

AValiação QuÍmica E BiOLÓgica DE REJEITOS DA INDÚSTRIA MADEIREIRA

D. Granato', D. S. Nunes', P. P. de Mattos', E. de Moura Rios³, A. Glinskr', L. C. Rodrigues', G. Zanusso Junior'

- 1- Departamento de Química - Universidade Estadual de Ponta Grossa - Campus de Uvaranas - CEP: 84030-900 - Ponta Grossa - PR - Brasil
Telefone: (Oxx42)2203726 - Email: dsn@nepg.br
- 2- Embrapa Florestas - Cx. Postal 319 - CEP: 83411-000 - Colombo - PR - Brasil
Telefone: (Oxx41)6661313 - Email: povoa@cnpf.embrapa.br
- 3- Departamento de Biologia Geral - Universidade Estadual de Ponta Grossa - Campus de Uvaranas - CEP: 84030-900 - Ponta Grossa - PR - Brasil
Telefone: (Oxx42)2203126 - Email: ester@lrlaol.pucpr.br

RESUMO - Este estudo visa a caracterização química e a avaliação da atividade antimicrobiana de extratos obtidos a partir de rejeitos resultantes do beneficiamento de madeiras nobres comercializadas no Paraná: Peroba-rosa (*Aspidosperma sp*), Roxinho (*Peltogyne sp*), Jatobá (*Hymenaea sp*), Curupixá (*Micropholis sp*), Itaúba (*Mezilaurus sp*), Cedrilho (*Erisma sp*) e Imbúia-do-Norte (*Licaria sp*), cujas identificações botânicas basearam-se em estudos anatômicos. Os extratos foram preparados com diversos solventes, analisados por CCD e espectrometria UVNIS, testando-se contra: *Proteus mirabilis* ATCC 15290, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, e ainda *Streptococcus mutans* e *Bacillus cereus*, isolados da clínica. O extrato etanólico de peroba-rosa, contendo alcalóides indólicos, apresentou forte atividade contra *P. mirabilis*. Os extratos metanólicos do jatobá e da imbúia-do-norte, contendo substâncias fenólicas, e o extrato de roxinho obtido com acetato de etila contendo fenóis e terpenos, foram ativos contra *E. coli*, *S. aureus* e *P. mirabilis*. Nenhum dos extratos foi ativo contra *S. mutans* e *E. aerogenes*.

PALA VRAS-CHA VE: madeiras tropicais, atividade antibacteriana..

ABSTRACT - This study aims the chemical characterization and the microbiologic evaluation of extracts obtained from the resulting waste of the improvement of noble woods marketed in Paraná State: Peroba-rosa (*Aspidosperma sp*), Roxinho (*Peltogyne sp*), Jatobá (*Hymenaea sp*), Curupixá (*Micropholis sp*), Itaúba (*Mezilaurus sp*), Cedrilho (*Erisma sp*) and Imbúia-do-Norte (*Licaria sp*), whose botanical identifications were based on anatomical studies. The extracts were prepared with different solvents, analyzed by TLC and UVNIS techniques, and tested against: *Proteus mirabilis* ATCC 15290, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, and even *Streptococcus mutans* and *Bacillus cereus* isolated from the clinic. The ethanol extract from Peroba-rosa containing indole alkaloids showed strong activity against *P. mirabilis*. Jatobá and Imbúia-do-Norte methanol extracts containing phenolic substances, and the Roxinho ethyl acetate extract containing terpenoids and phenolics were active against *E. coli*, *S. aureus* and *P. mirabilis*. None of the extracts was active against *S. mutans* and *E. aerogenes*.



1. INTRODUÇÃO

A exploração de madeira nativa no Brasil ainda é freqüentemente predatória, sendo a área explorada transformada em pastagem ou simplesmente abandonada.

Atualmente, o Estado do Paraná aparece em algumas estatísticas como o maior exportador de madeiras do país, mas com inexpressivos US\$ 500.000,00 no ano de 2001 (AIMEX, 2004). Este negócio está baseado em plantios de espécies dos gêneros *Eucalyptus* e *Pinus*, mas parte de tais exportações e da demanda da indústria e do comércio regionais é suprida pela exploração de florestas naturais, especialmente da Amazônia (Agência Estado, 2003).

O processamento mecânico dessas madeiras gera serragem equivalente a aproximadamente 14% do volume das toras. Os resíduos são parcialmente aproveitados para geração de energia ou dispostos em aterros inadequados, gerando sérios problemas ambientais (Maia et al., 2003). A procura por aplicações ecologicamente saudáveis para os rejeitos indústria madeireira ainda é uma ampla tarefa a realizar. Os metabólitos secundários presentes nas serragens podem agregar valor a tais materiais brutos ou se transformar em subprodutos nobres destes resíduos, mas há necessidade de estudo da composição química específica de cada serragem.

Muitas madeiras de alto valor comercial provém de vegetais com pouco ou nenhum estudo químico ou biológico sobre seus metabólitos secundários. Num levantamento bibliográfico recente (ISI WEB OF KNOWLEDGE, 2003), foram encontrados estudos químicos, em geral esparsos e antigos, sobre Peroba-rosa (*Aspidosperma polyneuron*, alcalóides), Jatobá (*Hymenaea courbaril*, flavonóides e terpenos), Imbúia-do-Norte (*Licaria sp*, neolignanais), Roxinho (*Peltogyne sp*, peltoginóides) e Itaúba (*Mezilaurus itauba*, neolignanais e óleo essencial).

A maioria destes estudos refere-se à composição química de outras partes da árvore, e não da madeira. Nenhum estudo foi encontrado, nem mesmo alargando a pesquisa aos gêneros botânicos, sobre os metabólitos secundários do Cedrilho (*Erisma sp*) e do Curupixá (*Micropholis sp*), que aparecem nas estatísticas entre as espécies amazônicas exploradas com maior intensidade nos últimos anos (AIMEX, 2004).

Um fator agravante para a realização de estudos com rejeitos da indústria madeireira é que as toras podem chegar ao pátio da indústria apenas com uma identificação comercial ou nome popular. A denominação popular das árvores nativas brasileiras é muito variável de região para região. Algumas vezes diferentes nomes comuns representam a mesma espécie, e outras vezes apenas um nome comum pode representar diferentes espécies, como pode ser verificado em Camargos et al. (2001). Nesses casos, a identificação botânica desse material em nível de gênero pode ser feita pela análise anatômica da madeira e características de cor, sabor ou cheiro da amostra (USDA, 2004).

A intensificação das pesquisas científicas sobre madeiras de espécies nativas poderá levar a uma valorização mais realista do seu papel ambiental por parte dos que as exploram comercialmente. O estudo químico dos metabólitos secundários presentes nas madeiras e de suas atividades microbiológicas levará a uma compreensão mais abrangente sobre suas defesas contra pragas, podendo servir de base, por exemplo, para o desenvolvimento de produtos destinados a proteger madeiras brancas destituídas de defesas naturais.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Amostras de madeiras

Foram utilizadas amostras de madeira de sete espécies, fornecidas por uma



madeira do município de Ponta Grossa - PR, identificadas comercialmente como Peroba-rosa, Cedrilho, Imbúia-do-Norte, Itaúba, Roxinho, Jatobá e Curupixá. A identificação botânica das amostras foi feita pela análise macroscópica quanto a cor e características anatômicas, seguindo a chave de identificação de Mainieri (1983). Para a análise microscópica, foram preparadas lâminas permanentes com coloração safra-blau de cortes histológicos orientados nos três planos (transversal, longitudinal tangencial e longitudinal radial). As identificações foram confirmadas por comparação com amostras do laminário da *Embrapa* Florestas e com descrições contidas em literatura especializada (Mainieri & Chimelo, 1989; Metcalfe & Chalk, 1965).

2.2 Obtenção dos extratos brutos

Para a obtenção dos extratos brutos, 100 gramas de serragem de cada amostra de madeira foram secados a 40° C durante 3 dias. Em seguida as amostras foram extraídas exaustivamente em aparelho Soxhlet com diclorometano e depois com metanol, eliminando-se os solventes por evaporação rotativa sob vácuo. O Roxinho foi extraído também com acetato de etila, antes da extração com metanol. A Peroba-rosa foi extraída apenas com etanol, sem a extração prévia com diclorometano.

2.3 Análises por CCD e UVMS

Para as análises por cromatografia de camada delgada (CCD) dos extratos empregou-se uma concentração de 5 mg de extrato bruto por 1 mL de solvente. Foram usadas placas de sílica gel HF.254 eluídas com diferentes sistemas de solventes. Após o desenvolvimento, os cromatogramas foram observados sob luz UV de 254 e 360 nm e reveladas com reagentes específicos para terpenos (anisaldeído/Hjâfla), fenóis (FeCh) e alcalóides (Dragendorft).

Foram obtidos os espectros UVNIS qualitativos dos extratos em metanol, empre-

gando-se um aparelho Shimadzu. Cada medida de espectro foi repetida após adição de 2 gotas de NaOH 5%, para confirmação da presença de substâncias fenólicas pela ocorrência de deslocamentos batocrômicos. Foi obtido também o espectro em meio ácido, no caso do extrato da Peroba-Rosa, para uma comparação com a literatura.

2.4 Atividade antimicrobiana

O método utilizado para as análises foi o de difusão em meio sólido por cavidade-placa (Cleeland & Squires, 1991). As suspensões bacterianas foram padronizadas pelo tubo 0,5 da escala de MacFarland e inoculadas por "pour-plate" em meio Tryptic Soy Agar (Oplustil et al., 2000). Em cavidades de 6 mm localizadas no centro do meio de cultura foram colocados 1 mg do extrato dissolvido. Após incubação a 37°C por 24 horas, mediu-se o diâmetro do halo de inibição formado ao redor de cada cavidade. Para os testes microbiológicos, os extratos foram dissolvidos em dimetilsulfóxido. As estirpes bacterianas testadas foram: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Proteus mirabilis* ATCC 15290, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Streptococcus mutans* e *Bacillus cereus* isolados da clínica. Os experimentos foram realizados em triplicata. Volumes equivalentes <dê .dimetilsulfóxido, utilizado como solvente das frações, foram utilizados como controle.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de madeira foram identificadas como pertencentes aos seguintes gêneros botânicos: Peroba-rosa (*Aspidosperma* sp, Apocynaceae), Cedrilho (*Erismia* sp, Vochysiaceae), Imbúia-do-Norte (*Licaria* sp, Lauraceae), Itaúba (*Mezilaurus* sp, Lauraceae), Roxinho (*Peltogyne* sp, Caesalpinaceae), Jatobá (*Hymenaea* sp, Caesalpinaceae) e Curupixá (*Microrrhizolissip*, Sâpotaceae).



São apresentados a seguir, na Tabela 1, os dados de rendimento apenas dos extratos que foram encaminhados para os testes microbiológicos.

TABELA 1: Rendimento dos extratos.

madeira	rendimento (%)
Itaúba	10,0
Peroba-Rosa	7,80
Imbuía-do-Norte	6,38
Cedrilho	7,58
Curupixá	8,94
Jatobá	17,5
Roxinho	(1,68%*) 10,1

*Rendimento do extrato acetato de etila.

Na Tabela 2 estão resumidos os resultados das análises por CCD, detectando-se classes de compostos químicos. Em vários casos estes dados apoiam a identificação dos gêneros botânicos realizada pelos estudos anatômicos das madeiras.

TABELA 2: Classes de compostos presentes.

Madeira	fenol	terpeno	alcalóide
Itaúba	+	+	+ (fraco)
Peroba Rosa	+	-	+ (forte)
Imbuía	+	+	-
Cedrilho	-	+	-
Curupixá	+	+	-
Jatobá	+	+	-
Roxinho	+	+	-

Observamos a presença marcante de alcalóides no extrato bruto etanólico da Peroba-Rosa, que é uma classe de compostos naturais característica de todas as espécies do gênero *Aspidosperma*. Nossos espectros de UV deste extrato mostraram grande semelhança com os registrados na literatura para o alcalóide indólico polyneuridina, principal composto isolado de *A. polyneuron* (Antonaccio et al., 1962). Estes dados sugerem fortemente que nossa amostra de madeira de Peroba-Rosa provém da espécie *A. polyneuron*. Esta árvore ocorre na Mata Atlântica da Bahia até o Paraná; ocorre também em Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Goiás, Mato

Grosso e Rondônia, na floresta latifoliada semidecídua (Lorenzi, 1992).

Os compostos fenólicos observados na Itaúba correspondem provavelmente a lignóides já isolados do gênero *Mezilaurus* (Yaez et al., 1986); alcalóides bisbenzilisoquinolínicos já foram também encontrados neste gênero botânico (Silva et al., 1983). Lignóides são também característicos das madeiras de espécies do gênero *Licaria*, aqui representado pela Imbuía-do-Norte (Braz Filho et al., 1981). O monoterpene volátil anetol, isolado de espécies *Licaria*, é um conhecido antimicrobiano (Himejima & Kubo, 1992).

Várias espécies do gênero *Peltogyne*, a que pertence o Roxinho, fornecem madeiras dotadas de coloração violácea característica, devida à presença de compostos fenólicos conhecidos como peltoginóides, que são flavonóides (Almeida et al., 1974). As árvores do gênero *Hymenaea* (Jatobá) são caracterizadas por suas resinas com alta proporção de ácidos diterpênicos, os quais são fortes antimicrobianos (Abdel-Kader et al., 2002); flavonóides de estruturas variadas também são comuns em espécies *Hymenaea* (Pettit et al., 2003).

Os principais dados relativos aos testes microbiológicos realizados com os extratos estão resumidos na Tabela 3; os valores, dados em mm, são os diâmetros dos halos de inibição provocados pela presença de cada extrato no meio de cultura.

Os resultados dos testes microbiológicos indicam que o extrato etanólico de Peroba-rosa, apresentou forte atividade inibitória contra *Proteus mirabilis*. Os extratos metanólicos de Jatobá e da Imbuía-do-Norte, assim como o extrato de Roxinho obtido com acetato de etila, inibiram o crescimento tanto das bactérias Gram positivas (*S. aureus*) quanto das Gram negativas (*P. mirabilis*, *E. coli*) testadas. Os extratos metanólicos



de Curupixá, Roxinho, Itaúba e Cedrilho mostraram fraca ou nenhuma atividade antibacteriana frente às cepas. *Enterobacter aerogenes* e *Streptococcus mutans* foram resistentes a todos os extratos (resultados não apresentados).

TABELA 3: Testes microbiológicos; médias em mm dos halos de inibição.

Extrato	<i>E. Coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
Itaúba	0	11	0
Peroba Rosa	0	0	21
Imbúbia	11	12	11
Cedrilho	---	0	0
Curupixá	0	0	0
Jatobá	14	14	14
Roxinho *	9	10	0
Roxinho **	0	10	0

*acetato de etila; **metanol; --- não avaliado

4. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Dr. Paulo Cesar Botosso, pesquisador da Embrapa Florestas, pela colaboração na identificação botânica das amostras. Somos gratos ao Programa PIBIC UEPG/CNPq por uma bolsa IC (D.G.) e ao CNPq por uma bolsa PQ (D.S.N., proc. 30859112003-8).

5. BIBLIOGRAFIA

ABDEL-KADER, M.; BERGER, J.; SLEBODNICK, C.; HOCH, J.; MALONE, S.; WISSE, J.; WERKHOVEN, .M.; MAMBER, S.; KINGSTON, D. Isolation and absolute configuration of ent-halimane diterpenoids from *Hymenaea eourbaril* from the Surinamerain forest. *J. Nat. Prod.*, v. 65, p. 11-15, 2002.

AGÊNCIA ESTADO. Greenpeace denuncia fraude em exportação de mogno. <http://www.estadao.com.br/ciencia/noti->

[cias/2002/jun/14/315.htm](http://www.estadao.com.br/ciencia/noticias/2002/jun/14/315.htm) (página visitada em 02/03/2004).

AIMEX, Associação das Indústrias Exportadoras de Madeiras do Estado do Pará. Estatísticas.

<http://www.nautilus.com.br/-aimex/estat.html> (página visitada em 02/03/2004).

ALMEIDA, M. E.; GOTTLIEB, O. R.; REGODESO, J.; TEIXEIRA, M. A. Chemistry of Brazilian Leguminosae .18. New peltogynoids from three *Peltogyne* species. *Phytochem.*, v. 13, p. 1225-1228, 1974.

ANTONACCIO, L.; PEREIRA, N.; GILBERT, R.; VORBRUEGGEN, H.; BUZIKIEWICZ, H.; WILSON, 1.; DUHRAM, L.; DJERASSI, C. Polyneuridine, a new alkaloid from *Aspidosperma polyneuron* and some observations on mass spectra of indole alkaloids. *J. Amer. Chem. Soc.*, v. 84, p. 2161-2170, 1962.

BRAZ FILHO, R.; CARVALHO, M. G.; GOTTLIEB, O. R.; MAIA, J. G. S.; SILVA, M. L. Neolignans from *Lieeria rigida*. *Phytochem.*, v. 20, p. 2049-2050, 1981.

CAMARGOS, J. A. A.; CORADIN, V. T. R.; CZARNESKI, C. M.; OLIVEIRA, D. de; MEGUERDITCHIAN, L. Catálogo de árvores do Brasil. 2. ed. rev. Brasília: Iham, 2001. 896p.

CLEELAN), R.; SQUIRES, E. Evaluation of new antimicrobials in vivo and in experimental animal infections. In: Antibiotics in Laboratory Medicine. 3. ed., edited by V. LORIAN, Baltimore: William & Wilkins, cap. 21. 1991.

ISI Web of Knowledge. Institute of Science Information, <http://www.webofscience.com> (acessado entre julho e dezembro de 2003).

HIMEILMA, .M.; KUBO, I. Antimicrobial agents from *Licaria puchuri major* Mez and their synergistic effect with polygodial. *J. Nat. Prod.*; v. 55, p. 620-625, 1992.

LORENZI, H. Árvores Br:asUeiras - Manual de identificação e cultivo de plan-



XV COBEQ

A Engenharia Química
e o Crescimento
Sustentável

II Congresso Brasileiro
de Termodinâmica
Aplicada - CBTERMO

26 a 29 de setembro de 2004

- tas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1992.352 p.
- MAIA, C.M.B.F.; BUDZIAK, C.R.; PAIXÃO, R.E.; MANGRICH, A.S. Compostagem de resíduos florestais: um guia para produção de húmus através da reciclagem e aproveitamento de resíduos florestais. Série Documentos N° 87. Colombo: Embrapa, 2003. 28p.
- MAINIERI, C. Manual de identificação das principais madeiras comerciais brasileiras. São Paulo: IPT, 1983. 243p.
- MAINIERI, C., CHIMELO, J. P. Fichas de características das madeiras brasileiras. São Paulo: IPT, 1989. 418p.
- METCALFE, C.R.; CHALK, L. Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. Oxford: Clarendon Press, 1965.
- OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. L. Procedimentos básicos em microbiologia clínica. São Paulo: SARVIER, 2000.
- PETTIT, G.; MENG, Y.; STEVENSON, C., DOUBEK, D.; KNIGHT, J.; CICHACZ, Z.; PETTIT, R.; CHAPUIS, I.; SCHMIDT, I. Isolation and structure of palstatin from the Amazon tree *Hymenaea palustris*. *J Nat. Prod.*, v. 66, p. 259-262, 2003.
- SILVA, R.; NAGEM, T. J.; MESQUITA, A. L.; GOTTLIEB, O. R. γ -Lactones from *Mezilaurus synandra*. *Phytochem.*, v. 22, p. 772-773, 1983.
- USDA Forest Service. Center for wood anatomy research. Wood Identification Procedures. <http://www2.fpl.fs.fed.gov/woodID/idfact.html> (página visitada em 01/03/2004).
- YAEZ, R. X., DIAZ, A. M. P.; DIAZ, P. P. Neolignans from *Mezilaurus itauba*. *Phytochem.*, v. 25, p. 1953-1956, 1986.