar a morfologia e a função da célula, formar o seu envelope limitante e estar diretamente envolvida na regulação da expansão celular^{04,07,36,63,77}.

A estrutura química e física da parede celular varia enormemente de planta para planta e de célula para célula. Existem, contudo, duas características que são comuns a todas as paredes celulares vegetais: elas são quimicamente e fisicamente heterogêneas, pois possuem diferentes componentes e são formadas de camadas distintas^{07,36,63}.

A parede celular recém formada é muito fina, mas torna-se progressivamente mais espessa durante o crescimento da célula, devido à deposição de novas camadas de material na parede celular. Num tecido típico, de uma planta anual ou perene, a parede celular consiste de três camadas distintas: a lamela média, a parede primária e a parede secundária^{04,07,36,77}.

A lamela média forma uma camada intercelular amorfa entre as paredes primárias de células adjacentes e é considerada como sendo o primeiro material depositado pelo citoplasma. A lamela média é uma região da matriz polissacarídica, onde a celu-

lose está ausente. Nos tecidos mais moles das plantas, a lamêla média permanece delignificada, enquanto que, nos tecidos lenhosos, ela torna-se incrustada com lignina^{04,36,77,78}.

A parede primária é uma estrutura flexível, capaz de sofrer alterações no crescimento, alongamento, e espessamento. Durante o crescimento, é composta essencialmente de celulose com algumas substâncias pecticas. Contudo, quando o crescimento cessa ela espessa-se e torna-se consideravelmente lignificada^{04,36,62,77}.

A parede secundária da célula, especialmente das fibras de madeira, consiste de camadas microscopicamente distintas: a externa (S_1), a média (S_2), e a interna (S_3). A camada média é a mais larga das três. As microfibrilas de celulose da parede secundária estão embebidas numa matriz composta primariamente de hemicelulose. A síntese e deposição de substâncias pecticas virtualmente cessa após o início do espessamento secundário. A lignina, contudo, é depositada durante o crescimento da parede secundária, mas nunca constitui mais que 10% da mesma^{04,07,36,63,77,78}.

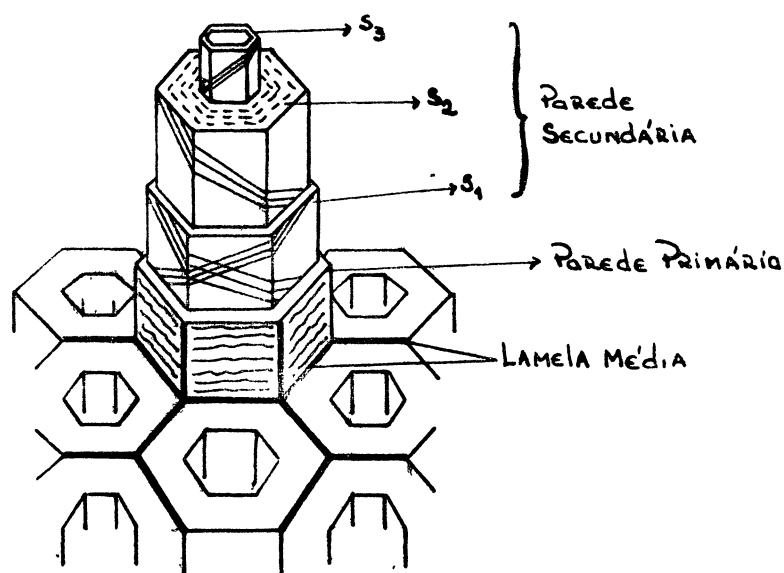


Fig. 1 - Estrutura da parede celular de fibra de madeira⁷⁷.

A celulose, tal como ocorre na madeira, é um polissacarídeo linear, constituído simplesmente de unidades de β -D-glucopiranoses interligadas 1 \rightarrow 4. Está presente na parede celular sob a forma de fibrilas de diâmetro de 35Å, cada qual contendo aproximadamente 40 cadeias de celulose. As moléculas das cadeias são geralmente justapostas de tal maneira a formar cristais lineares ou microfibrilas^{03,04,07,36,63,66,77}.

Muitas das importantes aplicações da celulose podem ser atribuídas à sua alta resistência à degradação química ou enzimática. É necessário aquecimento prolongado em ácido forte, para hidrolisar completamente as ligações glicosídicas deste polímero. A degradação enzimática da celulose em glucose, requer a ação da celulase, que é um complexo enzimático formado por três componentes básicos distintos, que agem sinergisticamente durante o processo hidrolítico; a endoglucanase que origina intermediários oligoméricos a partir da celulose cristalina, a exoglucanase que ataca estes intermediários resultando na formação de celobiose ou celobiose mais glucose e, a celobiase que hidrolisa a celobiose acumulada em glucose^{03,57}.

A celulose é insolúvel em água e, utilizada principalmente na manufatura de produtos também insolúveis, tais como o papel e tecido. Os derivados químicos da celulose, podem ser solúveis em água ou líquidos orgânicos e são empregados em filmes, fibras, lubrificantes, emulsificantes, adesivos, estabilizadores de espuma, etc ...⁸⁷.

As substâncias pecticas são um grupo de polissacarídeos, das paredes das células e das regiões intercelulares das plantas superiores. O termo substâncias pecticas, é comumente usado pa-

ra denominar as pectinas, os ácidos pectícos de-esterificados e seus sais, os pectatos e certos polissacarídeos neutros que perderam suas cadeias de galacturonanas. A característica dominante das pectinas é uma cadeia linear de unidades de ácido D-galacturônico, a qual se encontra esterificada em proporções variadas por grupos metoxilas^{07,28,36,63}.

Pectinas são geralmente heteropolissacarídeos, isto é, são galacturonanas nas quais as cadeias de α -D-galacturonanas ligadas 1 \rightarrow 4, são interrompidas pela inserção de unidades de α -L-rhamnopiranoses. Outros monossacarídeos estão ligados em cadeias laterais, como a D-galactose, L-arabinose, D-xilose, D-glucose e, menos frequentemente, L-fucose e ácido D-glucurônico^{07,36,63}.

Pectinas contendo unidade de metil-galacturonato, são suscetíveis à β -eliminação catalisada por bases, deliberadamente ou inadvertidamente, liberando unidades insaturadas de ácidos 4-deoxi- β -L-threo-hex-4-enopiransidurônico (ou seu metil-éster) e, simultaneamente, grupos redutores^{07,51}.

Uma das propriedades características das substâncias pectícas é a sua habilidade em formar géis. Uma solução aquosa de pectinas, aquecida com açúcar sob condições ácidas (pH 2,0-3,5), solidifica ao esfriar, como uma geléia. Esta é chamada de geléia ácida de pectina-açúcar e é de grande importância na indústria de alimentos³⁶.

Segundo ALBERSHEIM⁰³, "madeira é madeira devido à lignina". Paredes celulares incrustadas com lignina têm as propriedades que são peculiares aos tecidos lenhosos. Vasos condutores e fibras das paredes celulares, que sustentam as plantas, são em

grande parte, celulose lignificada. A lignina não é somente um constituinte característico da madeira, mas é também encontrada em paredes celulares de células jovens em crescimento, tais como aquelas das sementes dos cereais e dos brotos de pinheiros e abetos^{03,07,36,63}.

A lignina é um polímero, que contém um grande número de núcleos aromáticos. A estrutura monomérica desses polímeros é uma unidade de fenilpropano, que apresenta diferentes substituintes no anel aromático e na cadeia lateral. As ligninas de angiospermas e de gimnospermas apresentam diferenças estruturais. Ligninas de gimnospermas produzem vanilina e, de angiospermas produzem vanilina e seringaldeído, quando oxidadas com nitrobenzeno, em meio alcalino³⁶. O polímero da lignina é bastante resistente à degradação química e de difícil acesso à digestão enzimática³⁶.

A lignina está intimamente associada aos carboidratos e foram propostos diferentes tipos de ligações entre estes polímeros: éster entre o grupo carboxílico do ácido urônico e o grupo hidroxílico da lignina; β -D-fenol-glicosídica; acetálica; benzil-éter e benzil-glicosídica. As ligações éster e fenol-glicosídicas são álcalis-sensíveis^{20,42}.

Com relação às ligações éster, estudos foram realizados por DAS e colaboradores²² em fibra de juta, indicando que 34% das unidades de ácido urônico da hemicelulose são esterificadas por lignina. Em fibras de folhas de ananás⁷¹, verificou-se que estas ligações envolvem 28% do ácido urônico.

Mais recentemente, DAS e colaboradores²³, usando o processo de delignificação pelo clorito, seguido por repetidos trata-

mentos com boroidreto, demonstraram que 75% do ácido 4-O-metilglucurônico foram reduzidos a 4-O-metil-glucose na xilana de mesta. Os autores sugerem, ainda, através de análises de curvas de titulação, que 100% das unidades de ácido urônico nestas fibras estão esterificados com a lignina.

O termo hemicelulose é aplicado àqueles polissacarídeos da parede celular das plantas, de baixo peso molecular, os quais ocorrem em associação íntima com a celulose, especialmente em tecidos lignificados e, que podem ser isolados do material original ou delignificado, por extrações com soluções alcalinas^{06, 36, 63, 66, 77, 84, 87}.

As hemiceluloses de plantas terrestres são formadas por um número relativamente limitado de unidades de açúcares, dos quais os principais são: D-xilose, D-manose, D-glucose, D-galactose, L-arabinose, ácido-4-O-metil-D-glucurônico, ácido D-galacturônico, ácido D-glucurônico e, em menor proporção L-rhamnose, L-fucose e vários açúcares neutros O-metilados. Possuem como característica comum, polidiversidade, polimolecularidade e polidispersidade^{06, 36, 63, 66, 77, 84, 87}.

As hemiceluloses de cereais e gramíneas foram amplamente revisadas e se constituem basicamente de xilanas. Estas são heteroglicanas geralmente caracterizadas pela presença de unidades de L-arabinofuranose ligadas como cadeia lateral simples, usualmente na posição 3 da D-xilose, mas em muitos casos, unidades de ácido glucurônico e de ácido 4-O-metil-glucurônico, ou ambos, estão também presentes em menores proporções⁰⁶.

Um grande grupo de galactamananas estão presentes em se

mentos de plantas leguminosas, como carboidratos de reserva, os quais são usados no processo de germinação. Estes polissacarídeos são formados por uma cadeia principal de unidades β -D-manopiranoses ligadas 1 \rightarrow 4, tendo ramificações de unidades simples de α -D-galactopiranoses ligadas 1 \rightarrow 6. Estes polissacarídeos são normalmente comestíveis e alguns são usados na indústria de alimentos como agentes espessantes²⁴.

JONES e colaboradores⁰⁵, estudando polissacarídeos contendo manose, isolaram de sementes de *Iris ochroleuca* e *Iris sibirica*, polissacarídeos heterogêneos que por hidrólise liberavam D-glucose e D-manose em quantidades aproximadamente iguais e também D-galactose (3%). Consideraram inicialmente a possibilidade destes polissacarídeos serem uma mistura de glucomana com galactomanana. Entretanto, em vista da similaridade em composição destes polímeros, concluíram tratar-se de polissacarídeos simples contendo os três açúcares.

Nas paredes celulares vegetais em crescimento aparecem hemiceluloses que formam géis, com funções biológicas importantes, podendo inclusive contribuir para o suprimento dos tecidos vivos com 18,5% dos polissacarídeos degradados durante o crescimento. Isto foi demonstrado determinado-se diariamente os componentes monossacarídicos neutros dos hidrolisados de paredes celulares de grãos de cevada, germinados a 25°C por 6 dias, até que as reservas endospermicas estivessem quase esgotadas. A quantidade de polissacarídeos da parede celular do embrião aumentou 40 vezes e a glucose tornou-se o seu principal componente, seguida em abundância por xilose e arabinose. Os polissacarídeos da camada aleurônica dos grãos, bem como o amido endospermico diminuíram durante a germinação e suas composições alteraram-se.

Este fato sugeriu que estes polissacarídeos têm uma função similar aos de sementes de outras espécies, isto é, são reconhecidos como carboidratos de reserva⁵⁸.

Modificações de polissacarídeos hemicelulósicos de cen-teio em diferentes estágios de maturidade, foram descritos por MORRISON⁵⁹. Há evidências da presença de uma glucana, uma galactoarabinoxilana altamente ramificada e de uma xilana linear. O processo de fracionamento usado (extração com álcali antes e após delignificação), mostrou que a concentração e a composição das diferentes frações polissacarídicas alteraram-se com a maturidade da planta. A galactoarabinoxilana apresentou uma composição similar durante o crescimento, foi considerada homogênea e gradualmente aumentou de concentração durante o crescimento. A xilana linear, que é o polissacarídeo principal, exibiu considerável polidispersibilidade durante o crescimento, na qual a razão xilose: arabinose aumentou consideravelmente com a maturidade, mas sua concentração no tecido da planta, em relação à hemicelulose total, declinou, lentamente com a mesma.

As hemiceluloses de madeira mole (gimnospermas) e de madeira dura (angiospermas) não são iguais. Nas angiospermas, a hemicelulose é predominantemente uma O-acetil-(4-O-metil-glucurono) xilana, acompanhada de pequenas proporções de uma glucomanana. A principal hemicelulose de madeira mole é uma O-acetil-galactomanana, em diferentes variações estruturais. As gimnospermas contêm mais lignina do que as madeiras duras e suas hemiceluloses possuem menor quantidade de grupos O-acetílicos que as angiospermas^{06,07,15,16,66,77}.

As hemiceluloses têm um grande poder hidratante, isto

é, devido à ausência de cristalinidade, baixo peso molecular e configuração irregular, as hemiceluloses absorvem água facilmente.

As hemiceluloses não são usadas somente como polímeros. Sem dúvida, seu principal uso no futuro será como matéria-prima para produção de compostos químicos primários, tais como furfural, ácido levulínico, ácido fórmico, metanol, xilitol, uma variedade de glicóis e ácidos glicônicos⁸⁷.

Em termos mundiais, o furfural e seus derivados geram grande interesse e têm inúmeros empregos. Este interesse incrementou-se nos anos recentes, uma vez que a crise do petróleo ressucitou a procura das tecnologias baseadas nas matérias-primas renováveis, ou seja, aquelas utilizando a biomassa.

A tecnologia do furfural é relativamente simples, no que diz respeito às reações químicas, envolvendo um único reator. A matéria-prima (casca de aveia, sabugo de milho, bagaço de cana, casca de arroz, serragens, etc. ...), que contendo alto teor de pentosanas (hemiceluloses), fornece o furfural pelo processo de hidrólise ácida deste material hemicelulósico, liberando pentoses, que pela ciclização e concomitante desidratação, formam o furfural.

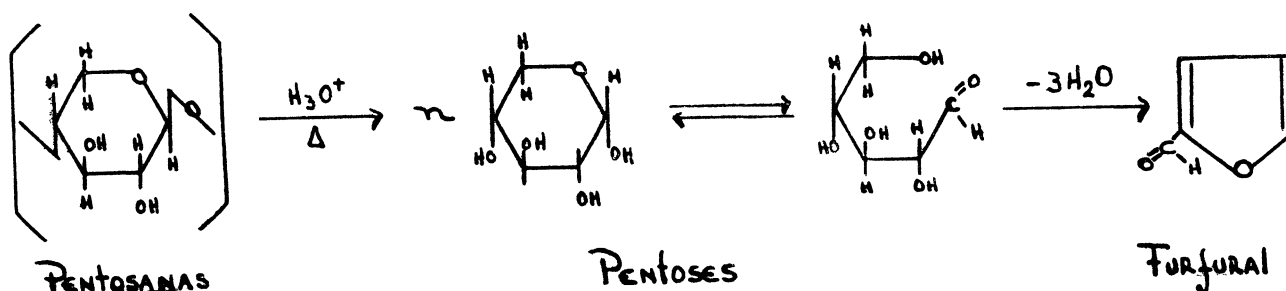


Fig. 2 - Hidrólise de pentosanas com formação de furfural.

Algumas das principais aplicações do furfural são:

- Refinação dos óleos lubrificantes, pela sua capacidade de dissolver seletivamente os componentes insaturados polares e coloridos, os quais são quimicamente mais reativos, sofrendo fácil, decomposição e/ou polimerização, deixando assim o refinado mais rico em compostos saturados, bem mais estáveis, nas condições de uso.

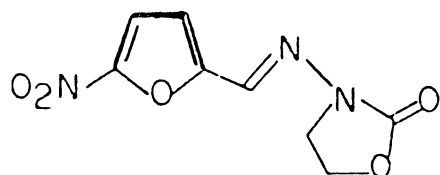
- Separação dos óleos vegetais e animais em frações de acordo com o grau de insaturação.

- Na comercialização de resinas de madeira é usado como descolorante e também funciona como solvente seletivo na industrialização de negro-de-fumo e de diversos outros produtos cuja preparação requeira a extração dos componentes insaturados, polares e coloridos; como solvente e extrator seletivo, os seus concorrentes mais importantes são a acetona, acetonitrila, dimetilformamida e N-metil-pirrolidina.

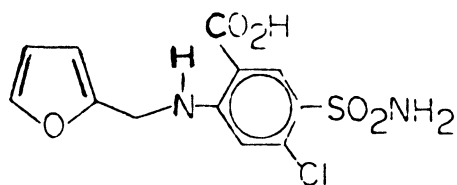
- Outro importante uso do furfural encontra-se na indústria de resinas fenólicas, aglutinantes e vernizes, onde seu emprego confere aos produtos maior resistência aos ácidos e à umidade.

- Um dos usos mais nobres do furfural destina-se à preparação de produtos farmacêuticos. Têm-se comercializado diversos medicamentos à base de nitro furfural e outros derivados (FIG. 3).

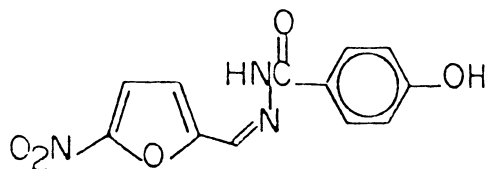
- No entanto, a maior parte do furfural é consumida na produção do álcool furfurílico, álcool tetraidrofurfurílico, furano e tetraidrofurano, que por sua vez têm inúmeros empregos como solventes, dispersantes, umectantes, aglutinantes, ingredientes de diversas resinas e, especialmente matéria-prima para resinas furânicas⁵⁶.



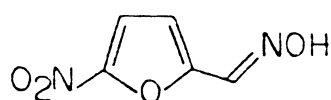
Furazolidona, 4151
Antiinfecioso e antiprotozoário
tópico, Antimicrobial (vet)



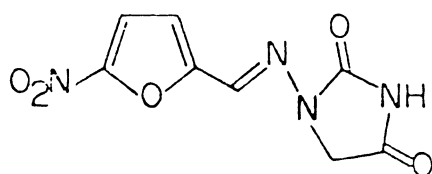
Furosemida, 4161
(Lasix); Diurético,
Anti hipertensivo



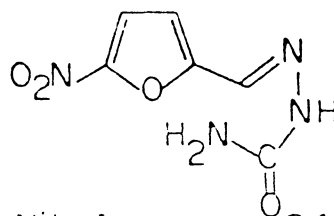
Nifuroxazida, 6359
Antibacterial.



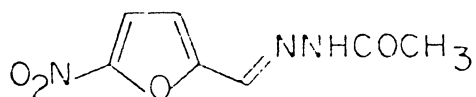
Nifuroxima, 6360
Antiinfecioso e Anti-
protozoário tópico.



Nitrofurantoina, 6421
Antibacterial urinário e
veterinário



Nitrofurazona, 6422
Antiinfecioso tópico,
Antimicrobial (vet)



Nihidrazona, 6365
Antibacterial e antiprotozoário (vet)

Fig. 3 - Medicamentos derivados de furfural (nome, código numérico e categoria terapêutica referem-se ao Índice Merck⁸⁸).

Entre as hemiceluloses as xilanas são as mais abundantes. Ocorrem em quase todas as plantas, sendo um dos componentes principais da parede secundária. Madeiras duras contêm de 20 a 25% de xilana, enquanto madeiras moles contêm de 7 a 12%^{63,82}.

A estrutura geral das xilanas, em plantas superiores, compreende uma cadeia principal com unidades de D-xilopiranoses unidas por ligações β -(1 \rightarrow 4). São moléculas com grau de polimerização entre 150 - 200. Ligadas à cadeia principal estão pequenas cadeias laterais. Estas podem ser de três tipos: a) unidades de ácido (4-O-metil) α -D-glucopiranosilurônico, frequentemente ligadas por ligações 1 \rightarrow 2 à unidades de xilose da cadeia principal; b) unidades simples de L-arabinofuranose frequentemente unidas por ligações 1 \rightarrow 3; c) cadeias laterais mais extensas nas quais as unidades de L-arabinofuranose carregam substituintes adicionais^{06,07,08,18,63,64,77,82}. Xilanas típicas de gimnospermas contêm maiores proporções de unidades de ácido 4-O-metil-D-glucurônico (15 - 20%) e, várias cadeias laterais de L-arabinofuranose. As xilanas típicas de angiospermas contêm menos unidades de ácidos 4-O-metil-D-glucurônico (8 - 15%), as quais estão distribuídas por acaso ao longo da cadeia principal e, raramente contêm unidades de L-arabinose^{06,07,63}.

Um importante grupo de xilanas, notadamente as 4-O-metilglucuronoxilanas, que constituem de 18 a 25% das madeiras duras, ocorrem na forma parcialmente acetilada. Algumas destas xilanas, podem conter de 7 a 9 grupos O-acetílicos por 10 unidades de xilose^{06,07,75}. Estudos sobre a localização dos grupos O-acetílicos nas unidades de D-xilopiranoses foram realizados por Lindberg, Bouveng, Garegg e Timell^{16,17,18,33,53,76}. Estes autores encontraram predominância de acetilação na posição C-3, como também substi-

tuição em C-2 e simultaneamente em C-2 e C-3. Alguns trabalhos sobre a localização de grupos O-acetílicos envolveram o uso de reagentes que agem como protetores dos grupos hidroxílicos. Entre eles estão o método de BOUVENG¹⁶ que protege os grupos hidroxila com grupos fenilcarbamoil, o método de Bouveng modificado por CORRÊA e colaboradores⁶⁵, onde a desacetilação acídica foi substituída por desacetilação e metilação simultânea e, o método de deBELDER e NORRMAN¹², que emprega metil vinil éter como grupo protetor. O último método é o que tem - se apresentado mais inconveniente, pois é quantitativamente deficiente, isto é, a proteção dos grupos hidroxilas é parcial, requerendo separação das frações totalmente acetiladas por gel-permeação. Foi utilizado para localizar grupos O-acetílicos em xilana de bétula, por LINDBERG e colaboradores⁵⁴, onde os produtos na forma de metilglicosídeos apresentaram proporções entre as unidades de D-xilose não acetiladas e aquelas acetiladas nas posições C-2, C-3 e C-2, 3 respectivamente de 44: 24: 22: 10.

Em trabalho recente com caule de *M.scabrella*, REICHER e colaboradores⁶⁸, usando metodologia de obtenção de O-acetil xilanas que não implica em desacetilação ou migração dos grupos O-acetílicos, eliminando a etapa de delignificação que envolve o uso de etanolamina alcalina, localizaram os grupos O-acetílicos, que na xilana nativa de *M.scabrella*, estão distribuídos nas posições C-2, C-3 e C-2,3 (14:16:5 respectivamente).

As glucanas das madeiras moles também são parcialmente acetiladas, porém contêm menos grupos O-acetílicos do que as glucuronoxilanas de madeiras duras^{06,07,66,77}.

Uma O-acetil-glucomanana foi obtida por extração com DMSO de uma holocelulose clorada de pinheiro do Paraná, conten

do galactose, glucose e manose em proporção de 0,34: 1: 3,8. Os grupos O-acetílicos, quantificados em 5,86%, foram localizados por uma série de reações de bloqueio e substituições, nas quais os grupos O-acetílicos foram substituídos por grupos metílicos, usando o método de BOUVENG¹⁶. Os únicos açúcares metilados encontrados na O-metil-glucomanana, foram o 3-O-metil-D-glucose (6,4%) e o 3-O-metil-D-manose (15,6%). O efeito dos grupos O-acetílicos nas propriedades físicas da O-acetilglucomanana foi estudado por microscopia de polarização, difração de raio-X e microscopia eletrônica. Os resultados indicaram que os grupos O-acetílicos aumentavam a solubilidade em água e estavam efetivamente impedindo a orientação molecular e subsequente desenvolvimento de ordem lateral na O-acetil-glucomanana⁴⁸.

Grupos substituintes nos monossacarídeos neutros podem ter funções específicas. Assim, foi demonstrado que os grupos O-acetílicos e carboxílicos são importantes determinantes na especificidade antigênica de polissacarídeos¹⁰.

A estrutura básica dos polissacarídeos extracelulares de *Rhizobium leguminosarum* e *Rhizobium trifolii* é idêntica, porém, seu padrão de acetilação difere. Como substituintes acetílicos podem ser muito importantes no processo de reconhecimento, KUO e MORT⁵³, degradaram os dois polissacarídeos de *Rhizobia*, com HF líquido a -40°C, numa série de oligossacarídeos que representavam as unidades repetitivas dos polissacarídeos e seus homólogos superiores. A -23°C, obtiveram uma mistura de oligossacarídeos, dos quais um tetrassacarídeo consistia a unidade da cadeia principal do polissacarídeo e, um trissacarídeo representando a cadeia lateral com excessão dos terminais não-redutores. A localização e identificação dos substituintes acetílicos foram deter

minadas por espectroscopia de massa por bombardeamento atômico rápido. Todas as cepas de *Rhizobia* testadas continham substituintes acetílicos em C-3, de unidades (1 → 4) β-D-glucopiranoses na cadeia central do polissacarídeo. Somente os polissacarídeos de *R. leguminosarum* continham uma combinação de grupos O-acetílicos em C-2 e C-3 no açúcar ramificado do polímero. Foi sugerido então, que os polissacarídeos extracelulares de *Rhizobia*, contendo grupos O-acetílicos, podem desempenhar um papel na especificidade da infecção de legumes por *Rhizobia*.

Grupos O-acetílicos foram detectados por espectroscopia de infra-vermelho e, suas presenças confirmadas quimicamente, em preparações de parede celular de gramíneas e de plantas superiores. As quantidades presentes são suficientes para influenciar o estado físico dos polissacarídeos da parede celular e também a sua digestão por enzimas⁰⁸.

Uma grande classe de glicanas, essencialmente homopolímeros como glucanas, mananas e glucomananas e também glicanas altamente complexas como gomas, hemiceluloses e lipopolissacarídeos de bactérias, parecem possuir uma atividade antitumor. Hemiceluloses de bambu, de bagaço de cana, de pês de arroz, pês de milho e de palha de trigo, causam regressão do Sarcoma 180 de ratos, mas não de tumor de peritônio. A importância de grupos acetílicos para a atividade de certos polissacarídeos de bactérias e, especialmente para aqueles com especificidade imunológica, têm sido estabelecida. Além de aumentarem a solubilidade, os grupos acetílicos podem alterar significativamente a conformação molecular⁸³.

O ácido algínico é um constituinte universal das algas

pardas. Ocorre também em bactérias tais como *Azotobacter vinelandii* e em algumas cepas de *Pseudomonas*. Ambas, alga e bactéria, produzem como exopolissacarídeos um co-polímero de ácido β -D-manurônico e ácido α -L-gulurônico ligados (1 \rightarrow 4). A diferença mais notável entre o alginato de alga e o de bactéria, é a presença de várias porções de grupos O-acetílicos no polissacarídeo da bactéria. Estes grupos estão associados com as regiões ricas em ácido manurônico do polímero, e a sua função é proteger as unidades de ácido manurônico de converter-se em ácido gulurônico pela manuronana C-5 epimerase. Para investigar este papel protetor dos grupos O-acetílicos o alginato bacteriano foi tratado, antes e após desacetilação, com uma epimerase altamente purificada. Sugeriu-se então, que a acetilação do alginato é um processo intracelular, que fornece ao organismo um mecanismo para controlar o grau de epimerização do polissacarídeo exocelular e, assim, conservar suas propriedades físicas, tais como, ligação iônica e formação de gel⁷³.

O sistema complementar desempenha um papel importante na defesa do hospedeiro, inflamação ou reações alérgicas e, sua ativação ocorre tanto pela via clássica como pela via alternativa. A primeira é ativada por um complexo imunológico, contendo anticorpos, proteínas C-reativas e RNA viral. A via alternativa não necessita de anticorpos e é diretamente ativada por polissacarídeos, certas imunoglobulinas, vírus, fungos, bactérias, certas células animais e parasitas. O denominador comum desses ativadores ainda é desconhecido, embora carboidratos tenham sido encontrados como constituintes da maioria deles. A fim de esclarecer a relação entre a estrutura química do polissacarídeo e sua atividade anti-complementar, YAMADA e colaboradores⁹⁰, investiga

ram 17 polissacarídeos solúveis em água, obtidos de várias plantas. Atividade considerável foi observada para uma arabana extraída da fruta seca de *Zizyphus jujuba*, para uma paniculatana (polissacarídeo altamente ramificado, parcialmente acetilado, ácido mucoso, constituído essencialmente de ácidos 4-O-metil- α -D-glucurônico e de β -D-galacturônico) extraído da casca interna de *Hydrangea paniculata* e, para uma Plantago-mucilage A (uma xilana altamente ramificada, parcialmente acetilada e ácido mucosa), extraída da semente de *Plantago asiática*. Os resultados dos testes de titulação C-4, atividade anti-complementar na ausência da Ca^{++} , imunoeletroforese cruzada e atividade da via alternativa usando eritrócitos de coelho, indicaram que o modo de ativação complementar da paniculatana ocorre principalmente pela via clássica, enquanto que a ativação pela *Zizyphus*-arabana e *Plantago*-mucilage A, ocorre em ambas as vias, clássicas e alternativa.

Em experimentos realizados por TRAVASSOS⁷⁹, com hemicelulose A de *Mimosa scabrella*, verificou-se que esta também apresentou atividade anti-complementar.

WAITE e GORROD⁸¹ determinaram a concentração de O-acetil em holoceluloses de gramíneas e concluíram que o grau de acetilação aumenta com a maturidade da grama, podendo atingir 2,7% da matéria seca. Os mesmos autores verificaram que ocorre também uma queda na digestibilidade da grama com a maturação e, através de uma série de considerações, sugerem que o grau de acetilação contribuiu para tal fato. Esses referidos autores verificaram estes fatos estudando a composição química de carboidratos estruturais de uma espécie de grama anual e de 4 espécies de gramas perenes, cortadas em 4 estágios diferentes de crescimento. Com o aumento

da idade das gramas, os conteúdos de xilana, glucana celulósica, acetil e de ácidos urônicos aumentaram.

Em trabalho realizado com caule de *A. donax*, foram estudadas modificações das paredes celulares durante a maturação. A estrutura da principal hemicelulose, uma arabino-glucurono-xilana, permanece a mesma, apesar da idade dos tecidos, havendo aumento do GP médio. Foi constatado também, que o número de grupos O-acetílicos na cadeia da D-xilana, aumentou com a maturação⁴⁶.

Observou-se que xilanas acetiladas artificialmente, com o mesmo grau de substituição das naturais, são pouco solúveis ou completamente insolúveis em água. Isto indica que, não são a posição mas, também a distribuição dos grupos O-acetílicos na molécula de xilana, são importantes na conformação e, consequentemente na solubilidade destes polímeros⁶⁷.

A degradação enzimática de acetil xilanas é de grande interesse para se entender a decomposição microbiana de lignoceluloses e também por razões tecnológicas. Tratamento da madeira com aquecimento à 200°C, pode ser usado como passo inicial na separação da celulose de outros componentes e produz uma fração hemicelulósica solúvel constituída de xilana. Esta fração é um substrato potencial para a conversão microbiológica de hemiceluloses em combustíveis químicos. Usando este método de extração de hemiceluloses, BIELEY e colaboradores¹³ obtiveram uma xilana acetilada de bétula, contendo 60% de unidades de D-xilose e 10% de grupos O-acetílicos, em peso. A presença de unidades de xilose acetilada em hemiceluloses de bétula foi também evidenciada por cromatografia de camada delgada bidimensional, nos produtos de digestão deste polissacarídeo com xilanase parcialmente purifica-

da, de *Schizophyllum commune*. Os cromatogramas, após correrem em um sentido e revelados para açúcares redutores, mostraram a presença de xilose, xilobiose e xilotriose bem como, de vários compostos com mobilidades diferentes dos 1,4- β -xilooligossacarídeos. Estes componentes continham grupos acetílicos, como mostrado pelas mudanças em suas mobilidades na cromatografia na segunda direção, após desacetilação com vapor de amônia. Vários dos componentes foram convertidos aos mesmos xilooligossacarídeos de mesmos comprimentos de cadeia, mas que diferiam no número de grupos acetílicos. Os resultados indicam somente que as frações obtidas contêm xilooligossacarídeos acetilados e, não que a enzima pode quebrar as ligações entre 2 unidades de açúcares adjacentes, contendo grupos acetílicos. Portanto, o sítio de quebra de ligação e a localização dos grupos O-acetílicos nos oligômeros produzidos, são ainda desconhecidos¹³.

Nos anos recentes, têm havido um grande progresso na compreensão das estruturas e das interconecções dos componentes da parede celular vegetal. Como as estruturas dos polímeros da parede celular têm-se tornado mais conhecidas, estudos bio sintéticos revelaram-se possíveis e significativos.

A síntese das porções carboidratadas destes componentes da parede celular, envolve a transferência de açúcares dos derivados açúcar-nucleotídeo para as cadeias crescentes dos polissacarídeos. Os vários açúcares-nucleotídeos podem ser sintetizados a partir de um açúcar comum, a glucose. Os açúcares-nucleotídeos precursores podem ser: ADP-glucose, GDP-glucose, UDP-glucose, UDP-galactose, GDP-manose, UDP-N-acetilglucosamina, UDP-ácido glucurônico, UDP-ácido galacturônico, UDP-arabinose e UDP-rhamnose. Estes, naturalmente, representam formas ativadas, ou de alta

energia dos açúcares, a partir dos quais, ocorre a transferência para os polímeros^{03,28,47,49}.

A formação dos açúcares-nucleotídeos e dos diferentes polímeros, que posteriormente irão ser sintetizados na parede celular, estão resumidos na figura 4^{03,28}.

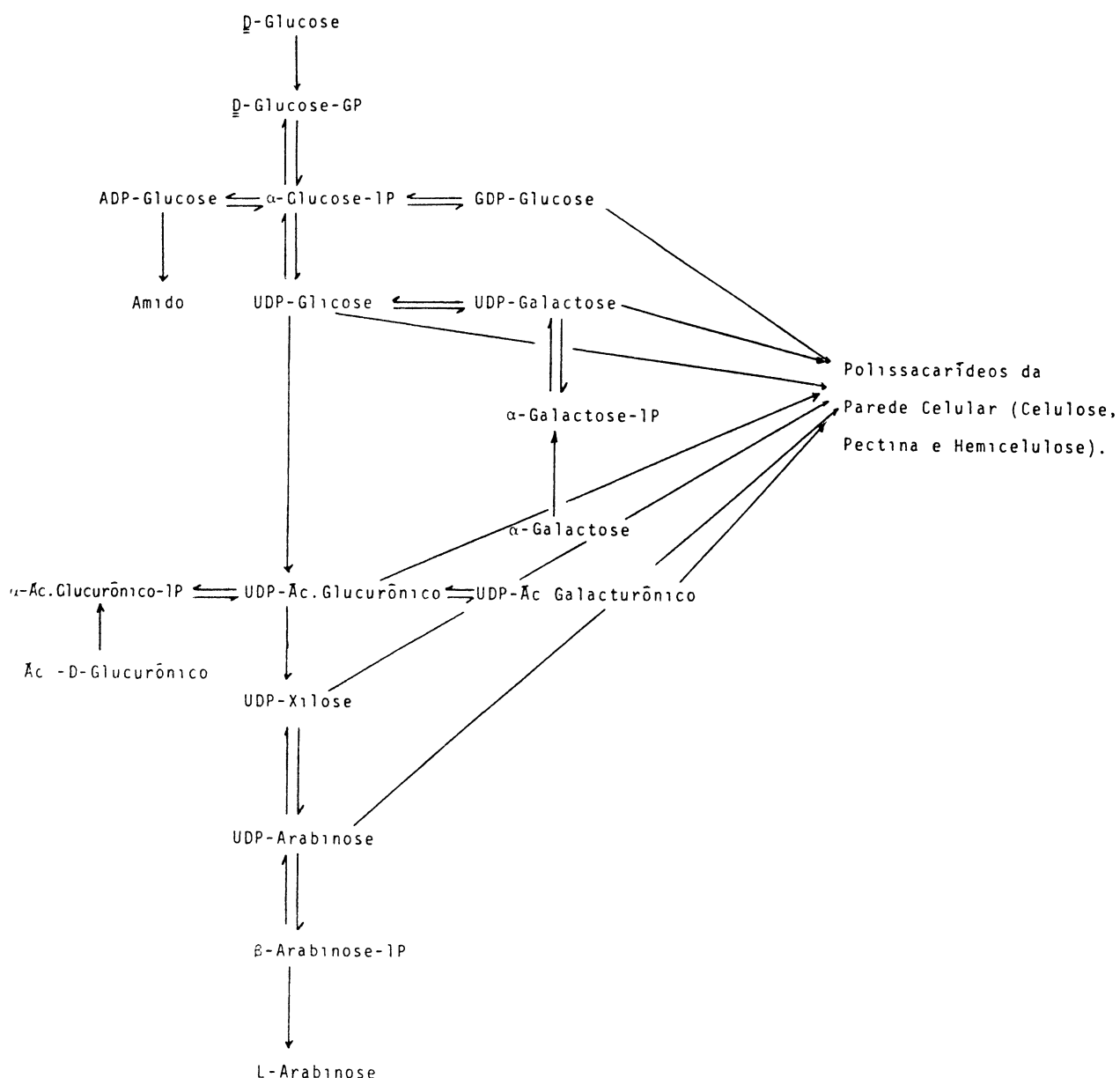


Fig.4 - Síntese dos vários açúcares-nucleotídeos que agem como precursores dos polissacarídeos da parede celular vegetal²⁸.

Estudos sobre a biossíntese de hemicelulose têm envolvido incubações de açúcares-nucleotídeos radioativos com frações de membrana de várias plantas e, então, os produtos radioativos isolados são caracterizados. A glucose tem sido encontrada como sendo melhor precursor do que qualquer outro açúcar, na biossíntese da celulose e das xilanas. A distribuição do ^{14}C nos produtos, sugere que a rota principal para a síntese das unidades de xilose nas xilanas, é a remoção do C-6 da hexose na forma de ácido glucurônico e que pentoses são convertidas em xilanas somente através de uma hexose intermediária^{28,47,59,60}.

Os ácidos urônicos encontrados nas hemiceluloses podem estar metilados. Estudos detalhados, demonstraram que a metilação destes, ocorre pela transferência de grupos metílicos da S-adenosil-metionina (SAM), diretamente para o polímero de ácido urônico^{28,49}.

Já os grupos acetílicos, podem ser incorporados provavelmente, a partir da acetil Co-A e diretamente ao polímero em vez de o fazerem ao açúcar-nucleotídeo. Porém, não se têm feito estudos suficientes nos sistemas de acetilação, para determinar seus mecanismos de incorporação^{19,28}.

O papel dos grupos acetato na parede celular dos vegetais ainda não está claro. Tem-se sugerido⁵², que eles têm a função de diminuir a capacidade de hidratação da xilana, o que poderia diminuir consideravelmente a força de tensão do tecido lenhoso. Isto parece duvidoso, devido ao fato de que a presença de grupos O-acetílicos aumenta, em vez de diminuir, o caráter hidrofílico do polissacarídeo, em xilanas nativas de madeiras duras⁷⁵. Portanto, qualquer que seja o papel dos grupos O-acetílicos em

madeira, a sua presença merece atenção, já que hemiceluloses, preponderantemente carregam estes grupos, seja nas gimnospermas, sob a forma de glucomananas, seja nas angiospermas, sob forma de xilanas⁷⁷.

CORREIA e colaboradores^{25,34,35,64,65,67,68,91}, vêm há muitos anos estudando as hemiceluloses do caule de *Mimosa scabrella*, conhecida popularmente por bracatinga. É uma angiosperma arborecente que ocorre nas zonas temperadas do sul do Brasil. Pelo fato de ser uma espécie de crescimento rápido, alcançando 15m de altura em 4-6 anos, é utilizada para reflorestamento, regeneração do solo, combate à erosão, produção de lenha de alto teor calorífico, fabricação de celulose de fibra curta e de carvão ativo^{11,21,43,44}.

A hemicelulose A do caule de *Mimosa scabrella* contém unidades de D-xilose e de ácido 4-O-metil-D-glucurônico. Dados obtidos após a degradação de Smith e metilação, indicaram que a hemicelulose A da bracatinga consiste de uma cadeia principal de unidades de D-xilopiranosídeos unidas por ligações $\beta(1 \rightarrow 4)$ e, de cadeias laterais de ácido 4-O-metil-D-glucurônico ligados na posição 2. A estrutura ramificada foi também identificada pela degradação de Smith e metilação dos oligossacarídeos obtidos por hidrólise enzimática da hemicelulose^{34,35}. A hemicelulose A também apresentou alguns indícios de ligação com a lignina⁹¹.

A hemicelulose B do caule de *Mimosa scabrella* é composta de uma 4-O-metil-glucurono-xilana, uma glucomanana e, em menor quantidade, uma fração polissacarídica relacionada a material pectico na proporção de 4,0, 6,0 e 3,0% respectivamente, em relação às hemiceluloses totais²⁵.

Uma hemicelulose com estrutura semelhante à hemicelulose

A, foi obtida do caule delignificado de *Mimosa scabrella*, por extração com DMSO, tratando-se de uma xilana acetilada. Uma tentativa de localização dos grupos O-acetilícos neste polissacarídeo foi realizada pela técnica de BOUVENG¹⁶, porém, devido à dificuldade na separação dos derivados 2-O e 3-O metil-xilosídeos, os resultados não foram conclusivos⁶⁴.

Usando-se o método de BOUVENG modificado por CORRÊA e colaboradores⁶⁵, os grupos O-acetílicos na xilana nativa de *Mimosa scabrella* foram localizados, estando distribuídos em proporções aproximadamente iguais entre C-2 e C-3 das unidades D-xilopiranoses (14 e 16% respectivamente), havendo 5% de unidades di-acetiladas e 65% não substituídas por grupos O-acetilícos. Os derivados 2-O e 3-O metil-xilitóis foram separados usando-se coluna capilar contendo DB-210^{67, 68}.

Ficou também comprovada a presença de lignina nas frações hemicelulósicas de *M. scabrella*. As ligações que existem entre a xilana e a lignina podem ser interações secundárias (pontes de hidrogênio); ligação éter, que é um tipo de ligação relativamente resistente a álcalis e a ácidos e, que foi determinada em produtos resultantes da degradação de Smith, denominados LXC; e ligações éster, envolvendo a lignina e o grupo carboxila do ácido 4-O-metil glucurônico da O-acetil xilana numa proporção de 15%⁶⁷.

Os estudos estruturais das hemiceluloses de *M. braccattinga* e o conhecimento de suas características peculiares têm servido de base para o estabelecimento de novas metodologias visando a sua utilização em processos biotecnológicos. Deste modo, estes polímeros servem como fonte de carbono para o crescimento de vários fungos. Assim sendo, o *Dactylium dendroides* e o

Fusarium oxysporum^{29,30}, quando cultivados em meio contendo hemicelulose A de bracatinga, secretam um sistema de enzimas xilanolíticas, que apresentam especificidade para xilanas acídicas.

Além das degradações enzimáticas, hidrólises químicas não convencionais estão sendo desenvolvidas por FONTANA e colaboradores³¹ no estudo de aproveitamento da fitobiomassa. Utilizando-se de ácido fosfórico, determinou-se, através de estudos cinéticos, as condições ótimas de concentração, temperatura e pressão para a liberação de pentoses de resíduos agrícolas e de serragem de madeira. A vantagem do catalisador escolhido reside no fato do mesmo ser aproveitado como fonte de fosfato no processo fermentativo.

Dando continuidade aos estudos estruturais do complexo hemicelulósico de *Mimosa scabrella*, o presente trabalho visa a a bordar os seguintes aspectos:

- 1 - Estudo das hemiceluloses nativas, através de análise dos caules em diferentes estágios de crescimento.
- 2 - Estudo evolutivo do teor de grupos substituintes (0-acetil, ácido urônico e lignina) nas 0-acetil-xilanas nativas de madeiras duras, com a maturidade.
- 3 - Análise das ligações éster entre a 0-acetil-(4-0-metil-glucurono) xilana e a lignina.
- 4 - Modificações causadas na estrutura nativa das hemiceluloses, por influência dos métodos de extração.
- 5 - Distribuição dos grupos 0-acetílicos na molécula da 0-acetil-(4-0-metil-glucururono) xilana.

II - MATERIAIS E MÉTODOS

II.1 - Métodos Gerais

Foram empregados reagentes e solventes P.A. . Todas as e vaporações foram realizadas ã vácuo, ã temperatura de 40 - 50°C.

As análises cromatográficas em papel (cp), foram realizadas pela técnica ascendente, utilizando-se papel Whatman: n^o 1 para testes qualitativos e, Whatman: n^o 3 para separação de açúcares em escala preparativa. O sistema de solvente utilizado foi o benzeno-n-butanol-piridina-ãgua (1:5:3:3 v/v, fase superior). Os cromatogramas foram revelados com nitrato de prata em meio alcalino⁴⁵ .

As análises por g.l.c. foram realizadas em cromatôgrafo Varian, modelo 2.240, com detector de ionização de chama, utilizando-se nitrogênio como gás de arraste e as seguintes colunas: a - 3% de ECNSS sobre "gás chrom Q" de 100-120 mesh, em tubo de aço inoxidável de 200 x 0,15 cm (d.i), com detector ã 240°C, câmara de injeção ã 200°C e fluxo de nitrogênio a 37,5 ml/min. b - 3% de OV-225 sobre "gás chrom Q" de 100-120 mesh, em tubo de aço inoxidável de 200 x 0,15cm (d.i.) com detector ã 240°C, câmara de injeção ã 190°C e fluxo de nitrogênio a 40,0 ml/min.

Na análise dos produtos de hidrólise, na forma de acetatos de alditóis, utilizou-se a coluna a 180°C. Para analisar os produtos da degradação de Smith, na forma de acetatos de alditóis, a coluna foi operada com temperatura programada de 120° a 180°C, com uma variação de 2°C/min. A temperatura de operação da coluna OV-225, para analisar os derivados metilados foi de 180°C. Os tempos de retenção (T) dos acetatos de alditóis parcialmente metilados foram referidos ao do 1,5-di-O-acetil-2,3,4,6;tetra-O-metil-D-glucitol. Em todas as análises por g.l.c., as áreas foram calculadas por triangulação⁵⁰.

As determinações espectrofotométricas para a região do visível foram realizadas em aparelho Coleman Jr., modelo 6A.

Os espectros de ultra-violeta foram realizados em espectrofotômetro UV - Vis Varian, modelo 635.

As dosagens de carboidrato total foram realizadas pelo método fenol-ácido sulfúrico²⁷, com leituras a 480 nm para pentoses e 490 nm para hexoses, utilizando-se como padrões, soluções de D-xilose ou de D-glucose a 40µg/ml. Açúcares redutores foram determinados pelo método de SOMOGYI⁷⁴ e NELSON⁶²; ácidos urônicos pelo método de BITTER e MUIR¹⁴, usando-se ácido D-glucurônico como padrão (33,16µg/ml); O-acetil pelo método HESTRIN²⁶, utilizando-se um padrão de D-galactose penta-acetato (5 µmoles/ml); lignina foi determinada conforme ADAMS⁰¹ ou pelo método de BARLEV⁰⁹, que consiste no seguinte: as amostras foram cuidadosamente pesadas e tratadas com solução de NaOH (5ml), durante 2 horas, em estufa a 110°C, com agitação ocasional. Após esfriar, o volume foi completado para 10 ml com água destilada. Os tubos foram agitados, centrifugados, o sobrenadante apropriadamente diluído e sua absorbância determinada a 280 nm, em relação a um

padrão de álcool coniferílico (10 µg/ml) ou de ácido ferrúlico (20 µg/ml).

II.2 - Hidrólises Ácidas⁷¹

a - Hidrólise Total - As hidrólises totais foram feitas em tubos de vidro selados, utilizando-se ácido trifluor-acético (TFA) 1M ou 2M, durante 5 horas em banho de água fervente ou, com ácido sulfúrico (H₂SO₄) 72%, a frio durante 2 horas (pré-hidrólise), seguida de diluição para 8% e hidrólise durante 5 horas, em banho de água fervente⁷¹.

b - Hidrólise Parcial - As hidrólises parciais foram feitas em tubos de vidro selados, usando-se ácido sulfúrico em pH 2,0 durante 40 minutos em banho de água fervente⁰².

O excesso de ácido trifluoracético foi removido por sucessivas evaporações à vácuo, das soluções hidrolisadas.

O excesso de ácido sulfúrico foi neutralizado com carbonato de bário até pH 4,5 - 5,0 e, o material insolúvel formado foi separado por filtração. O filtrado foi tratado com resinas trocadoras de íons, Dowex 50w - X8, forma H⁺ (200 - 400 mesh) e em seguida com Amberlite IRA - 400, forma OH⁻.

II.3 - Redução e Acetilação dos Produtos das Hidrólises Ácidas

As amostras foram reduzidas com boroidreto de sódio (NaBH₄), à temperatura ambiente por 16 horas e tratadas com resina Dowex 50w - X8, forma H⁺, para eliminar os íons sódio (Na⁺). Após filtrar, as soluções foram concentradas sob pressão reduzida, à

45°C. O ácido bórico foi eliminado por co-destilação com metanol, na forma de borato de metila.

Os alditóis foram submetidos à acetilação, com uma mistura de anidrido acético-piridina 1:1, à temperatura ambiente por 16 horas, quando o processo foi interrompido pela adição de água gelada.

Os açúcares acetilados foram extraídos com clorofórmio. A piridina residual foi eliminada da preparação por tratamentos com CuSO_4 2,5%, sendo que após, a solução clorofórmica foi lavada várias vezes com água destilada.

II.4 - Obtenção das Amostras

Todas as amostras de caule de *Mimosa scabrella* utilizadas, em diferentes estágios de crescimento (6 meses, 2, 5, 8 e 10 anos) e, nas três regiões da árvore, a saber, base meio e topo, foram coletadas no distrito de Lageadinho, município de Monte Castelo, Santa Catarina durante o mês de março de 1985 e classificadas pelo Engenheiro Florestal Hamilton Luiz Romanowski.

As amostras de 6 meses foram obtidas de aproximadamente 45 árvores com altura média de 2,0 m e diâmetro médio de 1,0 cm. Já as amostras de 2 a 10 anos, correspondiam a segmentos de aproximadamente 50 cm que foram retirados da base, meio e topo respectivamente, de uma única árvore para cada ano. Estas árvores tinham uma altura entre 8,0 m e 16,0 m e um diâmetro entre 1,2 cm a 13,0 cm.

Após descascamento e estabilização à temperatura ambiente, as amostras foram moídas em moíno Wiley, com peneiras de 2,0

e 1,0 mm sucessivamente.

II.5 - Extração das O-Acetil Xilanas

As madeiras moídas (30g cada), foram extraídas em soxhlet durante 24 horas, com uma mistura de benzeno-etanol (2:1, v/v)⁰³. Os teores de hemicelulose, celulose, acetil²⁶ e de lignina⁰¹ foram, então determinados (Tabela I). Após a delipidificação, os extratos foram descartados e os resíduos correspondentes às amostras de 6 meses e 5 anos (base, meio e topo), foram secos em capela e submetidos a sucessivas extrações, por 5 horas, em estufa (50°C), com solução de EDTA e oxalato de amônio (0,5%, v/v)⁶³,⁶⁶. Os resíduos foram lavados com água à mesma temperatura e secos ao ar.

Após os tratamentos descritos acima, os resíduos ~30g foram delignificados por uma combinação de métodos descrita por GREEN³⁷, sendo submetidos a três tratamentos com cloro, em água gelada (0 a 5°C), durante 5 minutos. Ao final de cada tratamento os materiais foram filtrados, os resíduos lavados com água e em seguida com álcool. A lignina clorada foi extraída através de tratamentos alternados de etanol fervente, por 5 minutos e de uma solução fervente de etanolamina alcoólica (3%, v/v) também por 5 minutos, repetindo-se todo o tratamento por 3 vezes. Os resíduos finais foram secos ao ar. A remoção da clorolignina foi acompanhada por UV. Foram determinados os teores de acetil nas holoceluloses assim obtidas²⁶.

As holoceluloses (~30g) foram tratadas com DMSO em frasco fechado, à vácuo, em shaker à 28°C, durante uma semana. Após filtração, as hemiceluloses foram precipitadas com etanol (4V). A

fim de favorecer a precipitação, adicionou-se ácido acético diluído ao meio.

Os precipitados, separados por centrifugação, foram dissolvidos em água e centrifugados novamente por 5 minutos a 2.000g. As frações insolúveis (hemiceluloses insolúveis em água) foram assim separadas e os sobrenadantes (hemiceluloses solúveis em água) foram dialisados contra água destilada por 48 horas e reprecipitados por etanol. Os precipitados, correspondentes às hemiceluloses solúveis e insolúveis, foram lavados sucessivamente com etanol e acetona, secos em aparelho de Abderralden e designados de B_{6M}-I, B_{5t}-I, B_{5m}-I e B_{5b}-I, sendo que os seus respectivos rendimentos foram: 1,23%, 1,07%, 1,05% e 6,06% para as hemiceluloses solúveis e 0,29%, 0,36%, 0,31% e 0,23% para as hemiceluloses insolúveis. Nas hemiceluloses, assim obtidas, foram dosados os teores de açúcar total²⁷, acetil²⁶, ácido urônico¹⁴ e de lignina⁰⁹. Nas hemiceluloses insolúveis, também foram determinados os valores de açúcar total²⁷ e de acetil²⁶ (Tabelas IV e V e Figura 5).

Alíquotas das hemiceluloses, solúveis e insolúveis em água, foram hidrolisadas com TFA 1M, reduzidas, acetiladas e analisadas por g.l.c. (coluna a) na forma de acetatos de alditóis (Tabelas II e III).

Em outro experimento, as amostras de caules moídos, também correspondentes às árvores de 6 meses e 5 anos (base, meio e topo), (30g) foram delipidificadas com solução de benzeno-etanol (2:1, v/v), a 28°C, em shaker, 3 vezes (12 horas cada). Os resíduos (30g) foram tratados com cloro, em água gelada, como descrito anteriormente. Para remover a clorolignina, os resíduos foram tratados com etanol 5 vezes (24 horas cada), a temperatura ambien-

te, com agitação. As frações polissacarídicas foram extraídas com DMSO e purificadas conforme previamente descrito. Estas hemiceluloses foram denominadas de B_{6M}-II, B_{5t}-II, B_{5m}-II e B_{5b}-II. Os seus rendimentos foram respectivamente: 0,67%, 0,68, 0,42% e 0,46% para as hemiceluloses solúveis em água e, 0,17%, 0,26%, 0,34% e 0,35% para as hemiceluloses insolúveis, em água. Foram dosados os teores de açúcar total²⁷ e de acetil²⁶ nas holoce-luloses e nas hemiceluloses, solúveis e insolúveis, assim obtidas. Foram também determinados, nas hemiceluloses solúveis, os teores de ácido urônico¹⁴ e de lignina⁰⁹ (Tabelas IV e V e Figura 5).

Alíquotas de hemiceluloses, solúveis e insolúveis, obtidas por este segundo experimento foram igualmente hidrolisadas com TFA 1M e analisadas por g.l.c. (coluna a), como acetatos de alditóis (Tabelas II e III).

II.6 - Oxidação com m-Periodato de Sódio e Degradação de Smith

Amostra de O-acetil xilana (95mg de B_{5b}-I), foi oxidada com solução de m-periodato de sódio (NaIO₄) 0,05M, durante 150 horas, a 28°C e na ausência de luz⁴¹.

Em diferentes intervalos de tempo, foram retiradas alíquotas de 1 ml da solução oxidante, para determinação do consumo de periodato, por titulação com solução padronizada de tiosulfato de sódio 0,005M, usando solução de amido a 1%, como indicador. Nas mesmas condições, foi titulado um controle (branco).

Para o cálculo do consumo de periodato por mol de pento

se anidra foi utilizada a seguinte relação:

$$x = \frac{(B - A) \cdot M_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \cdot V \text{ solução oxidante} \cdot 132}{\text{ml da alíquota titulada} \cdot \text{mg do polissacarídeo}}$$

onde:

x = moles de IO_4^- consumidos por mol de pentose anidra.

B = ml de tiosulfato de sódio gasto na titulação do branco.

A = ml de tiosulfato de sódio gasto na titulação da amostra.

Usando-se o consumo de periodato, expresso em moles de m -periodato de sódio consumido por mol de pentose anidra em diferentes intervalos de tempo, obteve-se um gráfico em que, o valor real da quantidade de periodato requerida para a oxidação completa do polissacarídeo, foi obtida pela extrapolação da curva para o tempo zero (Figura 6).

O excesso de agente oxidante foi destruído pela adição de etileno-glicol (1 ml). A solução remanescente da oxidação foi dialisada contra água corrente por 24 horas, reduzida com NaBH_4 , novamente dialisada e evaporada. Uma alíquota foi hidrolisada com TFA 1M, reduzida, acetilada e analisada por g.l.c. (coluna a), na forma de acetatos de alditóis.

II.7 - Degradação Controlada de Smith da O-Acetil Xilana

Uma amostra de O-acetil xilana (95 mg - B_{5b}^{-1}) foi oxidada com m -periodato de sódio, conforme descrito anteriormente. A fração não dialisável, isto é, o polissacarídeo na forma de poli_{ol}, foi evaporada a um pequeno volume e parcialmente hidrolisada em pH 2,0 (pH ajustado com H_2SO_4), à temperatura de 100°C, durante 40 minutos⁰². Após a hidrólise ácida parcial, o meio

ácido foi neutralizado com carbonato de bário e filtrado. O filtrado límpido foi tratado com as resinas Dowex 50W - X8 (forma H^+), depois com Amberlite IRA 400 (forma OH^-), filtrado e evaporado a um pequeno volume, para ser analisado por cromatografia em papel. No cromatograma foi evidenciado a presença de 4 produtos da degradação de Smith controlada, denominados de produtos 1, 2, 3, e 4 com os respectivos R_{xil} : 0,22, 0,60, 0,91 e 1,26.

Após a determinação dos R_{xil} correspondentes aos produtos (1), (2), (3) e (4) da degradação de Smith controlada, estes foram isolados por cromatografia preparativa em papel Whatman nº 3. A eluição das frações foi efetuada com água, após a visualização das manchas em tiras recortadas lateralmente do cromatograma. As frações de oligossacarídeos assim obtidas, foram purificadas por precipitação etanólica, para a remoção de polissacarídeos presentes no papel.

Aliquotas das frações oligossacarídicas assim purificadas, foram hidrolisadas com TFA 0,5 M, durante 2 horas a $100^\circ C$ e analisadas por g.l.c. (coluna a), na forma de acetatos de alditóis. (Figura 7 e Tabela VI).

Amostras (2mg) das frações purificadas foram metiladas pelo método de HAKOMORI³⁹ modificado por SANDFORD e CONRAD⁷⁰.

II.8 - Análise por Metilação dos Oligossacarídeos Resultantes da Degradação de Smith Controlada da O-Acetil Xilana

As amostras foram previamente secas em aparelho de Abderhalden, dissolvidas em DMSO (1 ml) e tratadas com metilsulfinil carbânion (1 meq), em atmosfera de nitrogênio, sob constante

agitação e à temperatura ambiente durante 24 horas. Formado o alcóxido, iodeto de metila (0,5 ml) foi gotejado. Após 16 horas, adicionou-se água à mistura reativa e as amostras foram extraídas com clorofórmio (3 vezes). Após sucessivas lavagens, foram concentrados à secura e remetilados pelo mesmo método.

Os produtos metilados foram hidrolisados inicialmente com H_2SO_4 72%, em banho de gelo, por 2 horas. A hidrólise foi completada com H_2SO_4 ajustado a 8% com adição de água, à 100°C por 5 horas. O excesso de ácido foi neutralizado com carbonato de bário e os produtos foram analisados por g.l.c. (coluna b), na forma de acetatos de aldios parcialmente metilados (Tabela VII).

II.9 - Estudo da Ligação Éster entre o Ácido 4-O-Metil Glucurônico da Xilana e a Lignina

Uma amostra (5 mg) de pó de madeira proveniente do caule de *M. scabrella* com 5 anos (B_{5b}), previamente delipidificada e depectinizada, foi submetida a 4 sucessivos tratamentos com $NaBH_4$ a 5% (100 ml), em ciclo de 24 horas cada. Ao término de cada tratamento, a serragem era filtrada. O resíduo, de cor amarelo palha, foi, a seguir, submetido à extração com $NaOH$ 2,5M, à temperatura ambiente.

O extrato alcalino separado por filtração em nylon, foi acidificado a pH 5,0 com ácido acético e o precipitado resultante separado por centrifugação, lavado com etanol, depois com acetona (2 vezes) e seco à vácuo no aparelho Abderhalden, obtendo-se 0,44 mg de 4-O-metil-glucurono xilana carboxi-reduzida.

Ácido urônico foi determinado pelo método de carbazol¹⁴,

em relação ao carboidrato total, na amostra carboxi-reduzida e também em amostras de 0-acetil-(4-0-metil glucurono) xilanas (B_{5b} -I e B_{5b} -II), sendo que a amostra referente a B_{5b} -II foi tomada como controle.

Alíquotas das xilanas, carboxi-reduzida e controle, foram hidrolisadas com TFA 1M, a 100°C por 5 horas e os açúcares constituintes analisados por cromatografia em papel e, também por g.l.c (coluna a), na forma de acetatos de alditóis.

Após a determinação dos R_{xil} correspondentes, na cromatografia em papel, o produto da hidrólise da 4-0-metil-glucurono xilana carboxi-reduzida foi purificado, isolado por cromatografia preparativa e os componentes com R_{xil} de 0,98 e 1,16 respectivos a xilose e 4-0-metil glucose, foram eluídos com água em uma fração única, após visualização das manchas em tiras recortadas lateralmente do cromatograma. Uma alíquota da fração purificada foi reduzida, acetilada e analisada por g.l.c. (coluna a), na forma de acetatos de alditóis, usando-se um padrão de 4-0-metil gluticol penta acetato (Figura 8).

Em outro experimento, a 0-acetil (4-0-metil glucurono) xilana (B_{5b} -I) (20 mg), foi saponificado com NaOH 0,2M, 100°C por 30 minutos. Em seguida, foi precipitada com etanol (3V), centrifugada e o resíduo (xilana saponificada), solubilizado em água e NaOH 10M (concentração final = 0,2M). Nesta xilana saponificada foi dosado o teor de ácido urônico¹⁴.

Foi determinado o teor de lignina através de absorvância a 280 nm, das 0-acetil xilanas (B_{5b} -I e B_{5b} -II), da xilana carboxi-reduzida, da xilana saponificada e do sobrenadante etanólico, usando-se como padrão, o ácido ferrúlico, 20 µg/ml. (Tabela VIII).

O sobrenadante etanólico da saponificação foi neutralizado com H_2SO_4 0,5M pré-hidrolisado com H_2SO_4 72%, à frio por 2 horas e a hidrólise foi completada com H_2SO_4 8%, à 100°C, por 5 horas. A seguir, foi reduzido, acetilado e analisado por g.l.c. (coluna b) (Figura 9).

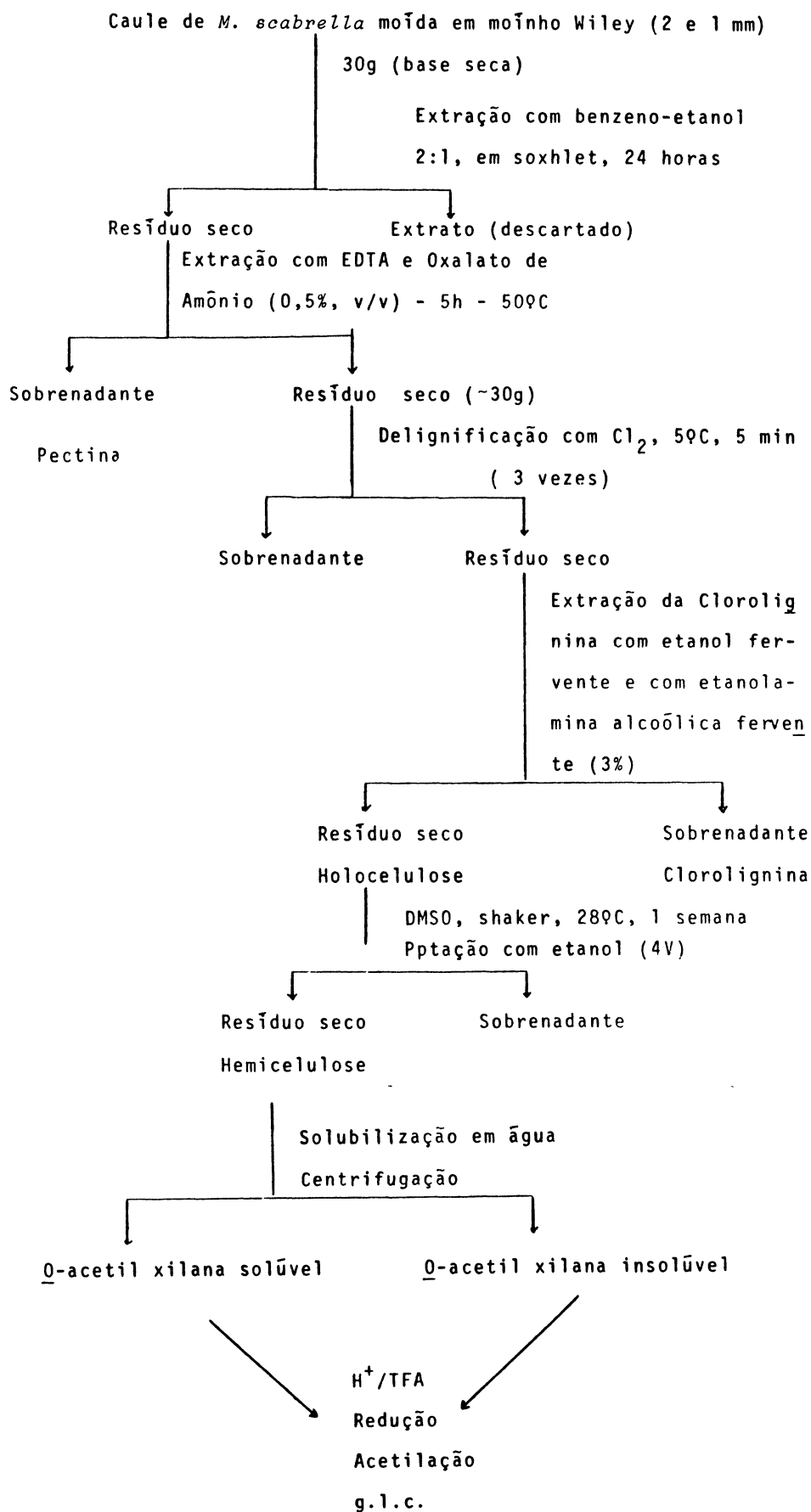
II.10 - Efeito da Etanolamina sobre a Ligação Éster entre Lignina e Ácido Urônico nas Hemiceluloses

Em amostras de 0-acetil (4-0-metil-glucurono) xilanas extraídas por métodos que correspondem às Frações I e II, foram dosados os teores de ácido urônico¹⁴ e de lignina⁰⁹.

Em seguida, uma amostra de 0-acetil (4-0-metil glucurono) xilana, extraída pelo método correspondente à Fração II foi tratada com etanolamina alcoólica (3%, v/v), à refluxo, por 15 minutos, à semelhança do processo de extração da clorolignina convencional, obtendo-se assim, uma Fração II^{*}. O material foi então dialisado, concentrado e solubilizado em água. Neste material foram determinados, novamente, os teores de ácido urônico¹⁴ e de lignina⁰⁹. (Tabela IX).

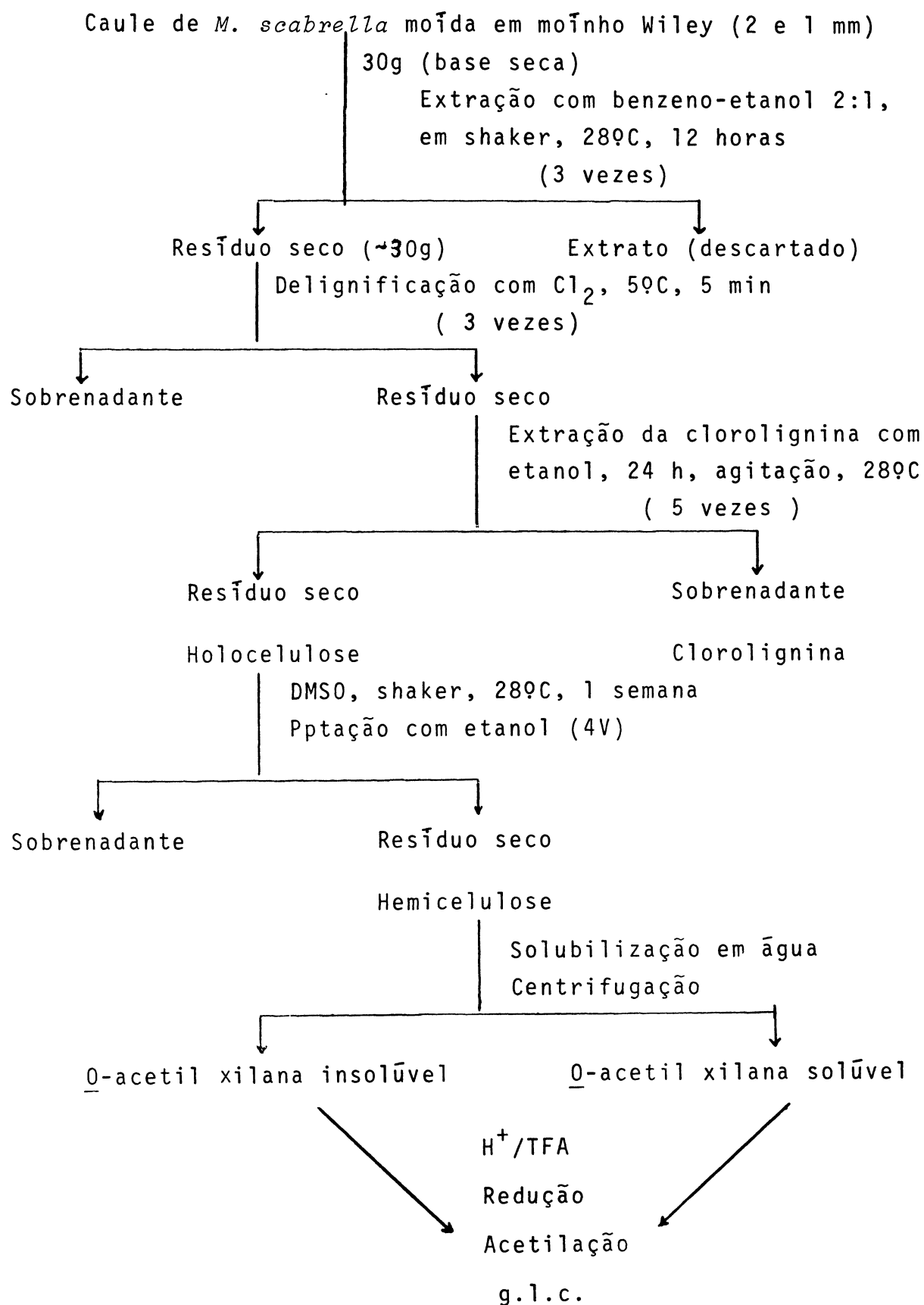
II. 11 - ESQUEMA DE EXTRAÇÃO CONVENCIONAL DA O-ACETIL XILANA
DO CAULE DE *M. scabrella*

FRAÇÕES I



II.12 - ESQUEMA DE EXTRAÇÃO SUAVE DA O-ACETIL XILANADE *M. scabrella*

FRAÇÕES II



III - RESULTADOS E DISCUSSÃO

III.1 - Obtenção dos Polissacarídeos

O caule de *Mimosa scabrella* foi escolhido como modelo para o estudo de substituintes nas xilanas de madeiras duras em diferentes idades e, foram utilizadas amostras provenientes de árvores com 6 meses e de segmentos oriundos da base, meio e topo de árvores com 2 anos, 5 anos, 8 anos e 10 anos.

Após moagem, amostras de pó seco, foram tratadas com uma mistura de benzeno-etanol (2:1, v/v), em Soxhlet, por tempo prolongado, a fim de se eliminar lipídeos, ceras e pigmentos.

As paredes celulares de madeiras, tanto de angiospermas, como de gimnospermas, são lignificadas e no seu estado nativo, as hemiceluloses são parcialmente acetiladas. Portanto, após tratamento com benzeno-etanol, nos pós secos, foram determinados os teores de acetil²⁶, lignina⁰¹, hemicelulose e celulose. Os seus valores encontram-se na Tabela I. Observa-se que neste intervalo de desenvolvimento, os três primeiros componentes praticamente não sofrem variações, o mesmo não se observando com relação aos grupos O-acetílicos, que apresentaram um teor um pouco mais elevado nas árvores mais jovens.

Após a delipidificação, as amostras correspondentes às árvores de 6 meses e 5 anos (base, meio e topo), por apresentarem maior porcentagem de acetil, foram então tratadas com EDTA e

TABELA I

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE CAULES DE *M. scabrella*
DE DIFERENTES IDADES^a.

<i>M. scabrella</i>	Hemicelulose ^b %	Celulose %	Lignina ^c %	Acetil ^d %
6 meses	22,0	52,4	21,5	4,1
2 anos	22,0	52,0	22,0	4,0
5 anos	22,0	50,7	22,8	4,5
8 anos	21,7	51,8	23,5	3,0
10 anos	21,6	50,7	24,0	3,6

a - Após tratamento com benzeno-etanol (2:1).

b - Referida a peso seco

c - Determinada como Klason lignina⁰¹

d - Pelo método de Hestrin²⁶

oxalato de amônio (0,5%, v/v) à 50°C, para se extrair as pectinas, obtendo-se assim as Frações I.

Como o aquecimento acima de 50°C é um fator passível de causar migração e liberação de grupos O-acetílicos, amostras de pó seco, também correspondentes às árvores de 6 meses e 5 anos (base, meio e topo), foram delipidificadas com benzeno-etanol (2:1, v/v) em shaker à 28°C, sendo que a extração da pectina foi evitada, na obtenção das Frações II.

O isolamento de hemiceluloses de vegetais, principalmente as de tecidos lenhosos envolve, frequentemente, tratamentos drásticos com agentes químicos agressivos que provocam profundas modificações na estrutura destes polímeros. Deste modo, geralmente, as análises dão apenas uma idéia básica dos tipos de ligações glicosídicas, não mostrando a verdadeira natureza molecular das hemiceluloses no estado nativo. Isto é o que ocorre com as hemiceluloses obtidas por extração alcalina (NaOH e KOH) de material delignificado ou não. Apesar dos inconvenientes, a extração alcalina proporciona a obtenção de hemiceluloses e outros polissacarídeos não-celulósicos em escala capaz de permitir uma avaliação quantitativa destes polímeros nos tecidos vegetais.

Portanto, a extração de hemiceluloses com DMSO³⁸ é considerada a melhor opção para se obter estes polímeros na forma nativa, pois trata-se de um solvente aprótico, polar e que possui constante dielétrica moderadamente alta. É miscível com a maieria dos solventes orgânicos e com a água, sendo fortemente higroscópico e recuperável por destilação sob pressão reduzida. Observou-se porém, que a sua ação extrativa é extremamente baixa sem a prévia delignificação da madeira. Assim, a delignifica

ção é um passo decisivo no processo e pode, em alguns casos, alterar os polissacarídeos.

Os processos de delignificação mais usuais são os que utilizam os métodos do clorito³⁷ que emprega aquecimento acima de 70°C, ou do cloro gasoso em água gelada³⁷. Neste último, a delignificação completa é conseguida por tratamentos intermitentes com cloro em água gelada por 5 minutos e extração da lignina clorada com solução a 3% de etanolamina em etanol, a quente. Segundo TIMELL⁷⁶ e BOUVENG e colaboradores¹⁸, o cloro, nestas condições não remove os grupos O-acetílicos. Entretanto, de acordo com GAREGG³³, a etanolamina a quente, promove migrações dos grupos O-acetílicos.

Para a extração da O-acetil xilana dos caules em diferentes idades de *Mimosa scabrella* com DMSO, as serragens das madeiras de árvores com 6 meses e 5 anos (base, meio e topo), foram submetidas aos seguintes processos de delignificação prévia³⁷, com o propósito de estudar as modificações causadas na estrutura nativa das hemiceluloses por influência dos métodos de extração:

Frações I - As serragens foram extraídas sequencialmente com benzeno-etanol (2:1) em soxhlet, oxalato de amônio e EDTA (1:1, 0,5% - 50°C), cloradas a 5°C e a lignina degradada extraída com etanolamina a 3% em etanol fervente.

Frações II - As serragens foram extraídas com benzeno-etanol (2:1) a 28°C, cloradas a 0 - 5°C e a lignina degradada extraída com etanol a 28°C.

A hidrólise com TFA 1M, seguida de redução, acetilação e análise por g.l.c. (coluna a), indicou que todas as Frações I

solúveis em água são constituídas essencialmente por unidades de D-xilose, contendo pequenas proporções de L-rhamnose, L-arabinose, D-manose, D-galactose e traços D-glucose, exceto na B_{6M}-I. Por outro lado, observa-se que a composição desses açúcares nas Frações II, solúveis em água, são também essencialmente de unidades de D-xilose, mas em menor porcentagem, havendo um acréscimo nas quantidades de L-rhamnose, L-arabinose, D-manose, D-galactose e D-glucose, devido ao fato dessas frações não terem sido previamente depectinizadas e também que nas mesmas, a lignina degradada não foi extraída pelo método convencional³⁷ e sim, por um método mais suave e menos eficiente, sendo que a posterior ação do DMSO para extrair uma xilana pura, ficou prejudicada. Portanto, estas frações apesar de representarem uma xilana nativa, estão contaminadas tanto por substâncias pecticas, como também, por açúcares da parede celular vegetal (Tabela II). O mesmo fato se observa para as hemiceluloses insolúveis em água, obtidas pelos mesmos métodos (Tabela III).

Os rendimentos e as proporções de açúcares neutros, acetil e ácido urônico das diferentes frações de O-acetil xilana encontram-se indicados na Tabela IV. Verifica-se, então, que os rendimentos nas frações previamente delignificadas com etanolamina (Frações I) foram bem maiores que nas Frações II, onde a delignificação foi evitada, confirmando, assim, que a lignina dificulta a extração de hemicelulose, mesmo quando se usa DMSO como solvente.

O tratamento com etanolamina também influenciou no rendimento dos ácidos urônicos, pois as amostras das Frações II que não foram tratadas com este reagente, apresentaram um teor de ácido urônico mais elevado do que as Frações I. Este fato será discutido em detalhes mais adiante.

TABELA II

COMPOSIÇÃO EM MONOSSACARÍDEOS NEUTROS DAS
O-ACETIL XILANAS, SOLÚVEIS EM ÁGUA, DO CAULE
 DE *M. scabrella*.

FRAÇÃO HEMICELULÓSICA	MONOSSACARÍDEOS ^a					
	Rha	Ara	Xil %	Man	Gal	Glu
B _{6M} -I	2,0 *	1,8	88,7	tr	3,4	4,1
B _{5t} -I	1,9 .	3,4	89,8	2,9	3,8	tr
B _{5m} -I	1,6 e	1,2	91,6	1,9	3,6	tr
B _{5b} -I	2,0 e	0,4	93,1	tr	4,5	tr
B _{6M} -II	9,0 .	6,9	50,5	4,4	7,4	13,5
B _{5t} -II	3,1	6,2	58,5	15,8	7,6	9,0
B _{5m} -II	2,5	6,0	43,3	26,1	9,8	11,9
B _{5b} -II	5,3	15,1	46,1	17,1	12,6	11,9

a - Determinado por g.l.c., na forma de acetatos de aldi-
tóis.

tr - traços.

TABELA III

COMPOSIÇÃO EM MONOSSACARÍDEOS NEUTROS DAS
O-ACETIL-XILANAS^a, INSOLÚVEIS EM ÁGUA, DO
 CAULE DE *M. scabrella*.

FRAÇÃO HEMICELULÓSICA	MONOSSACARÍDEOS ^b					
	%					
	Rha	Ara	Xil	Man	Gal	Glu
B _{6M} ^{-I}	3,2	4,4	80,5	2,9	4,2	14,4
B _{5t} ^{-I}	2,9	5,8	73,5	3,8	5,2	8,8
B _{5m} ^{-I}	2,3	5,2	75,4	3,2	3,9	10,0
B _{5b} ^{-I}	1,7	2,5	83,5	tr	3,7	8,6
B _{6M} ^{-II}	5,6	11,5	58,0	2,6	7,4	14,9
B _{5t} ^{-II}	5,0	9,8	66,2	3,6	5,6	9,7
B _{5m} ^{-II}	3,5	7,9	70,9	3,0	3,4	11,3
B _{5b} ^{-II}	6,6	6,3	70,3	3,0	4,8	9,0

a - Extraídas com DMSO.

b - Determinado por g.l.c., na forma de acetatos de aldios.

tr - traços.

A fim de se estudar a variação no teor de grupos O-acetílicos com a idade, estes foram dosados pelo método de HESTRIN²⁶ em pó de madeira proveniente dos caules de *M. scabrella* com 6 meses, 2 anos, 5 anos, 8 anos e 10 anos. Foram também determinados nas holoceluloses de amostras com 6 meses e 5 anos (base, meio e topo), isto é, após extração da lignina, bem como nas O-acetil xilanas correspondentes. Observa-se na Figura 5 que, em contradição os trabalhos realizados por WAITE e GORROD⁸¹ com gramíneas e por JOSELEAU⁴⁶ com *A. donax*, onde o teor destes substituintes aumenta com a maturidade, os caules, as holoceluloses e as hemiceluloses de *M. scabrella* apresentaram um teor maior de grupos O-acetílicos nos tecidos mais jovens, ou seja, na amostra de 6 meses e nos topos das árvores de cada idade, sendo que este teor diminui nos tecidos mais velhos. É provável que a presença de maior quantidade de grupos O-acetílicos nos tecidos jovens, esteja associada à sua maior necessidade de retenção de água.

Verifica-se, também, na Figura 5 e na Tabela IV, que o teor de grupos O-acetílicos foi mais significativo nas O-acetil xilanas (Frações I), obtidas após prévia depectinização e prévia extração da clorolignina, representando justamente, as frações mais puras.

As O-acetil xilanas apresentam frações solúveis e insolúveis em água. Pelos dados da Tabela V, observa-se que, as hemiceluloses solúveis apresentam um teor significativamente maior de grupos O-acetílicos em relação às hemiceluloses insolúveis. A hemicelulose A de *M. scabrella*, que devido ao processo de extração com álcali é desacetilada, também é insolúvel neste solvente. Observou-se ainda, que as xilanas acetiladas artificialmente, com o mesmo grau de substituição das naturais, são pouco

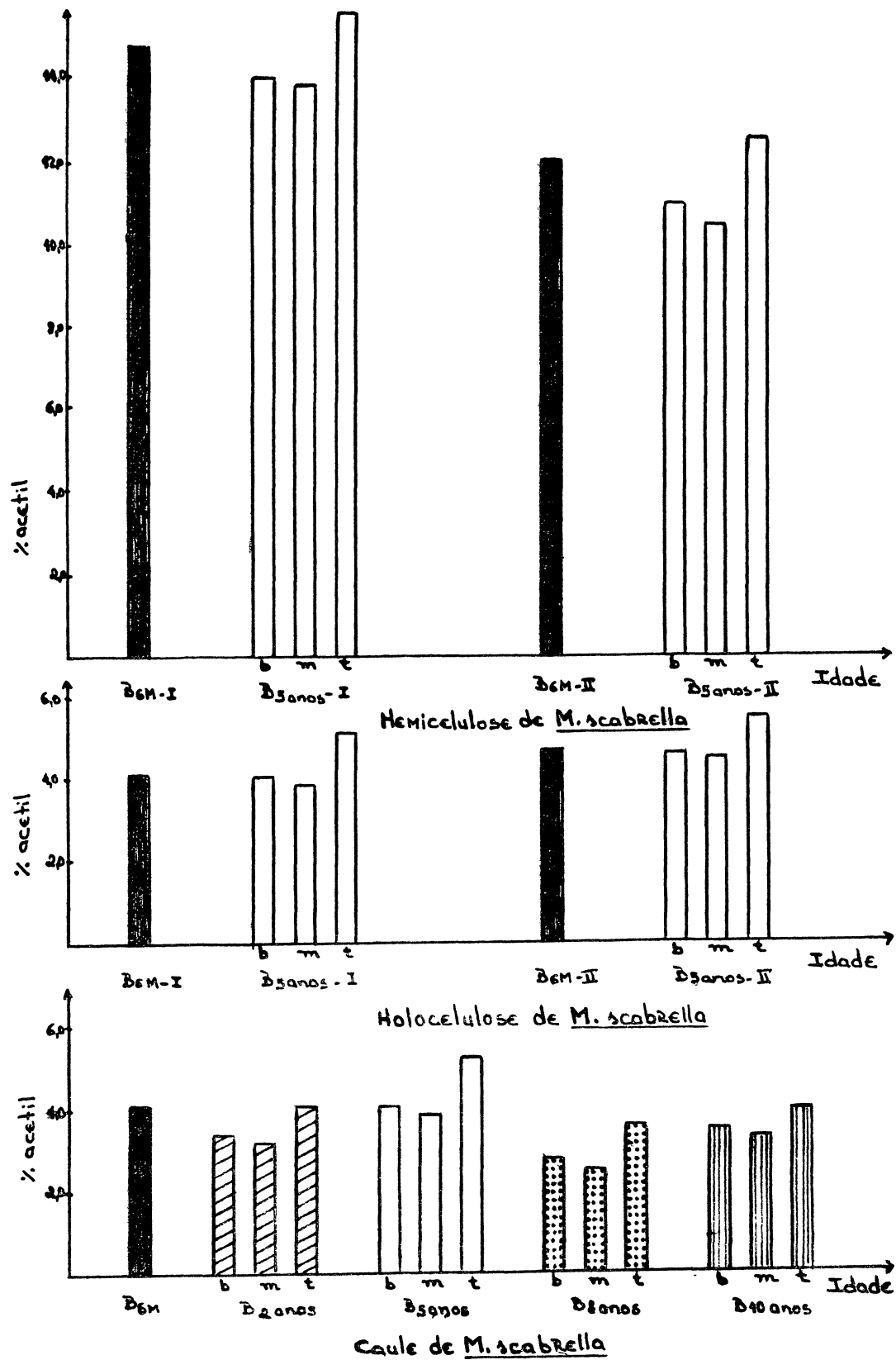


Fig.5 - Relação entre idade e teor de grupos O-acetílicos^a, nos caules, holoceluloses e O-acetil-xilanas de *M. scabrella*.

a - Pelo método de HESTRIN²⁶.

b - base m - meio t - topo

TABELA IV

COMPOSIÇÃO E RENDIMENTO DAS O-ACETIL XILANAS, SOLÚVEIS EM ÁGUA, (FRAÇÕES I E II), OBTIDAS DE CAULE DE *M. scabrella*.

Polissacarídeos	Rendimento ^a %	Açúcares Neutros ^b %	Ac. urônico ^c %	Acetil ^d %
B _{6M} ^{-I}	1,3	71,7	13,4	14,7
B _{5t} ^{-I}	1,1	72,6	11,4	15,5
B _{5m} ^{-I}	1,0	75,1	10,3	13,8
B _{5b} ^{-I}	6,1	77,7	11,4	14,0
B _{6M} ^{-II}	0,7	70,1	16,8	12,1
B _{5t} ^{-II}	0,7	72,7	14,2	12,6
B _{5m} ^{-II}	0,4	74,9	14,0	10,5
B _{5b} ^{-II}	0,5	74,4	14,4	11,0

a - Em relação ao p̄o de madeira prē-extraída com benzeno-etanol.

b - Pelo método do fenol-sulfúrico²⁷.

c - Pelo método do carbazol¹⁴.

d - Pelo método de Hestrin²⁶.

TABELA V

TEOR DE GRUPOS O-ACETÍLICOS^a EM O-ACETIL XILANAS
SOLÚVEIS E INSOLÚVEIS EM ÁGUA, DO CAULE DE *M. scabrella*.

Polissacarídeo	<u>O</u> -ACETIL	
	<u>O</u> -acetil xilanas solúveis	<u>O</u> -acetil xilanas insolúveis
B _{6M} -I	14,7	4,6
B _{5t} -I	15,5	6,4
B _{5m} -I	13,8	5,1
B _{5b} -I	14,0	6,1
B _{6M} -II	12,1	3,3
B _{5t} -II	12,6	5,0
B _{5m} -II	10,5	4,1
B _{5b} -II	11,0	4,2

a - Pelo método de HESTRIN²⁶.

solúveis ou completamente insolúveis em água⁶⁷. Isto indica que, não é sō a posiçāo, mas tambē, a quantidade e a distribuiçāo dos grupos O-acetílicos na molécula de xilana, que sāo importantes na solubilidade deste polímero.

III.2 - Oxidaçāo com NaIO₄ e Degradaçāo de Smith

A oxidaçāo com m-periodato de sōdio é um método rotineiro em estudos estruturais de carboidratos, sendo muito empregada a degradaçāo tipo Smith⁴¹

Sabendo-se que a xilana de *M. scabrella* é linear³⁵ e que as ligaçōes glicosídicas sāo do tipo β-(1→4), a quase totalidade das unidades de D-xilopiranoses sāo oxidadas pelo tratamento com periodato e, apōs reduçāo, hidrolisadas. Ficam resistentes a este tratamento as unidades de xilose que possuem ramificaçōes no carbono 2 por ácido 4-O-metil-α-D-glucurônico⁹¹ e, eventualmente, aquelas ligadas a grupos O-acetílicos. As unidades de ácido 4-O-metil-α-D-glucurônico nāo possuem grupos substituintes nos carbonos 2 e 3, pois sāo oxidadas pelo periodato.

A O-acetil-(4-O-metilglucurono) xilana de *M. scabrella* foi entāo oxidada com m-periodato de sōdio, sendo que a sua curva de consumo de oxidante, bem como a curva de uma 4-O-metilglucurono xilana de *M. scabrella*, encontrada por OLIVEIRA⁶⁴, estāo indicadas na Figura 6.

O resultado do consumo de periodato, ~0,58 moles de oxidante/mol de pentose anidra, corresponde a ~42% de unidades de xilose resistentes a oxidaçāo, o que estā coerente com o número de unidades de xilose substituídas por grupos O-acetílicos

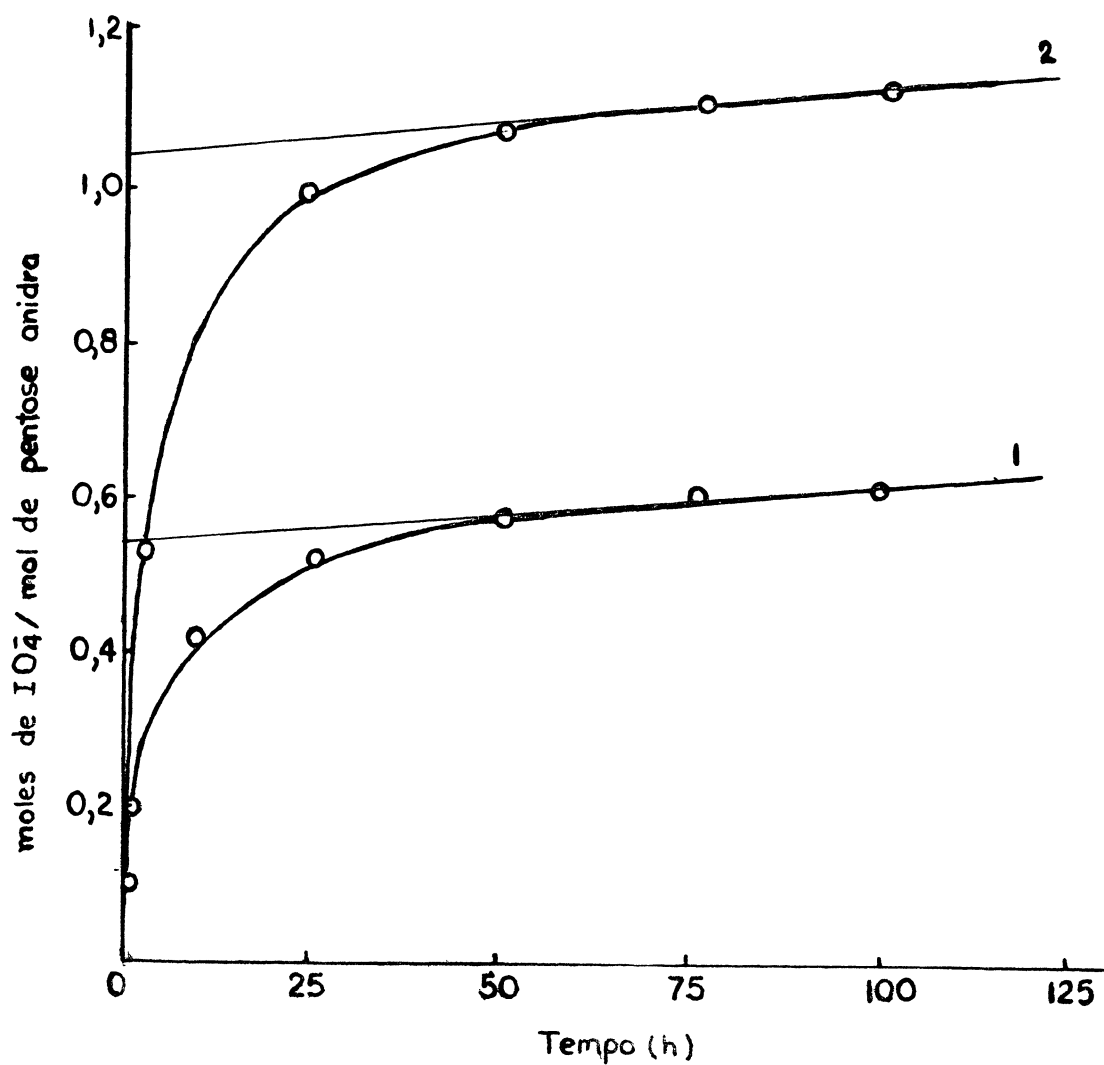


Fig.6 - Determinação do consumo de m-periodato de sódio pela 0-acetil-(4-0-metil-glucurono) xilana(1), comparado com o consumo pela 4-0-metil-glucurono xilana(2) ⁶⁴.

em C-2 (14%) C-3 (16%) e C-2, 3 (5%), como encontrado por REICHER, para esta mesma hemicelulose⁶⁷. Devemos levar em conta que também os ácidos urônicos tornam algumas unidades de xilose resistentes à oxidação⁹¹.

Estes dados, isoladamente, em nada contribuem para a elucidação da distribuição dos grupos O-acetílicos na molécula de xilana, porém, a degradação de Smith controlada e a análise dos oligossacarídeos resultantes, são de grande valia na elucidação dessa distribuição.

III.3 - Degradação Controlada de Smith da O-acetil Xilana

Os produtos da degradação de Smith controlada da O-acetil xilana, após serem separados e purificados por cromatografia preparativa em papel, foram analisados por g.l.c. (coluna a), na forma de acetatos de alditóis, conforme mostram a Figura 7 e a Tabela VI.

O produto (4), que contém somente glicerol é o mais abundante da degradação (avaliado por observação visual do cromatograma em papel) e, resultou da oxidação de pelo menos duas unidades adjacentes de xilose vulneráveis ao periodato. Por outro lado de acordo com a relação xilose/glicerol de 2,7:1 encontrada na Tabela VII, o produto (1) foi o de maior GP isolado da degradação, o que significa que, provavelmente, existam 3 unidades de xilose contíguas bloqueadas por grupos substituintes na molécula de xilana.

Portanto, pode-se admitir que hajam pelo menos três diferentes tipos de blocos, de acordo com os produtos (1), (2) e

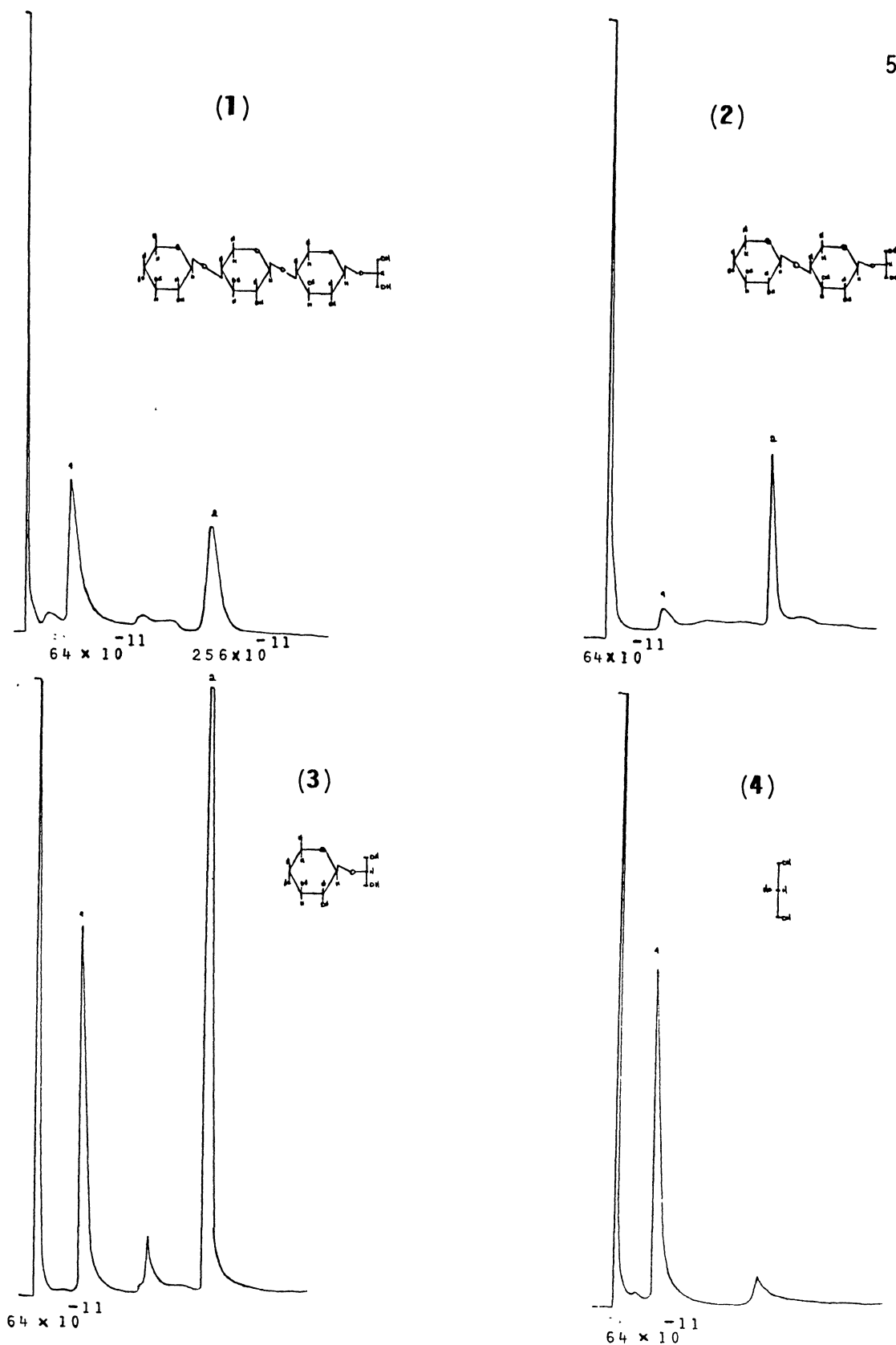


Fig.7 - Cromatogramas em g.l.c (coluna a) dos produtos (1), (2), (3) e (4), resultantes da degradação controlada de Smith da 0-acetil-(4-0-metilglucurono) xilana, após fracionamento por CP, na forma de acetatos de alditóis.

Pico 1 - Glicerol

Pico 2 - Xilose

TABELA VI

ANÁLISE DOS PRODUTOS DA DEGRADAÇÃO CONTROLADA
DE SMITH DA O-ACETIL-(4-O-METIL-GLUCURONO)
XILANA DO CAULE DE *M. scabrella*

Produtos	R _{xil}	Composição ^b (moles/%)			Rendimento ^c %
		Xilose	Glicerol	Xilose/Glicerol	
1	0,2	73,0	27,0	2,7:1	44,5
2	0,6	68,0	32,0	2:1	9,0
3	0,9	50,0	50,0	1:1	32,4
4	1,3	-	100,0	-	13,9

a - Fracionados e purificados por cromatografia preparativa em papel.

b - Determinada por g.l.c. (coluna a), na forma de acetatos de alditóis.

c - Pelo método do fenol-sulfúrico²⁷.

(3) donde se têm, respectivamente, três ou duas unidades substituídas em série ao lado de uma ou duas não substituídas e também uma unidade substituída intercalada por unidades não substituídas. Imaginando-se a macromolécula global, os grupos O-acetilícos encontram-se distribuídos em pequenos blocos ao longo de sua estrutura.

III.4 - Análise por Metilação dos Oligossacarídeos Resultantes da Degradação Controlada de Smith da O-acetil Xilana

A metilação dos produtos (1), (2), e (3), obtidos na degradação controlada de Smith, após purificação por cromatografia preparativa em papel, foi realizada pela técnica de HAKOMORI³⁹ devido à solubilidade desses oligossacarídeos em DMSO, bem como a rapidez e eficiência do método. Além disso, as pontas reductoras dos oligossacarídeos encontram-se protegidas da degradação, pelo glicerol. Os produtos de hidrólise dos oligossacarídeos metilados, analisados por g.l.c. (coluna b), encontram-se na Tabela VII.

Na análise dos produtos de metilação dos oligossacarídeos obtidos a partir da O-acetil-(4-O-metil-glucurono) xilana, o derivado 2, 3, 4-tri-O-metil xilose, corresponde às unidades de D-xilopiranoses dos terminais não redutores. O derivado 2,3-di-O-metil xilose provém da sequência linear de unidades de D-xilopiranoses interligadas por (1 → 4). O derivado mono metilado originou-se, provavelmente, de uma submetilação, ou de uma demetilação durante a hidrólise ácida, ou ambas, ou ainda, corresponda à um substituinte desconhecido em C-2 ou C-3 das unidades de D-xilopiranoses.

TABELA VII

ANÁLISE POR METILAÇÃO DOS PRODUTOS DA DEGRADAÇÃO CONTROLADA DE SMITH DA O-ACETIL-(4-O-METILGLUCURONO) XI
LANA DO CAULE DE *M. scabrella*.

PRODUTOS ^a	ACETATOS DE ALDITÓIS ^b		
	(moles/%)		
	2,3,4-Me ₃ -Xil (T=0,54)	2,3-Me ₂ -Xil (T=1,19)	3-Me-Xil (T=2,15)
1	32,1	52,8	15,1
2	50,7	45,0	4,3
3	91,7	8,3	---

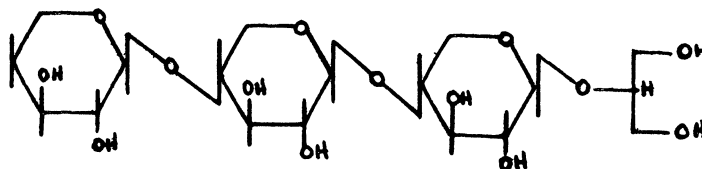
a - Fracionados e purificados por cromatografia preparativa em papel. Metilados pelo método de HAKOMORI³⁹.

b - Determinados por g.l.c. (coluna b).

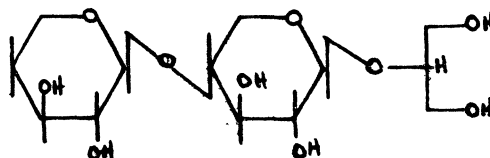
Este resultado deverá ser confirmado por g.l.c.-m.s.

Dos dados obtidos pela metilação podemos sugerir, para cada produto da degradação de Smith, as seguintes possíveis estruturas:

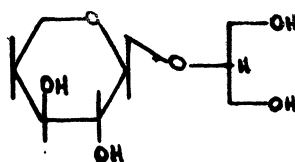
Produto (1)



Produto (2)



Produto (3)



Nestas possíveis estruturas, o produto (1) formou-se, provavelmente, a partir de 3 unidades de D-xilopiranoses adjacentes substituídas em C-2, C-3 ou C-2,3, originando os derivados di e tri metilados. O produto (2) provém de 2 unidades de D-xilopiranoses substituídas, originando, também, derivados di e tri metilados. Já o produto (3), é decorrente de uma unidade de D-xilopiranoses substituída, originando somente o derivado tri metilado.

III. 5 - Ligação Éster entre o Ácido 4-O-metil-D-glucurônico e a Lignina.

A presença de ligação éster entre lignina e o ácido 4-O-metil glucurônico de xilanas foi sugerida inicialmente por SARKAR e colaboradores⁶⁹, com base na observação de que o teor de ácido livre aumentava quando as hemiceluloses de fibras foliares eram delignificadas por clorito de sódio.

Ligações ésteres de lignina com xilana foram estudadas por DAS e colaboradores^{22,23} e por SHARMA⁷² em complexos lignina-carboidratos de fibras de juta, de mesta e de ananás. Por comparação das hemiceluloses extraídas antes e após tratamento das fibras com boroidreto de sódio, comprovaram a existência de ligação éster entre o ácido 4-O-metil-D-glucurônico e a lignina. Os resultados indicaram, respectivamente para a juta, mesta e ananás, que 34%, 75% e 28% dos ácidos urônicos estão envolvidos neste tipo de ligação.

Para a mesta, através de curvas de titulação, encontrou-se que 100% dos ácidos urônicos estariam esterificados pela lignina.

Em trabalho recente, REICHER⁶⁷ determinou as quantidades de ácido urônico e lignina, na O-acetil xilana de *M. scabrella*, antes e após a carboxi-redução com boroidreto de sódio e verificou que, estas decrescem 15 e 58% respectivamente, indicando que 15% do total de ácido urônico encontram-se esterificados.

Em prosseguimento a estes estudos, uma amostra de caule moído de *M. scabrella* (B_{5b}), previamente delipidificada e depectinizada, foi carboxi-reduzida com NaBH₄ a 5% e a xilana carboxi-reduzida, extraída com NaOH 2,5M e precipitada com ácido acético em pH 5,0.

Em outro experimento, uma O-acetil xilana de *M. scabrella* (B_{5b}-I), extraída com DMSO, foi saponificada com NaOH (0,2 M) a 100°C. Após precipitação do polissacarídeo saponificado, verificou-se que o sobrenadante etanólico apresentava absorvância a 280 nm, devido à lignina, cuja ligação éster com a xilana foi, provavelmente, hidrolisada. Este fato foi confirmado pela hidrólise do sobrenadante etanólico da saponificação, pelo método SAEMAN⁷¹, cujo produto após tratamento com NaBH₄, foi acetilado e analisado por g.l.c. (coluna b), como mostra a Figura 8. O pico obtido, com T = 10,4, corresponde ao de um padrão de Klason lignina, analisado da mesma maneira.

Uma O-acetil xilana (B_{5b}-II), em virtude de ter sido obtida em condições tais que, as ligações éster não foram rompidas, foi escolhida como controle. O ácido urônico e a lignina foram determinados na O-acetil xilana controle, na O-acetil xilana (B_{5b}-I) extraída de modo convencional, na xilana carboxi-reduzida e na O-acetil xilana saponificada, cujos valores en-

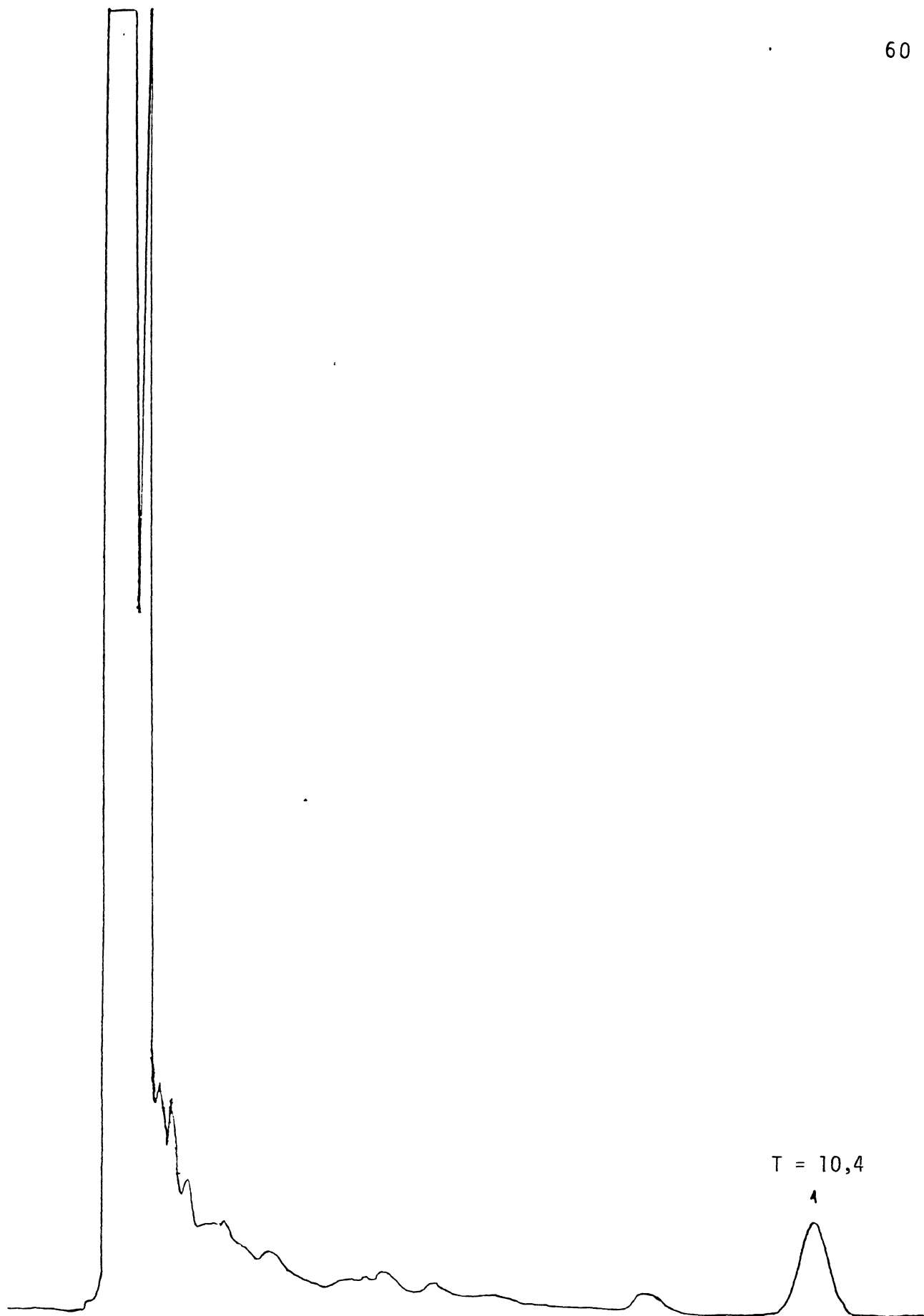


Fig. 8 - Cromatograma em g.l.c. (coluna b), da lignina liberada de uma O-acetil-4-O-metilglucurono xilana saponificada com NaOH 0,2M.
Pico 1 - lignina.

contram-se na Tabela VIII.

A lignina, determinada pelo método de BAR-LEV⁰⁹ passou de 6,1% para 1,7 e 1,8%, enquanto que os ácidos urônicos, pela técnica do carbazol¹⁴, de 14,4% para 9,7 e 11,5% respectivamente nas amostras carboxi-reduzida e saponificada. Observa-se então, que a diminuição relativa da lignina e dos ácidos urônicos foi de 71% e de 32% respectivamente.

A diminuição do ácido urônico indica que 32% de suas unidades (que substituem algumas unidades de D-xilopiranoses na xilana), encontram-se ligadas à lignina através de ligação éster. Porém, a perda de lignina é de 71%, duas vezes maior do que a dos ácidos urônicos e é explicada pelo fato de que a fração de lignina esterificada à xilana e hidrolisada nos processos de carboxi-redução ou saponificação, permanecendo no sobrenadante, deve representar uma cadeia de lignina. Portanto, é de se esperar que 32% das unidades de ácidos urônicos da xilana estão esterificados por pequenas cadeias de lignina.

A O-acetil xilana controle (B_{5b}-II) e a xilana carboxi-reduzida foram hidrolisadas com TFA 1M. O produto da hidrólise da xilana reduzida foi isolado e purificado por cromatografia preparativa em papel. Os açúcares constituintes da O-acetil xilana controle e do produto purificado da xilana carboxi-reduzida foram analisados por g.l.c. (coluna a), na forma de acetatos de alditóis, como mostra a Figura 9. A xilana controle (9c), contém pequenas proporções de rhamnose, arabinose, manose, galactose e glucose. A xilana reduzida e purificada (9d), apresentou um novo açúcar, 4-O-metil glucose, resultante da redução do ácido 4-O-metil-D-glucurônico. Este novo componente representa 4,18%

TABELA VIII

ANÁLISE DE LIGNINA E ÁCIDO URÔNICO NA O-ACETIL
(4-O-METIL-GLUCURONO) XILANA ANTES E APÓS CAR-
BOXI-REDUÇÃO (NaBH_4) E SAPONIFICAÇÃO (NaOH)

	LIGNINA ^a %	ÁCIDO URÔNICO ^b %
<u>O</u> -acetil xilana (B_{5b} -II)	6,1	14,4
<u>O</u> -acetil xilana (B_{5b} -I)	5,2	11,4
<u>O</u> -acetil xilana saponificada	1,8	11,5
Xilana carboxi-reduzida	1,7	9,7
Diminuição relativa	71,0	32,0

a - Pelo método de BAR-LEV⁰⁹, utilizando-se ácido ferrúlico como padrão e em relação ao peso seco.

b - Pelo método do carbazol¹⁴.

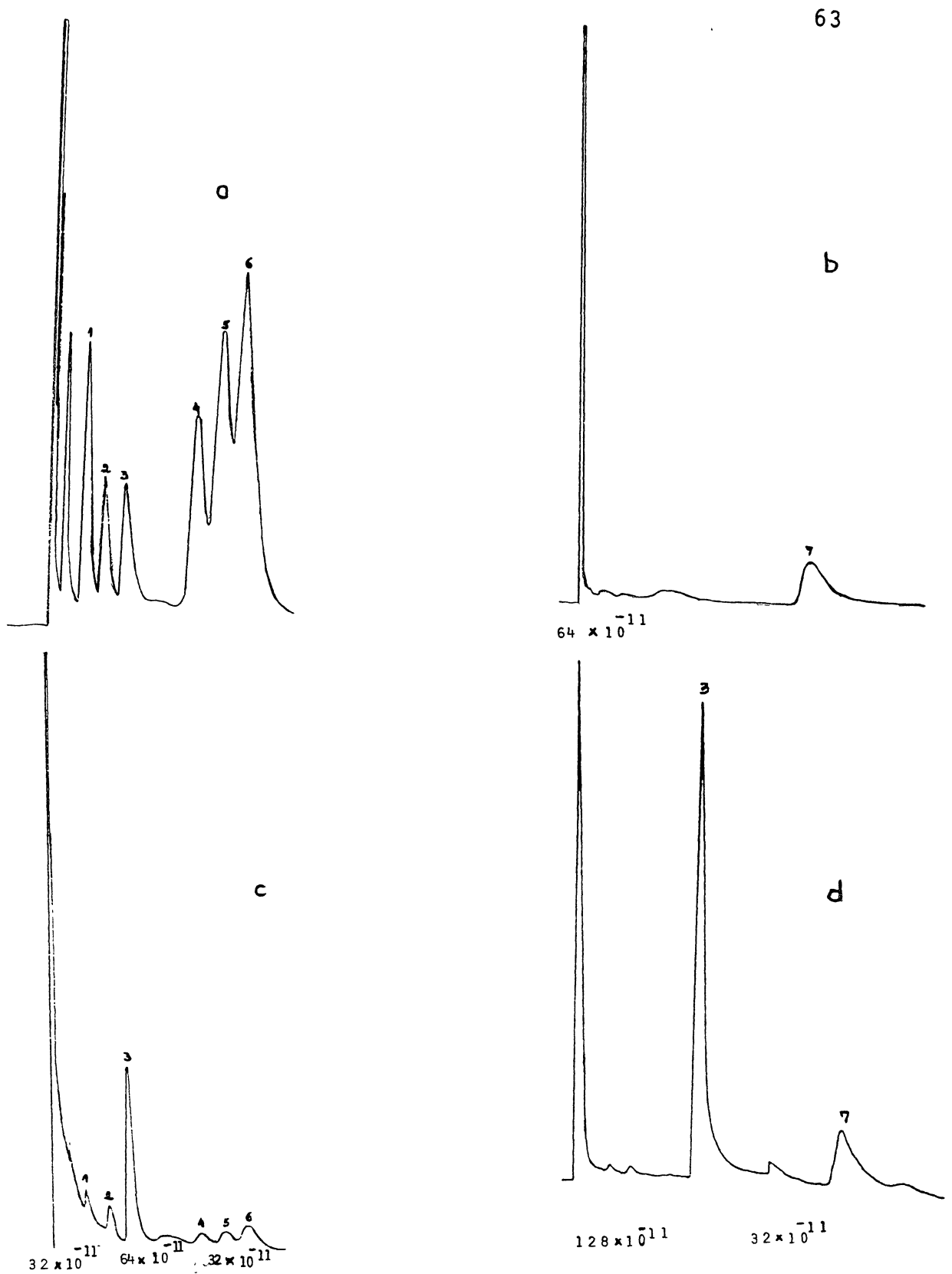


FIG.9 - Comatogramas em g.l.c. (coluna a) da O-acetil xilana, na forma de acetatos de alditóis.

- a. Padrões de acetatos de alditóis
 b. Padrão de 4-O-metil glucitol penta acetato
 c. O-acetil xilana (B_{5b}-II)
 d. Xilana carboxi-reduzida e purificada por cromatografia preparativa

Peaks

- 1 - Rhamnose
 2 - Arabinose
 3 - Xilose
 4 - Manose
 5 - Galactose
 6 - Glucose
 7 - 4-O-metil glucose

do açúcar total. Como este valor corresponde a 32% dos ácidos urônicos que estariam esterificados pela lignina, extrapolando-se para 100, obtemos 14,9%, que está muito próximo ao valor de ácido urônico dosado pelo método do carbazol na fração original (14,4%).

III.6 - Efeito da Etanolamina sobre a Ligação Éster entre Ácido Urônico e a Lignina nas Hemiceluloses.

O tratamento de caules clorados com etanolamina em etanol fervente, nos processos de delignificação, influi consideravelmente nos rendimentos das O-acetil xilanas extraídas com DMSO, conforme mostra a Tabela IX. Entretanto, os dados de lignina e ácido urônico, indicados na mesma tabela, sugerem que estes componentes são modificados pelo tratamento de caules com a etanolamina durante o processo de delignificação.

Deste modo, a O-acetil xilana (Fração II), em cujo preparo se eliminou a etanolamina, apresenta ácido urônico e lignina em quantidades aproximadas de 14,3 e 6,2%, respectivamente, superiores às encontradas na Fração I, que foi obtida de caule de lignificado de maneira convencional³⁷. A fim de se comprovar o efeito da etanolamina sobre a O-acetil xilana, uma alíquota da Fração II foi tratada com este reagente à refluxo durante 15 minutos, à semelhança do processo de delignificação. A Fração II*, derivada deste tratamento, passou a apresentar quantidades de ácido urônico e lignina semelhantes às da Fração I.

O decréscimo de ácido urônico e lignina em O-acetil xilanas obtidas de maneira convencional, pode ser explicado pela desuronização, via β -eliminação. Para que isto aconteça, é

TABELA IX

EFEITO DA ETANOLAMINA ALCOÓLICA SOBRE O ÁCIDO URÔNICO E SOBRE A LIGNINA DA O-ACETIL-(4-O-METILGUCURONO) XILANA NO PROCESSO DE DELIGNIFICAÇÃO DO CAULE DE *M. scabrella*

Hemicelulose	Redimento	Açúcar Neutro ^a	<u>O</u> -acetil ^b	Lignina ^c	Ácido Urônico ^d
	%	%	%	%	%
Fração I	6,0	69,2	14,0	5,2	11,5
Fração II	0,5	68,2	11,0	6,2	14,3
Fração II [*]	nd	71,7	11,0	5,0	11,2

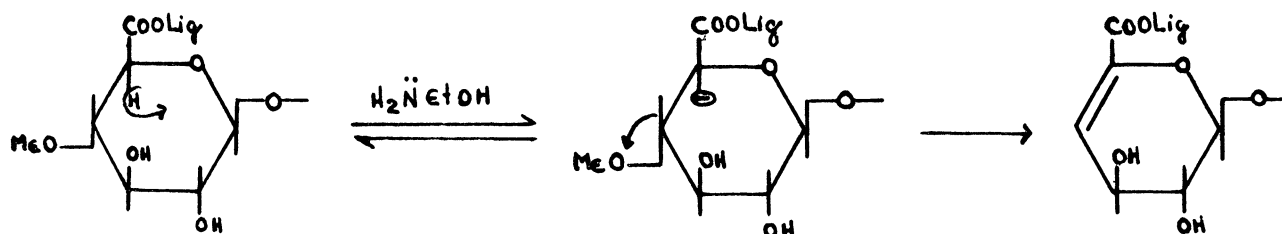
a - Pelo método do fenol - ácido sulfúrico²⁷.

b - Pelo método de HESTRIN²⁶.

c - Pelo método de BAR-LEV⁰⁹.

d - Pelo método de carbazol¹⁴.

é fundamental que o ácido urônico esteja esterificado, neste caso pela lignina, de acordo com as seguintes reações e em mecanismo semelhante ao que se verifica na desuronização de xilanas, conforme processos descritos por LINDBERG e colaboradores⁵⁵ e por KISS⁵¹.



A β -eliminação ocorre com a retirada do hidrogênio, na forma de próton, ligado ao carbono α em relação à carboxila, pela ação de uma base, no caso a etanolamina. Isto conduz à saída do íon metóxido, com o par de elétrons estabelecendo uma dupla ligação entre carbonos α e β . O produto da β -eliminação, por sua vez, é facilmente hidrolisado, liberando o derivado α, β insaturado.

Novos estudos estão sendo realizados para comprovar esta β -eliminação, visando identificar o produto α - β insaturado e o metanol, decorrentes desta reação.

IV - CONCLUSÕES

1 - As hemiceluloses solúveis e insolúveis em água de *M. scabrella*, extraídas pelo método convencional (Frações I), são constituídas essencialmente por unidades de D-xilose e ácido urônico, contendo pequenas quantidades de L-rhamnose, L-arabinose, D-manose, D-galactose e traços de D-glucose, como contaminantes.

2 - As hemiceluloses solúveis e insolúveis em água de *M. scabrella*, extraídas por método que evita o uso de aquecimento e de etanolamina (Frações II), apresentaram uma menor proporção relativa de unidades de D-xilose em relação às Frações I e a quantidade dos outros açúcares aumentou. Neste processo obtém-se xilana sem que haja alteração aparente de sua estrutura molecular, porém a extração é extremamente ineficiente.

3 - O processo de delignificação com etanolamina influenciou no rendimento das O-acetil xilanas, aumentando-o consideravelmente. Entretanto, os resultados sugerem que este tratamento pode promover a β -eliminação do ácido 4-O-metil- α -D-glucurônico que está esterificado pela lignina.

4 - Os caules, as holoceluloses e as hemiceluloses de *M. scabrella* apresentaram um teor ligeiramente maior de grupos O-acetílicos nos tecidos mais jovens, que pode ser atribuído à maior necessidade de hidratação desses tecidos.

5 - As hemiceluloses solúveis em água apresentaram um teor significativamente maior de grupos O-acetílicos em relação às hemiceluloses insolúveis, indicando que a quantidade destes, também, é importante na solubilidade destes polímeros.

6 - As xilanas de *M. scabrella* contêm grupos substituíntes distribuídos ao longo de suas moléculas, em pequenos blocos de duas ou três unidades substituídas em série, ao lado de uma ou duas não substituídas e, também, por uma unidade substituída intercalada por unidades não substituídas.

7 - A O-acetil xilana apresenta ligação éster entre a xilana e a lignina, envolvendo grupamentos carboxílicos das unidades de ácido 4-O-metil glucurônico que compõem as hemiceluloses e grupamentos hidroxílicos da lignina. Cerca de 32% do ácido urônico total está comprometido com este tipo de ligação.

V - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01 - ADAMS, G.A. Lignin determination. Methods in Carbohydr. Chem., 5:185-187, 1965.
- 02 - ADAMS, G.A. Acid hydrolysis of weak linkages. Methods in Carbohydr. Chem., 5:285-287, 1965.
- 03 - ALBERSHEIM, P. Biogenesis of cell wall. In: Plant Biochemistry. Bonner, J. & Varner, J.E. (Ed.), Acad.Press, N.Y., 1965, p. 208-321.
- 04 - ALBERSHEIM, P. The walls of growing plant cells. Scient. AM., 232:80-94, 1975.
- 05 - ANDREWS, P.; HOUGH, L. & JONES, J.K.N. J. Chem. Soc. , 1186, 1953.
- 06 - ASPINALL, G.O. Structural chemistry of the hemicelulloses. Adv. Carbohydr. Chem., 14:429-468, 1959.
- 07 - ASPINALL, G.O. Chemistry of cell wall polysaccharides. In: The Biochemistry of plants. Stumpf, P.K. & Conn, E. E. (Ed.) Acad. Press, USA, 1980, p.473-500, vol.3.
- 08 - BACON, J.S.D.; GORDON, A.H. & MORRIS, E.J. Acetyl groups in cell - wall preparations from higher plants. Biochem. J., 149:485-487, 1975.
- 09 - BAR-LEV, S. Biodegradation of insoluble plant cell wall material by fungi. Ph.D.Thesis, The Weizmann Institute

of Science, 126pp, 1979.

- 10 - BHATTACHARJEE, A.K.; KWON-CHUNG, K.J. & GLAUDEMANS, P.J.
The structure of the capsular polysaccharide from *Cryptococcus neoformans*, Serotype D. Carbohydr. Res., 73:
183-192, 1979.
- 11 - BARRICHELLO, L.E.G. Celulose sulfato de bracinga. In:
Congresso Florestal Brasileiro, 19. Curitiba, 1968, Vol:
3, 49 Comissão, Trabalho 5.
- 12 - deBELDER, A.N. & NORRMAN, B. The distribution of substituents in partially acetylated dextran. Carbohydr. Res., 8:1-66, 1968.
- 13 - BIELY, P.; PULS, J. & SCHNEIDER, H. Acetyl xylan esterases in fungal cellulolytic systems. FEBS. Letters, 186(1):
80-84, 1985.
- 14 - BITTER, T. & MUIR, H.M. A modified uronic acid carbazole reaction. Anal. Biochem., 4:330-334, 1962.
- 15 - BOUVENG, H.O. Phenylisocyanate derivatives of carbohydrates. Acta Chem. Scand., 15:87-95, 1961.
- 16 - BOUVENG, H.O. Phenylisocyanate derivatives of carbohydrates. Part II - Location of the O-acetyl groups in Birch xylan. Acta Chem. Scand., 15:96-100, 1961.
- 17 - BOUVENG, H.O. & LINDBERG, B. Native acetylated wood polysaccharides. Extraction with dimethyl sulfoxide. Methods in Carbohydr. Chem., 5:147-150, 1965.
- 18 - BOUVENG, H.O.; GAREGG, P.J. & LINDBERG, B. Position of the O-acetyl groups in birch xylan. Acta Chem. Scand., 14:742-748, 1960.

- 19 - BRINSON, K. & DEY, P.M. Polysaccharides containing xylose, arabinose and galactose in higher plants. In: Biochemistry of storage carbohydrates in green plants. Dey, P.M. & Dixon, R.A. (Ed.), Acad. Press, USA, 1985, p.349-371.
- 20 - BROWNELL, H.H. Isolation of milled wood lignin and lignin - carbohydrate complex. Part II of a study on the lignin - carbohydrate bond. Tappi, 48:513-519, 1965.
- 21 . BUHRER, N.E. Estudos para a obtenção de carvão ativo vegetal. Arq. Biol. Tecnol., 7:103-121, 1952.
- 22 - DAS, N.N.; DAS, S.C.; DUTT, A.S. & ROY, A. Lignin-xylan ester linkage in jute fiber (*Corchorus capsularis*). Carbohydr. Res., 94:73-82, 1981.
- 23 - DAS, N.N.; DAS, S.C.; SARKAR, A.K. & MUKHERJEE, A.K. Lignin-xylan ester linkage in mesta fiber (*Hibiscus cannabinus*). Carbohydr. Res., 129:197-207, 1984.
- 24 - DEA, I.C.M. & MORRISON, A. Chemistry and interactions of seed galactomannans. Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., 31:241-312, 1975.
- 25 - DOROSO, N.; ODEBRECHT, S. & CORRÊA, J.B.C. Some aspects of the structure of the hemicellulose B from the stem of *Mimosa bracatinga*. Arq. Biol. Tecnol., 23(3):257-263, 1980.
- 26 - DOWNS, F. Determination of O-acetyl groups by Hestrin method. Methods in Carbohydr. Chem., 7:241-243, 1967.
- 27 - DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P. A. & SMITH, F. Colorimetric method for determination of

- sugar and related substances. Anal. Chem., 28(1 - 4): 350-356, 1956.
- 28 - ERICSON, M.C. & ALBEIM, A.D. Biosynthesis of cell wall polysaccharides and glycoproteins. In: The biochemistry of plants. Stumpf, P.K. & Conn, E.E. (Ed.), Acad. Press, USA, vol. 3:589-615, 1980.
- 29 - FONTANA, J.D.; CORRÊA, J.B.C. & GEBARA, M. Xilanase de *Polyporus circinatus* induzida pela hemicelulose do caule de *Mimosa bracatinga*. Ciên. Cult. (São Paulo), Suplem. 28ª Reunião Anual da SBBq: 492, 1976.
- 30 - FONTANA, J.D.; CORRÊA, J.B.C.; GALLOTI, B.J.; BLUMEL, M. & BARBOSA, A.M. Depolimerização e fermentação de hemiceluloses de bracatinga e bagaço de cana. Arq. Biol. Tecnol., 26(2):325, 1983.
- 31 - FONTANA, J.D.; CORRÊA, J.B.C.; DUARTE, J.H.; BARBOSA, A.M. & BLUMEL, M. Aqueous phosphoric acid hydrolysis of hemicelulloses of sugarcane and sorghum bagasses. Biotechnol. Biogen. Symp., 14, 1984.
- 32 - GAILLARD, B.D.E. Separation of linear from branched polysaccharide by precipitation as iodine complex. Nature. 4.795:1295-1296, 1961.
- 33 - GAREGG, P.J. Partial acetylation studies on benzyl 4-O-methyl- β -D-xylopyranoside. Acta Chem. Scand., 16:1849-1857, 1962.
- 34 - GEBARA, M. Degradação enzimática da hemicelulose A de *Mimosa bracatinga*. Curitiba. Tese de mestrado apresentada ao Departamento de Bioquímica da UFPr., 1977.

- 35 - CORRÊA, J.B.C.; GOMES, S.L. & GEBARA, M. Structural features of the hemicelulose A from the stem of *Mimosa bracatinga*. Carbohydr. Res. 60:337-343, 1978.
- 36 - GOODWIN, T.W. & MERCER, E.I. The plant cell wall. In : Introduction to plant biochemistry . Pergamon Press , Germany, 1972, p.52-73.
- 37 - GREEN, J.W. Wood cellulose Methods Carbohydr. Chem., 3: 9-21, 1963.
- 38 - HAGGLUND, E.; LINDBERG, B. & McPHERSON, J. Dimethylsulphoxide, a solvent for hemicelulloses. Acta Chem. Scand., 19:1160-1164, 1965.
- 39 - HAKOMORI, S. A rapid permethylation of glycolipid and polysaccharide catalyzed by methylsulfinyl carbonion in dimethyl sulphoxide. J.Biochem.,55:205-207, 1964.
- 40 - HAVLICEK, J. & SAMUELSON, O. Chromatography of oligosaccharides from xylan by various techniques. Carbohydr. Res., 22:307-316, 1972.
- 41 - HAY, G.W.; LEWIS, B.A. & SMITH, F. Periodate oxidation of polysaccharides: General procedures. Methods in Carbohydr. Chem., 5:357-361, 1965.
- 42 . HAYASHI,A. Study on the chemical combination between lignin and carbohydrate. IX - The action of bonded substances on chromatograms. J.Agric. Chem. Soc. Japan, 35:80-83, 1961.
- 43 - HOEHNE, F. A bracaatinga ou abaracaatinga. São Paulo, Secretaria da Agricultura, Indústria e Comércio do Estado de São Paulo. 43p., 1930.

- 44 - HOEHNE, F. *Mimosa bracaatinga*. Bracatinga. In: O jardim botânico de São Paulo. Kulman, M. & Handro, O. (Ed.), São Paulo, Secretaria da Agricultura, Indústria e Comércio. p.426-427, 1941.
- 45 - HOUGH, L. Chromatography on paper. Methods in Carbohydr. Chem., 1:21-31, 1962.
- 46 - JOSELEAU J.P. & BARNOUD Proceedings in the 8th cellulose conference. Applied polymer symposia. Timell, T. E. (Ed.), 28:983, 1976.
- 47 - KARR, A.L. Cell wall biogenesis. In: Plant Biochemistry. Bonner, J. & Varner, J.E. (ED.), Acad. Press, USA, 1976, p.405-426.
- 48 - KATZ, G. The location and significance of the O-acetyl groups in a glucomannan from Paraña Pine. Tappi, 48(1): 34-41, 1965.
- 49 - KAUSS, H. Biosynthesis of pectin and hemicelulloses. In: Plant Carbohydrate Biochemistry. Pridham, J.B. (Ed.), Acad. Press, London, 1974, p. 191-205.
- 50 - KIRCHER, H.W. Gas-liquid partition chromatography of sugar derivatives. Methods in Carbohydr. Chem., 1:13-20, 1962.
- 51 - KISS, J. β -Eliminative degradation of carbohydrates containing uronic acid residues. Adv. Carbohydr. Chem., 29:229-303, 1979.
- 52 - KLAUDITZ, W. Holzforschung, 11:47, 1957.
- 53 - KUO, M. & MORT, A.J. Location and identity of the acyl substituents on the extracellular polysaccharides of

Rhizobium trifolii and *Rhizobium leguminosarum*. Carbohydr. Res., 145:247-265, 1986.

- 54 - LINDBERG, B.; ROSELL, K.G. & SVENSSON, S. Positions of the O-acetyl groups in birch xylan. Svensk papperstidning, 76:30-32, 1973.
- 55 - LINDBERG, B.; LINDH, F. & LÖNNGREN, L. Degradation of polysaccharides containing uronic acid residues. Carbohydr. Res., 61:81-87, 1978.
- 56 - MAHJAN, J. R. Produtos químicos e substituintes energéticos a partir de resíduos agrícolas. Parte 1: Furfural e compostos relacionados. Ciência e Cultura, 38 (3):459-472, 1986.
- 57 - MARES-GUIA, M.L. & THIEMANN, J.E. Produção de celulase e hidrólise enzimática de resíduos celulósicos. 305p, 1983.
- 58 - MORRAL, P. & BRIGGS, D.E. Changes in cell wall polysaccharides of germinating barley grains. Phytochem., 17: 1495-1502, 1978.
- 59 - MORRISON, I.M. Changes in the hemicelulosic polysaccharides of rye-grass with increasing maturity. Carbohydr. Res., 36:45-51, 1974.
- 60 - NEISH, A.C. The biosynthesis of cell wall carbohydrates. II - Formation of cellulose and xylan from labeled monosaccharides in wheat plants. Can. J. Biochem. Physiol., 33(2):658-666, 1955.
- 61 - NEISH, A.C. The biosynthesis of cell wall carbohydrates. IV - Further studies on cellulose and xylan in wheat.

- Can. J. Biochem. Physiol., 36:187-193, 1958.
- 62 - NELSON, N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. J. Biol. Chem., 153:375-380, 1944.
- 63 - NORTHCOTE, D.H. Chemistry of the plant cell wall. Ann. Rev. Plant Physiol., 23:113-132, 1972.
- 64 - OLIVEIRA, M.L. Alguns aspectos estruturais de O-acetil-(4-O-metilglucurono) xilana de *Mimosa bracinga*. Curitiba. Tese de mestrado apresentada ao Departamento de Bioquímica da UFPr., 1977.
- 65 - CORRÊA, J.B.C.; REICHER, F.; ODEBRECHT, S. & OLIVEIRA, M. L. The distribution of O-acetyl in partially acetylated xylan. An. Acad. Brasil. Ciên., 51(3):429-433, 1979.
- 66 - POLGLASE, W.J. Polysaccharides associated with wood cellulose. Adv. Carbohydr. Chem., 10:283-333, 1955.
- 67 - REICHER, F. Estudos sobre a localização de grupos O-acetílicos e de complexos lignina-xilana em hemicelulose nativa de *Mimosa scabrella* (bracinga). Curitiba. Tese de doutorado apresentada ao Departamento de Bioquímica da UFPr., 1984.
- 68 - REICHER, F. ; CORRÊA, J.B.C. & GORIN, P.A.J. Location of O-acetyl groups in the acidic D-xylan of *M. scabrella* (bracinga). A study of O-acetyl group migration. Carbohydr. Res., 135:129-140, 1984.
- 69 - SARKAR, P. J.; CHATTARJEE, H. & MAJUNDAR, A.K. Combination between lignin and polyuronic acid in jute fibers. J. Text. Inst., 39:1-7, 1948.

- 70 - SANFORD, P.A. & CONRAD, H.E. The structure of the *Aerobacter aerogenes*, A₃(SI) polysaccharide. I - A reexamination using improved procedures for methylation analysis. Biochemistry 5:1508-1517, 1966.
- 71 - SELVENDRAN, R.R.; MARCH, J.F. & RING, S.G. Determination of aldoses and uronic acid. Content of vegetable fiber. Anal. Biochem., 96:282-292, 1979.
- 72 - SHARMA, M. Investigations on the fibers of pineapple (*Ananas comosus*) leaves. Carbohydr. Res., 97:323-329, 1981.
- 73 - SKJAK-BRAEK, G.; LARSEN, B. & GRASDALEN, H. The role of O-acetyl groups in the biosynthesis of alginate by *Azotobacter vinelandii*. Carbohydr. Res., 145:169-174, 1985.
- 74 - SOMOGYI, M. A new reagent for the determination of sugars. J. Biol. Chem., 160:61-68, 1945.
- 75 - STAUB, A.M. Removal of proteins. Sevag method. Methods in Carbohydr. Chem., 5:5-6, 1965.
- 76 - TIMELL, T.E. Isolation and properties of an O-acetyl-4-O-methyl-glucurono-xyloglycan from the wood of white birch. J. Amer. Chem. Soc., 82:5211-5215, 1960.
- 77 - TIMELL, T.E. Wood hemicelluloses. Part I. Adv. Carbohydr. Chem., 19:247-302, 1964.
- 78 - TIMELL, T.E. Wood hemicelluloses. Part II. Adv. Carbohydr. Chem., 20:409-483, 1965.
- 79 - TRAVASSOS, L.R. Comunicação pessoal
- 80 - TREVELYAN, W.E.; PROCTER, D.P. & HARRISON, J.S. Detection of sugars on paper chromatograms by use of dipping reagents. Nature, 166:444-445, 1950.

- 81 - WAITE, R. & GORROD, A.R.N. Structural carbohydrates of grasses; comprehensive analysis of grasses. J.Sci. Food.Agric., 10:308-317; 317-327, 1959.
- 82 - WHISTLER, R.L. Xylan. Adv. Carbohydr. Chem., 5:269-291, 1950.
- 83 - WHISTLER, R.L.; BUSHWAY, A.; SINGH, P.P.; NAKAHARA, W. & TOKUZEN, R. Noncytotoxic, antitumor polysaccharides. Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., 32:235-275, 1976.
- 84 - WHISTLER, R.L. & FEATHER, M.S. Hemicellulose.Extraction from annual plants with alkaline solutions. Methods Carbohydr. Chem., 5:144-145, 1965.
- 85 - WHISTLER, R.L. & RICHARDS, E.L. Hemicelluloses. In: The carbohydrates. Chemistry and biochemistry. Pigman, W. & Horton,D. (Ed.), Acad.Press, N.Y., 1970, vol 2:447 - 469.
- 86 - WICKERBERG, B. Paper chromatography of sugar acetates and methyl ethers using dimethylsulfoxide as the stationary phase. Methods Carbohydr. Chem., 1:31-39,1962.
- 87 - WILKIE, K.C.B. Hemicellulose. Chem. Technol., 306-319, 1983.
- 88 - WINDHOLZ, M. The Merck Index. 9th Edition, Rahway, N.J. Merck & Co., Inc., 1976.
- 89 - WOLFROM, M.L. & THOMPSON, A. Acetylation. Methods Carbohydr. Chem., 2:211-215, 1963.
- 90 - YAMADA, H.; NOGAI, T.; OTSUKA, Y. TOMODA, M.; SHIMIZU, N. & SHIMADA, K. Relationship between chemical structure and anti-complementary activity of plant polysaccharides. Carbohydr. Res., 144:101-111, 1985.

- 91 - ZERMINIANI, A. Novos aspectos sobre a estrutura da hemielulose A do caule de *Mimosa bracatinga*. Hoehne. Curitiba. Tese de mestrado apresentada ao Departamento de Bioquímica da UFPr., 1980.