

INTRODUÇÃO A BIOSSÍNTESE, OCORRÊNCIA, ESTRUTURA E REAÇÕES DA LIGNINA

A. Mounteer, J.L. Colodette, J.L. Gomide
Universidade Federal de Viçosa - Viçosa - MG

1. INTRODUÇÃO

A lignina foi originalmente descoberta por Anselme Payen em 1838 após tratamento da madeira com ácido sulfúrico concentrado. O nome lignina vem do latim "lignum" que significa madeira. Em 1897, Peter Klason estudou a composição dos lignosulfonatos, provenientes da polpação sulfito da madeira, e lançou a idéia de que a lignina é quimicamente relacionada com o álcool coniferílico. Em 1907, ele propôs que a lignina era uma substância macromolecular, e 10 anos mais tarde, que era composta por unidades de álcool coniferílico unidos por ligações éter.

Hoje em dia, sabe-se que a lignina é basicamente um polímero aromático constituído de um sistema heterogêneo e ramificado sem nenhuma unidade repetidora definida. O sistema é totalmente amorfo e ligado quimicamente as hemiceluloses. A lignina ocorre na maioria das plantas mas sua composição não é idêntica em todas elas. De fato, as ligninas isoladas de madeira de fibra longa (MFL), madeira de fibra curta (MFC) e gramíneas possuem estruturas básicas muito diferentes entre elas. Portanto, as ligninas podem ser consideradas como uma classe de materiais relacionados, sendo conveniente identificá-las em termos da espécie de origem e com referência ao método de isolamento utilizado.

O estudo da lignina é de importância considerável porque uma maior compreensão de suas propriedades e reações pode ser de grande assistência na implementação de processos de polpação e de branqueamento de polpa, na determinação das propriedades da madeira e das fibras e no melhor aproveitamento dos subprodutos da lignina.

2. BIOSSÍNTESE DA LIGNINA

2.1. Biossíntese dos Precursores da Lignina

Na Figura 1 é mostrado um breve sumário das rotas metabólicas que conduzem à formação dos precursores da lignina (Fengel, Wegener, 1989). A maioria dessas rotas biossintéticas foram determinadas utilizando a técnica do marcador ^{14}C . Como a maioria dos constituintes aromáticos das plantas, os precursores da lignina são formados via a rota do ácido shiquímico. O ácido shiquímico é formado pela fusão do ácido fosfoenol pirúvico com a eritrose-4-fosfato, sendo estes intermediários formados a partir da glucose, o produto da fotossíntese na planta. O ácido shiquímico se torna a pedra fundamental na síntese dos aminoácidos L-tirosina e L-fenilalanina, que são formados por aminação redutiva via o ácido prefênico. Os aminoácidos são o ponto de partida do metabolismo enzimático fenilpropanóide (a rota do ácido cinâmico). As enzimas de

Trabalho apresentado no 1º Congresso Latino-Americano de deslignificação, realizado em Vitória-ES-Brasil, de 8 a 12 de agosto de 1994.

desaminação (desaminases) subsequentemente convertem os dois aminoácidos em seus respectivos ácidos cinâmicos. Hidroxilação passo a passo por hidroxilases e eventual metilação por 4-O-metiltransferases transformam os ácidos cinâmicos em três álcoois p-hidroxicinâmicos que são considerados os precursores da lignina. São eles os álcoois p-coumarílico, coniferílico e sinapílico (Figura 2, Sjostrom, 1981).

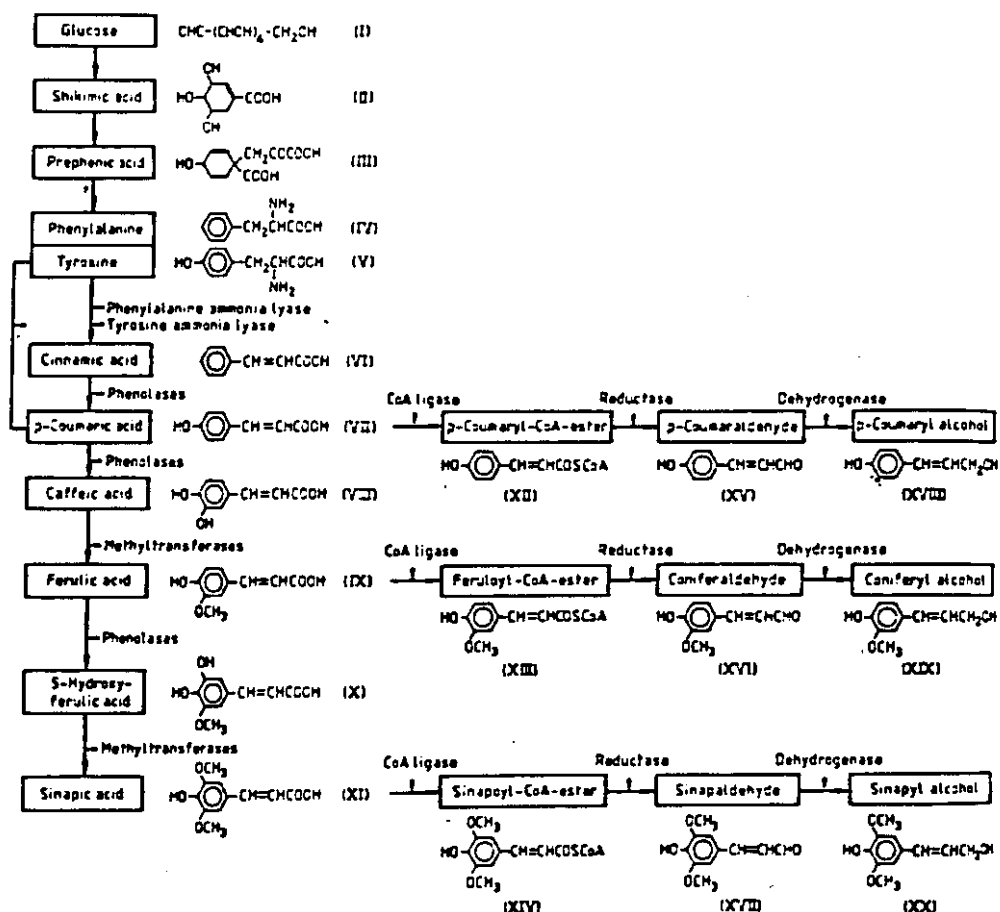


Figura 1. Rotas metabólicas da biossíntese dos precursores da lignina.

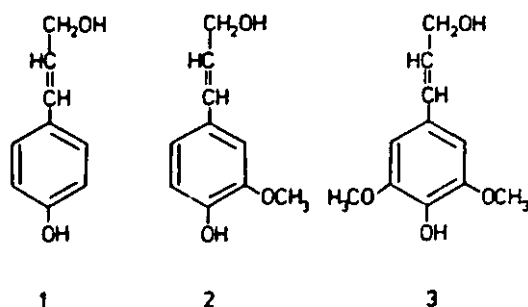


Figura 2. Estruturas dos precursores fenilpropanóides da lignina.
1- álcool coumarílico, 2- álcool coniferílico, 3-álcool sinapílico

A extensão da hidroxilação e metilação dos ácidos cinâmicos tem um impacto significativo na estrutura da lignina porque ela determina se uma lignina vai

ser do tipo guaiacil ou guaiacil-siringil. O álcool coniferílico é a base da lignina guaiacil, enquanto a álcool sinapílico é a base da lignina siringil. Higuchi e colaboradores fizeram estudos extensivos sobre a extensão da substituição dos precursores da lignina por grupos de metoxila. Eles determinaram que uma das razões para a maior proporção de unidades siringil na MFC do que na MFL é a maior afinidade das 4-O-metiltransferases da MFC para com o ácido ferúlico, o precursor do álcool sinapílico. Portanto, se torna aparente que a especificidade e atividade de enzimas são os fatores decisivos para determinar se a planta vai ser lignificada com guaiacil (lignina de MFL) ou guaiacil-siringil (lignina de MFC).

Os álcoois p-hidroxicinâmicos diferem grandemente dos precursores sacarídicos com respeito a composição elementar, solubilidade em meio aquoso e reatividade química com relação a sistemas de enzimas oxidantes. A baixa solubilidade e a alta reatividade em relação a oxidantes faz com que seja crucial para a célula estabilizar os álcoois p-hidroxicinâmicos contra a polimerização prematura e o término de suas atividades de sustentação da vida. Esta estabilização é conseguida através da formação de glicosídeos entre monômeros fenólicos e unidades de açúcar. A primeira elucidação estrutural do glicosídeo coniferina, o glicosídeo formado por β -glucose e álcool coniferílico, mostrado na Figura 3, é creditado a Tiemann e Mandelsohn (citado em Glasser, 1980). A coniferina é caracterizada pela sua alta solubilidade em meio aquoso. Ela também possui uma alta estabilidade contra agentes oxidantes porque o grupo sensível à oxidação, a hidroxila fenólica, está protegida por uma ligação glicosídica. Este glicosídeo pode ser livremente armazenado e transportado pela planta sem o risco de uma polimerização prematura da metade fenólica.

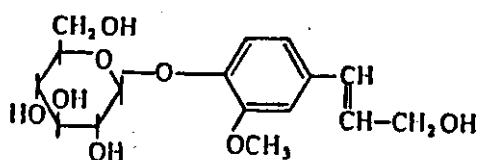


Figura 3. Estrutura da coniferina, o glicosídeo do álcool coniferílico

Do ponto de vista da bioquímica, é importante que todas as enzimas que participam da formação dos álcoois p-hidroxicinâmicos sejam tecido-específicos e localizados predominante ou exclusivamente nas células do xilema em processo de lignificação. Acredita-se que os glicosídeos encontrados na seiva do câmbio das MFL servem, portanto, como reservatório dos ácidos p-hidroxicinâmicos que são translocados até os sítios de deposição da lignina nesta sua forma solúvel (Sederoff, Chang, 1991). A liberação do álcool p-hidroxicinâmico é feita pela célula em processo de lignificação através da enzima β -glucosidase. Foi comprovada histoquimicamente pela reação colorimétrica de indicana a presença de β -glucosidase presa na parede celular de células em processo de lignificação e sua ausência nas células do câmbio (Sederoff, Chang, 1991). Não se tem certeza ainda como os glicosídeos são transportados através da membrana celular para entrar em contato com a β -glucosidase na parede celular mas estudos recentes apontam para uma participação das vesículas de Golgi.

2.2. Biossíntese da Lignina - Polimerização Desidrogenativa

A biossíntese da lignina a partir das unidades monoméricas de fenilpropano pode ser geralmente descrita como uma polimerização desidrogenativa dos álcoois p-hidroxicinâmicos. A lignina de MFL é formada pela polimerização do álcool coniferílico e a lignina de MFC pela copolimerização dos álcoois coniferílico e sinapílico. As unidades do álcool p-coumarílico estão geralmente presentes em pequenas quantidades em ambas as MFL e MFC e nas gramíneas.

O contato entre os precursores fenólicos da lignina e enzimas desidrogenativas (peroxidases) conduz a uma abstração inicial do átomo de hidrogênio do fenol e dá partida a todo o processo de polimerização. Os principais mecanismos da polimerização foram elaborados por Freudenberg e seus colaboradores que produziram uma lignina *in vitro*, chamado de polímero de desidrogenação (DHP), por tratamento do álcool coniferílico com uma lacase fungal e com uma peroxidase de rábano e peróxido de hidrogênio (Sederoff, Chang, 1991).

Embora a ação catalítica da lacase na presença de ar ou outras substâncias oxidantes possa levar à formação de radicais de fenóxido a partir dos álcoois p-hidroxicinâmicos, é geralmente aceito que os catalisadores responsáveis pela iniciação das reações de polimerização *in vivo* são as peroxidases. Acredita-se que as peroxidases estão envolvidas na geração de H₂O₂ e na polimerização oxidativa dos álcoois p-hidroxicinâmicos. É possível que os dois mecanismos sejam controlados por peroxidases diferentes (Fengel, Wegener, 1989).

A complexidade da estrutura da lignina resulta da existência de 5 formas mesoméricas de um radical de fenóxido gerado a partir do álcool p-hidroxicinâmico. Estas são mostradas na Figura 4 para o álcool coniferílico (Sjostrom, 1981). A polimerização ocorre pela união não-enzimática dos radicais de fenóxido nas várias formas mesoméricas. Apenas 4 dos radicais de fenóxido participam do processo de polimerização, uma vez que o V (Figura 4) está impedido estericamente ou desfavorecido termodinamicamente (Fengel, Wegener, 1989). Os principais modos de acoplamento entre radicais são apresentados na Tabela I.

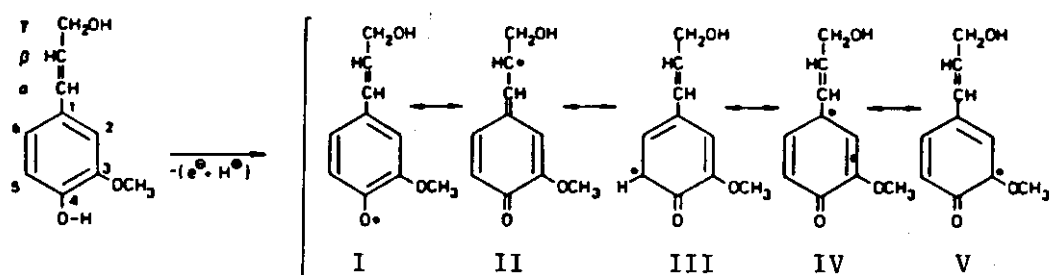


Figura 4. Desidrogenação enzimática do álcool coniferílico levando à formação de 5 radicais mesoméricos de fenóxido.

A frequência relativa com a qual sítios individuais estarão envolvidos numa reação de acoplamento fenólico depende das suas relativas densidades de elétrons π . Cálculos de mecânica quântica da densidade de elétrons nos radicais

TABELA 1. Modos de Acoplamento de Radicais de Fenóxido dos Álcoois p-Hidroxicinâmílicos Mostrados na Figura 4

	I	II	III	IV
I	peróxido instável	β -O-4	4-O-5	1-O-4*
II	β -O-4	β - β	β -5	β -1*
III	4-O-5	β -5	5-5	1-5*
IV	1-O-4*	β -1*	1-5*	1-1*

* Outras opções possíveis

fenóxidos relacionados com a lignina levam às seguintes conclusões (Glasser, 1980). (1) Os radicais de fenóxido têm a mais alta densidade de elétrons π nos seus oxigênios fenólicos. Isto resulta uma maior probabilidade de se formar ligações éter-arila nestes átomos pelo acoplamento de radicais durante a lignificação do que qualquer outro tipo de ligação interunitária. (2) A presença de substituintes de alcoila, aroxila e arila na posição orto ao grupo OH fenólico parece desativar as posições meta respectivas, resultando em reduzida densidade de electrons π naqueles sítios em favor de uma alta densidade de elétrons nos pontos onde estão os substituintes. Entretanto nas reações de acoplamento de fenóis, essas posições de alta densidade de elétrons (orto) parecem ser relativamente não reativas. Isto pode ser explicado por impedimento estérico ou pela relativa instabilidade de produtos de acoplamentos primários (razões termodinâmicas). Connors et al. demonstraram que as configurações diméricas termodinamicamente desfavoráveis não são inteiramente imunes a rotas alternativas de estabilização através do isolamento de estruturas tipo catecol.

Os mecanismos de reação que levam à formação de dímeros são mostrados para 3 tipos importantes de ligações interunitárias na Figura 5 (Sederoff, Chang, 1991). Todos três mecanismos são caracterizados pela existência de estruturas intermediárias e transitórias de quinonametídeos que se estabilizam através da adição intramolecular ou externa de metades contendo grupos de hidroxila. No caso das ligações β -O-4, essas adições podem ser na forma de água ou grupos de hidroxila. Grupos de hidroxilas fenólicas foram mostrados adicionar a uma taxa maior que grupos de hidroxila alifáticos e água (Glasser, 1980).

A adição de substâncias contendo grupos de hidroxilas aos quinonametídeos envolve um mecanismo de polimerização que não é baseado em desidrogenação. É um mecanismo que torna possível a incorporação de compostos não fenólicos sem que eles tenham que passar pela formação de radicais. O contato íntimo entre intermediários quinonóides diméricos e oligoméricos, com substâncias celulósicas e hemicelulósicas na parede celular torna provável que um certo número de grupos de carboxila e de hidroxila primários e secundários provenientes dos carboidratos se tornem ligados covalentemente à lignina da madeira. Estas ligações podem ser do tipo éter ou éster (Glasser, 1980).

Em contraste às combinações β -O-4, que levam principalmente à formação de ligações guaiacil-glicerol- β -aril-éter, a combinação β -5 leva quase que inteiramente à adição intramolecular interna de grupos de hidroxila fenólicas. Deste acoplamento resulta a estrutura tipo fenilcoumarano mostrada na Figura 5. Uma estabilização intramolecular similar de intermediários de quinonametídeo ocorre no caso das combinações β - β que leva à formação de piroresinóis (Figura 5).

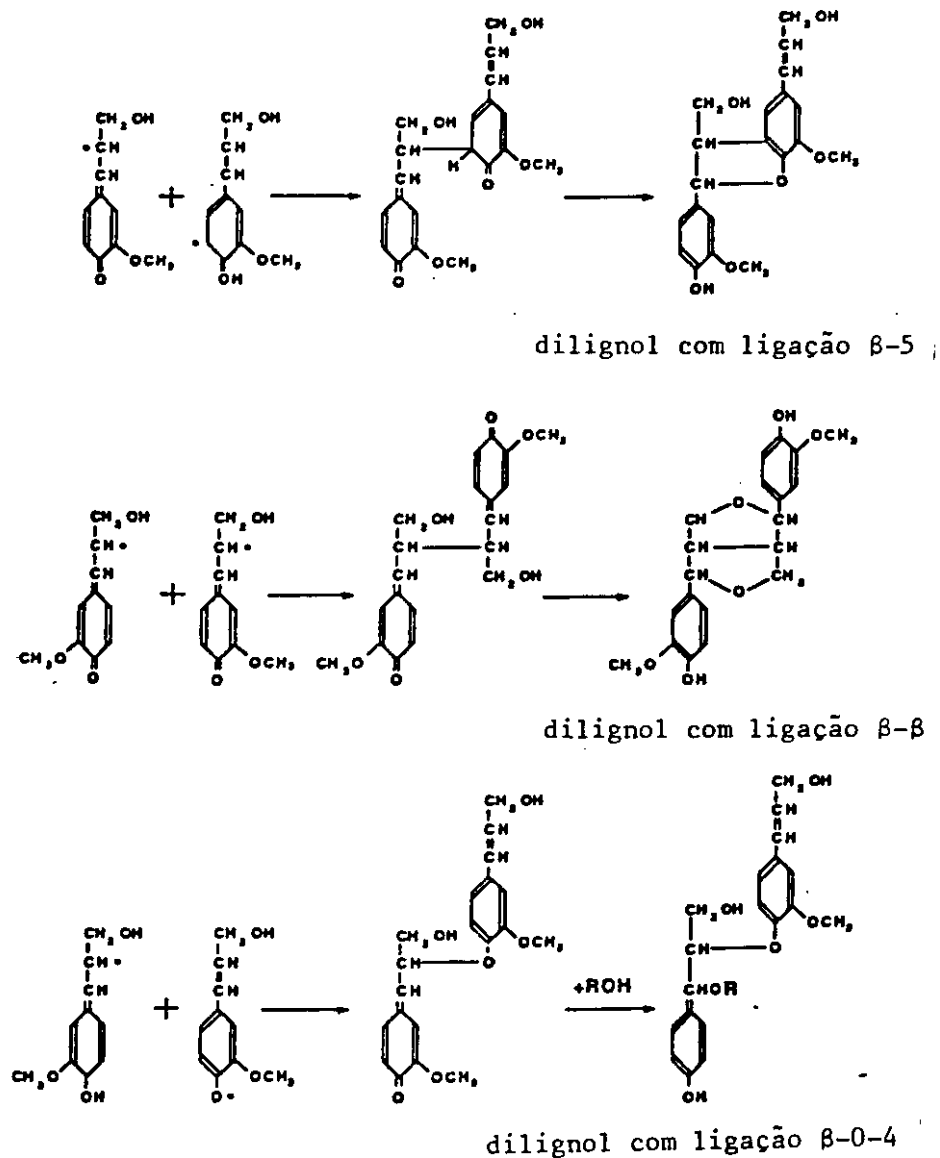


Figura 5. Formação de três dilignóis a partir do álcool coniferílico

Uma certa complicação resulta da alta densidade de elétrons no C1 de anéis aromáticos de estruturas de fenilpropano não vinílicas saturadas. Seguindo o acoplamento no C1 do anel aromático, o intermediário quinonóide pode se estabilizar em duas rotas alternativas que estão demonstradas na Figura 6 (Glasser, 1980). O resultado desta estabilização depende do substituinte na posição α do composto que irá sofrer o ataque no C1. Se este substituinte for um grupo de hidroxila, a cadeia lateral será deslocada. Se o substituinte for algo diferente de um hidroxila, ocorrerá um rearranjo do tipo fenol-dienona evitando a fratura da molécula C₉; o resultado é uma ligação β -6. O deslocamento da cadeia lateral mais freqüentemente conduzirá a ligação β -1 mostrada na Figura 6. Com relação à desidrogenação enzimática, é interessante mencionar que nesse caso ela não leva à polimerização, mas antes leva à fragmentação do polímero. Mesmo no caso de fragmentação, é pouco provável que qualquer parte da molécula seja perdida do sistema polimérico; mesmo as cadeias laterais deslocadas permanecem presas a outras moléculas. Portanto, em resumo, pode se dizer que a desidrogenação pode

levar à polimerização ou fragmentação do polímero durante a formação da lignina; existem polimerizações que não são baseadas em desidrogenação mas sim na adição à quinonametídeos intermediários.

O mecanismo de polimerização descrito acima se refere às reações entre os monômeros precursores da lignina. A grande diferença no acoplamento entre monômeros e entre oligômeros é que no último caso existe um número menor de sítios dentro da molécula de fenilpropano disponíveis para a formação de ligações interunitárias. Além disso, os oligômeros possuem uma menor solubilidade e difusibilidade por causa do tamanho de suas moléculas. Portanto, o acoplamento entre oligômeros parece ser muito pouco provável. Se esse tipo de acoplamento ocorresse ("bulk polymerization") era de se esperar a existência de um grande número de cadeias laterais insaturadas na lignina. Entretanto, a quantidade dessas cadeias na lignina é bastante baixa. Acredita-se que a reação ocorre via deposição passo a passo ("endwise polymerization") de monômeros a extremidades de um polímero em crescimento em vez da combinação entre oligômeros (Fengel, Wegener, 1989). A polimerização passo a passo se torna mais provável ainda, quando se leva em conta que a concentração de monômeros na zona de reação é muito baixa.

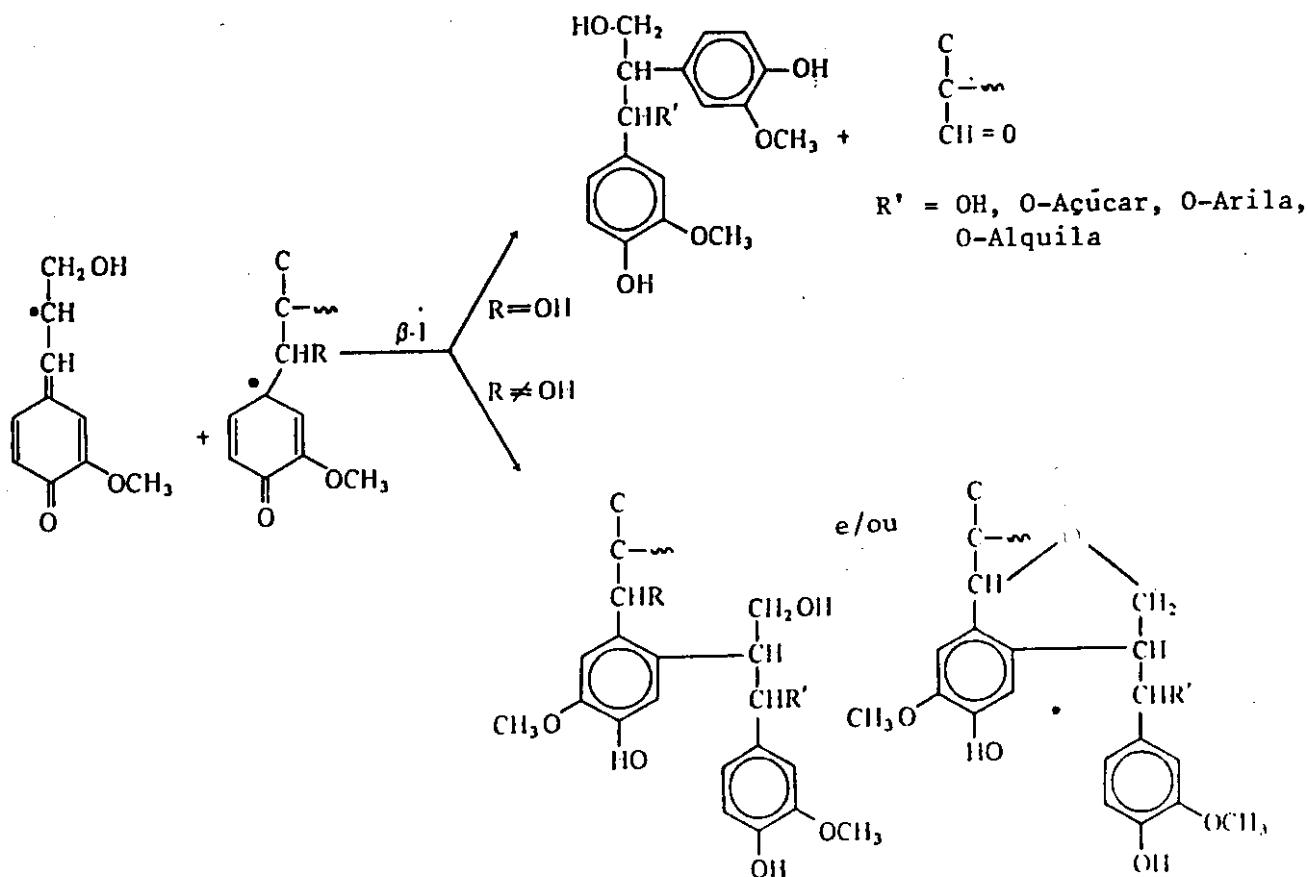


Figura 6. Exemplo de reações de deslocamento da cadeia lateral e rearranjo fenol-dienona

A combinação de radicais monoméricos com os grupos terminais fenólicos somente através de acoplamentos $\beta-0-4$ e $\beta-5$ levaria à formação de um polímero linear. Entretanto, a formação de ramificações pode ocorrer através da formação de estruturas do tipo benzil-aril-éter. Adicionalmente, o acoplamento 5-5 que forma estruturas de bifenila e 5-0-4 que forma estruturas de éter-diarila produzem

ramificações adicionais. A formação de estruturas de bifenila e éter-diarila ocorre no acoplamento entre 2 radicais das extremidades do polímero em vez do acoplamento entre um radical monomérico e um radical da extremidade do polímero (Glasser, 1980).

2.3. Controle da Lignificação no Desenvolvimento da Planta

Do ponto de vista morfológico, as moléculas crescentes de lignina são obrigadas a preencher os espaços existentes entre as fibrilas polissacarídicas da parede celular. A incorporação da lignina de natureza hidrofóbica leva ao desinchamento da parede celular. Resultados obtidos de estudos de microscopia ultravioleta, fluorescente e eletrônica, têm confirmado que a lignina se deposita inicialmente nos cantos das células após o término do alargamento da célula e antes do início do espessamento da parede secundária (S1). A lignificação prossegue na lamela média (LM) e parede primária (P), começando nas paredes tangenciais e se espalhando centripetalmente. A lignificação da lamela média composta (M+P) continua durante a diferenciação das camadas S1 e S2 e até a formação da parede terciária, o que indica que a lignificação é um processo permanente durante a diferenciação da parede celular, com um atraso em relação à síntese das celulose e hemiceluloses (Sederoff, Chang, 1991).

Hoje em dia considera-se a lignificação um processo controlado pelas células individuais do xilema, i.e. um processo intracelular, sem a participação das células do câmbio (exceto no papel de armazenamento dos precursores) (Fengel, Wegener, 1989). Esta suposição pode explicar a descoberta de fibras e esclerídeos em processo de lignificação muito tempo depois destas células terem sido produzidas pelo câmbio. Outros fatos que sugerem um processo intracelular são a existência de tipos diferentes de lignina em células diferentes do mesmo tecido vegetal e a existência da enzima fenilalanina amônia liase (PAL), uma enzima da rota do ácido shiquímico, na parede celular de uma célula de xilema em processo de lignificação mas sua ausência no câmbio da mesma planta (Fengel, Wegener, 1989).

Não se sabe ainda como os precursores da lignina chegam até a LM e regiões externas da parede celular. Aparentemente, os precursores são sintetizados e armazenados em vesículas derivadas principalmente das vesículas de Golgi, parcialmente do retículo endoplasmático, e, finalmente, supridos à parede celular. O mecanismo de transporte dentro da parede celular é desconhecido.

3. CARACTERIZAÇÃO E ESTRUTURA DA LIGNINA

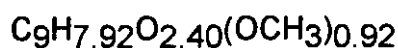
3.1. Composição Elementar

Uma caracterização preliminar da lignina é feita pela determinação da composição elementar e do conteúdo de grupos de metoxila. Valores para a composição elementar e conteúdo de metoxilas em diversas ligninas são dados na Tabela 2 (Fengel, Wegener, 1989). Pode-se verificar pelos dados mostrados que o conteúdo de carbono nas MFL é geralmente mais alto do que nas MFC. Isto se deve ao mais alto conteúdo de oxigênio nas MFC, devido ao maior conteúdo de grupos de metoxila na lignina das MFC comparado com as ligninas das MFL.

TABELA 2. Composição Elementar e Conteúdo de Grupos de Metoxila em Ligninas de Moagem de Madeira (MWL) das MFL e MFC

Espécie	% C	% O	% H	% OCH ₃
MFL				
<i>Picea abies</i>	63,8	6,0	29,7	15,8
<i>Araucaria angustifolia</i>	59,1	5,6	35,3	17,8
<i>Pinus taeda</i>	61,6	5,9	32,5	14,0
<i>Tsuga heterophylla</i>	63,4	6,3	29,8	15,7
MFC				
<i>Eucalyptus regnans</i>	59,2	6,3	33,6	22,9
<i>Populus tremuloides</i>	60,0	6,1	33,9	21,5
<i>Gmelina arborea</i>	58,7	5,8	35,5	19,3
<i>Fagus silvatica</i>	60,2	5,9	33,9	21,7
<i>Betula verrucosa</i>	58,8	6,5	34,0	21,4

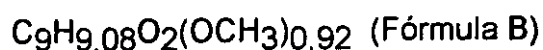
A análise da composição elementar da lignina Bjorkman, de madeira de abeto (*Picea abies*) sugere a seguinte fórmula elementar baseada no C₉ (Glasser, 1980):



Considerando-se que o material de origem, o álcool coniferílico, tem 2 átomos de oxigênio, o excesso de oxigênio pode ser escrito como pertencente às moléculas de água adicionadas durante a polimerização:



O fato do conteúdo de grupos de metoxila ser menor que 1,0 pode ser atribuído à copolimerização do álcool coniferílico com quantidades menores de álcool p-coumarílico que não possui grupos de metoxila. Adicionalmente, uma pequena fração de álcool sinapílico (com 2 CH₃O-) pode também ser incorporada. Freudenberg assumiu que a relação entre esses álcoois na formação da lignina de abeto era de 80:14:6, que corresponde a 0,8 + 2(0,06) = 0,92 OCH₃. O conteúdo de hidrogênio para tal mistura seria 10 - 0,92 = 9,08 e a composição ficaria então:



A subtração entre B e A indica que ocorre uma perda de 1,96 H e a adição de 0,40 moléculas de água durante a formação da lignina de abeto. Estes resultados estão em acordo com a já consagrada teoria de que a lignina é formada por uma polimerização desidrogenativa de uma mistura de 3 álcoois p-hidroxicinâmicos e que uma certa quantidade de água é adicionada durante o processo (Glasser, 1980).

Para a lignina Bjorkman de uma madeira de folhosa (*Fagus silvatica*) foi determinada a fórmula mínima C₉H_{6,43}O₂(H₂O)_{0,53}(OCH₃)_{1,39} que corresponde à perda de 2,18 átomos de hidrogênio durante a polimerização. Para uma gramínea (*Medicago sativum*, alfalfa) a fórmula molecular foi determinada ser

$C_9H_{7,22}O_2(H_2O)_{0,41}(OCH_3)_{0,84}$, indicando uma perda de 1,90 H durante a polimerização desidrogenativa.

3.2. Grupos Funcionais da Lignina

Os principais grupos funcionais da lignina são os grupos de hidroxila alifática e fenólica, álcool e éter benzílicos, carbonila e metoxila. A frequência desses grupos pode variar de acordo com a localização morfológica das ligninas e com a espécie vegetal. Alguns valores típicos são apresentados na Tabela 3 (Glasser, 1980).

TABELA 3. Grupos Funcionais da Lignina por 100 Unidades C_9

Grupo Funcional	Lignina de Abeto
Metoxila	90
Hidroxila fenólica livre	20
Hidroxila benzílica	20
Hidroxila alifática	90
Hidroxila + éter benzílicos	40
Éter fenólico	80
Oxigênio fenólico	100
Carbonila	20
Aldeído coniferílico	5

3.3. Principais Subestruturas da Lignina

Os resultados das reações de degradação e análise dos grupos funcionais de ligninas ajudaram a elucidar as principais subestruturas da lignina, mostradas na Figura 7 (Sjostrom, 1981). Deve-se mencionar que as ligninas também contêm uma grande variedade de subestruturas secundárias.

Mais de dois terços das unidades de fenilpropano da lignina são unidas por ligações éter e o restante por ligações carbono-carbono. As proporções de cada uma das ligações são apresentadas nas Tabela 4 para uma MFL (abeto) e uma MFC (bétula) (Adler, 1977). Pode se verificar que a mais importante ligação interunitária na lignina é do tipo arilglicerol- β -aril-éter.

TABELA 4. Percentagem dos Diferentes Tipos de Ligações em Lignina Isolada (MWL) de Bétula (*Betula verrucosa*) e Abeto (*Picea abies*)

Tipo de ligação ^a		Bétula			Abeto
		Guaiacil	Siringil	Total, %	%
A	Arilglicerol- β -aril-éter	22-28	34-39	60	48
B	Gliceraldeído-2-aril-éter				2
C	Benzil-aril-éter cíclico				6-8
D	Fenilcoumarano				9-12
E	Estruturas condensadas nas posições 2 e 6	1-1,5	0,5-1	1,5-2,5	2,5-3
F	Bifenila	4,5		4,5	9,5-11
G	Éter diarila	1	5,5	6,5	3,5-4
H	1,2-diarilpropano			7	7
I	Estruturas β - β			3	2

^aLetras de A até I são definidas na Figura 7

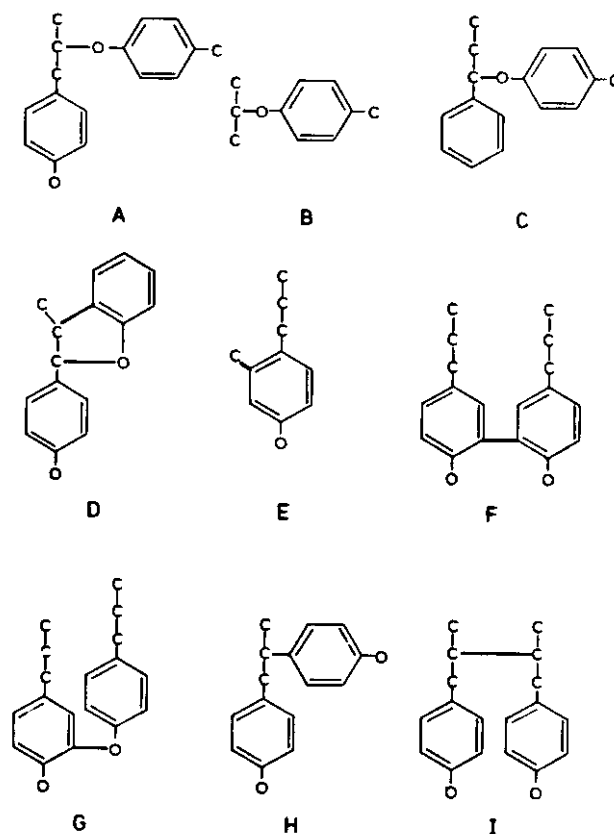


Figura 7. Principais subestruturas da lignina.

3.4. Estrutura Química da Lignina

A polimerização contínua dos precursores da lignina, de acordo com os mecanismos apresentados nas seções anteriores, leva à formação da lignina, um polímero polifenólico, ramificado e tridimensional. Quando se desenha uma estrutura configuracional para a lignina, o modelo deve ser construído com base em: 1) mecanismos de polimerização já comprovados e aceitos e 2) todas as observações experimentais primárias feitas durante o isolamento, a análise e as reações da lignina (Glasser, 1980). Desde que nenhum modelo estrutural disponível até o presente satisfaz completamente a todos esses requisitos, a qualidade de um modelo estrutural da lignina tem de ser julgado com base na sua aproximação ao modelo ideal. Tem sido proposto um número substancial de estruturas de lignina que são fundamentadas na teoria da polimerização desidrogenativa dos álcoois p-hidroxicinâmicos. Estes modelos têm sido revistos, modificados e revisados muitas vezes mas os seus conceitos principais permanecem inalterados. Um modelo baseado em 81 unidades de fenilpropano com um peso molecular total de cerca de 15000 daltons é mostrado na Figura 8. Este modelo foi desenvolvido por Glasser seguindo os critérios mencionados anteriormente, através de simulação por computador (Glasser, 1980). Desde sua publicação em 1974, várias melhorias e revisões têm sido sugeridas para explicar mais acuradamente vários fenômenos analíticos. O mais recente modelo proposto por Glasser contém 94 unidades de

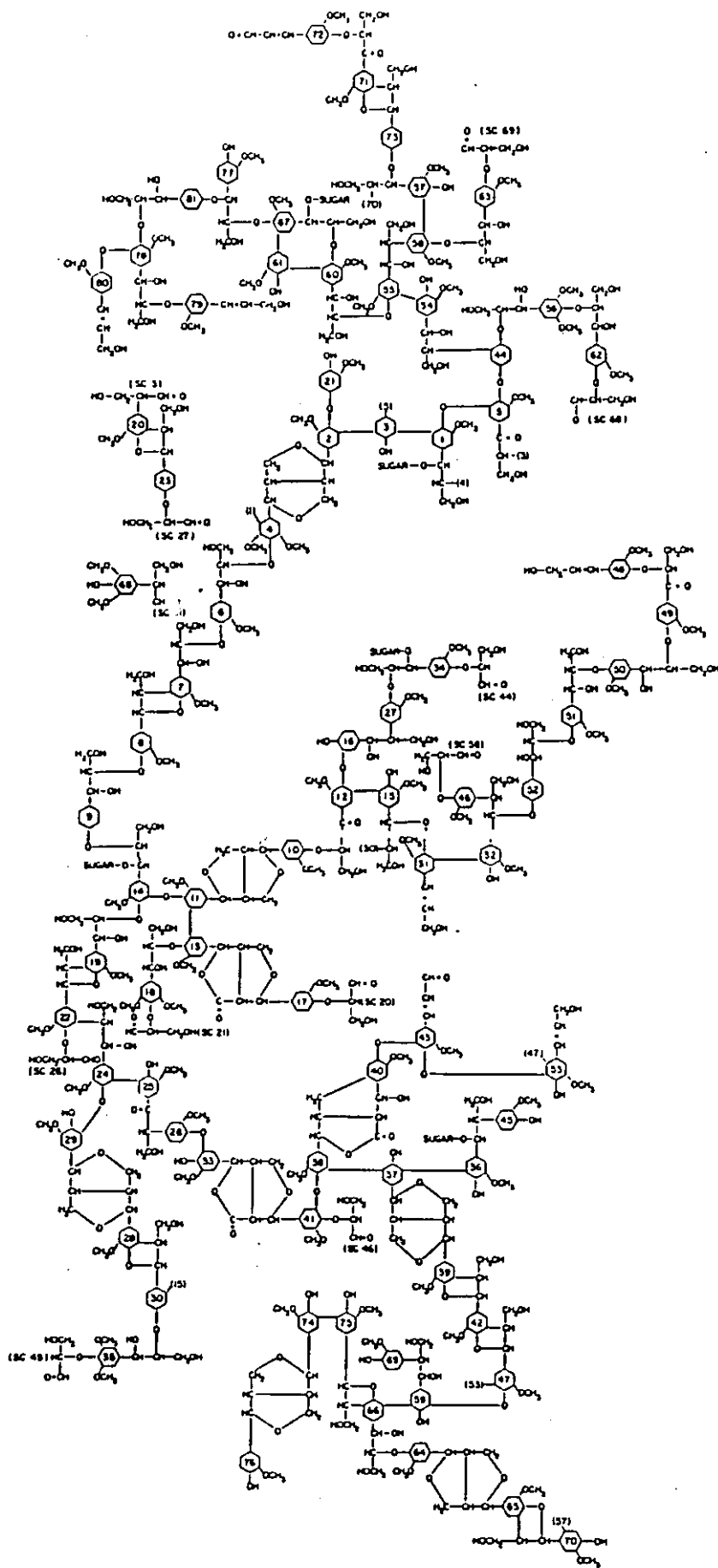


Figura 8. Um modelo estrutural para uma lignina de MFL avaliado por computador

fenilpropano e um peso molecular acima de 17000 daltons (Fengel, Wegener, 1989).

3.5. Ligações entre a Lignina e os Polissacarídeos

É geralmente aceito que a lignina não é simplesmente depositada entre os polissacarídeos da parede secundária mais que ela está intimamente associada à fração polissacarídica da parede celular. A associação íntima entre as frações polissacarídicas e de lignina na parede celular tem sido denominada de complexo lignina-carboidrato (CLC) ou complexo lignina-polissacarídeo (LPC). Essas expressões foram propostas para descrever o fato de que é impossível isolar uma lignina sem haver algum resíduo polissacarídico no preparo (Fengel, Wegener, 1989). Acredita-se hoje em dia que existem ligações químicas covalentes entre a lignina e os polissacarídeos nos CLC. Os fragmentos polissacarídicos nos CLC podem ser derivados de xilanas ou mananas. Complexos de lignina-xilana foram isolados das MFC enquanto ambos os complexos de lignina-xilana e lignina-manana foram isolados das MFL (Fengel, Wegener, 1989).

Tem-se preparado compostos modelos dos CLC no laboratório pela reação entre quinonametídeos (intermediários da biossíntese de lignina) e açúcares levando à formação de éteres p-hidroxibenzílicos. A reação ocorre em qualquer grupo de hidroxila livre do açúcar (com preferência para o C₆-OH) (Fengel, Wegener, 1989). Porém, resultados de experimentos que tentam simular a síntese enzimática de ligações entre a lignina e os polissacarídeos dependem das condições de reação utilizadas e portanto não se tem ainda uma idéia clara das ligações existentes entre a lignina e os polissacarídeos na parede celular *in situ*.

Nosso conhecimento dos prováveis tipos de ligações entre a lignina e os polissacarídeos tem sido obtido através de estudos de degradação, geralmente hidrólises alcalinas, ácidas ou enzimáticas de madeira, hemiceluloses e lignina. As ligações mais freqüentemente propostas são ligações de éter (estável em álcali), de éster (instável em álcali) e glicosídica (Fengel, Wegener, 1989). É provável que mais de um tipo de ligação exista nos CLC. Considera-se as cadeias laterais de arabinose, galactose e ácido 4-O-metilglucurônico das hemiceluloses os mais prováveis locais de ligação com a lignina, devido a suas posições estericamente favoráveis e ao fato de que a concentração destes açúcares em preparos de CLC estão enriquecidas (Fengel, Wegener, 1989). Foi comprovado também que estes açúcares possuem alta estabilidade contra ruptura oxidativa. Além das ligações covalentes, existem pontes de hidrogênio formadas entre os grupos de hidroxila e de carboxila das hemiceluloses e os grupos alcoólico, de hidroxila fenólica, de carbonila e de oxigênio eterificado da lignina (Chen, 1991).

4. CLASSIFICAÇÃO E HETEROGENEIDADE DAS LIGNINAS

Sabe-se há muito tempo que a lignina das gimnospermas e angiospermas mono- e dicotiledôneas diferem com respeito ao conteúdo de unidades guaiacil, siringil e p-hidroxifenilpropano. Originalmente, as ligninas foram classificadas em três principais grupos: ligninas das MFL (gimnospermas), das MFC (angiospermas dicotiledôneas) e gramíneas. Porém, esta classificação exclui as ligninas das angiospermas monocotiledôneas e das samambaias (*Pteridophyta*), e é

incompatível com as características químicas de algumas das muitas ligninas já analisadas. Uma classificação mais moderna divide as ligninas em dois grupos principais: 1) a lignina guaiacil (tipo G) e 2) a lignina guaiacil-siringil (tipo G-S) com as ligninas 4-hidroxifenil-guaiacil (tipo H-G) e 4-hidroxifenil-guaiacil-siringil (tipo H-G-S) sendo subgrupos dos dois primeiros (Chen, 1991).

Parece existir pouca variação na lignina de diferentes espécies de MFL mas existem grandes diferenças entre espécies das MFC. Essas diferenças são mais pronunciadas no que diz respeito à relação guaiacil/siringil, relação esta que tem uma influência marcante na taxa de deslignificação pelo processo kraft. O conteúdo de unidades de siringil numa lignina típica das MFC tipo G-S varia entre 20 e 60%. A variação nas angiospermas herbáceas é ainda maior (de 10 até 65%) (Glaser, 1980).

Foi verificado que a estrutura da lignina pode variar com relação à sua localização no tronco da árvore. Foi comprovado, por exemplo, que a lignina das partes mais velha do tronco da madeira de *Arundo donax* é mais rica em unidades siringil que a lignina total (Fengel, Wegener, 1989). A lignina do cerne das MFC possui mais siringil do que a do alburno. A lignina das raízes de uma espécie de MFC (*Fagus silvática*) foi demonstrada possuir mais unidades guaiacil que a do xilema da mesma árvore (Fengel, Wegener, 1989).

As ligninas da casca das MFL são basicamente do tipo guaiacil mas elas contêm maior proporção de unidades p-hidroxifenil que a lignina da madeira correspondente (Chen, 1991). As ligninas da casca das MFC são basicamente do tipo guaiacil-siringil mas o conteúdo de siringil é consideravelmente mais baixo que aquele encontrado na madeira correspondente (Chen, 1991).

Um aspecto importante da heterogeneidade da lignina foi elaborado por Fergus e Goring que foram os primeiros a mostrar que a lignina de bétula difere com sua posição na célula (Fergus, Goring 1969). Estudos de microscopia ultravioleta em secções ultrafinas de madeira revelaram que a lignina nas paredes secundárias dos vasos e da lamela média é principalmente lignina tipo G. A lignina da parede secundária dos fibras e raios de parênquima, porém, é composta principalmente de unidades de siringilpropano. A lignina dos lamela média e cantos de células de fibras e células de raio é uma mistura típica de lignina tipo G-S (Tabela 5).

Usando uma técnica de separação de camadas da parede celular, Whiting e Goring (Whiting, 1981) fizeram as seguintes observações: 1) a lignina da parede secundária possui duas vezes mais grupos fenólicos que a da lamela média composta (M+P) e 2) a lignina da M+P tem mais alto conteúdo de p-hidroxifenilpropano e, conseqüentemente, é mais condensada e menos reativa.

TABELA 5. Tipo de Lignina de Acordo com o Tipo de Célula numa MFC

Tipo de célula	Tipo de lignina
Parede celular	
. Fibras, células do raio	S
. Vasos	G
M+P	
. Entre fibras e raios	G-S
. Entre vasos	G

Os resultados experimentais parecem deixar pouca dúvida a respeito da heterogeneidade da lignina, o que leva a crer que a ação enzimática durante o processo de lignificação se estende além da geração de radicais de fenóxido por desidrogenação. As comprovadas diferenças de composição da lignina de certas células e camadas de paredes celulares também sustentam a idéia de uma biossíntese intracelular da lignina.

5. DISTRIBUIÇÃO DAS LIGNINAS NOS TECIDOS VEGETAIS E NAS CÉLULAS

As MFL normais contêm de 26-32% de lignina enquanto as madeiras de compressão possuem teores de lignina variando entre 35-40%. As MFC normais contêm 20-28% de lignina, embora MFC tropicais possam ter conteúdos de lignina acima de 30%. A madeira de tensão das MFC contém somente 20-25% de lignina (Sjostrom, 1981).

A concentração da lignina é alta na lamela média e baixa na parede secundária. Por causa da sua espessura, pelo menos 70% da lignina nos MFL é, entretanto, localizada na parede secundária como foi mostrado por microscopia de ultravioleta quantitativa (Figura 9 e Tabela 6, Fergus et al., 1969). De acordo com Fergus et. al. (1969) a parede secundária das madeiras de compressão das coníferas pode apresentar concentração de lignina entre 55 e 58%. Os resultados são bastante similares para as MFC (Tabela 7) (Fergus, Goring, 1969), embora neste caso exista maiores incertezas analíticas por causa da natureza mais heterogênea da madeira e da presença de unidades guaiacil e siringil na lignina.

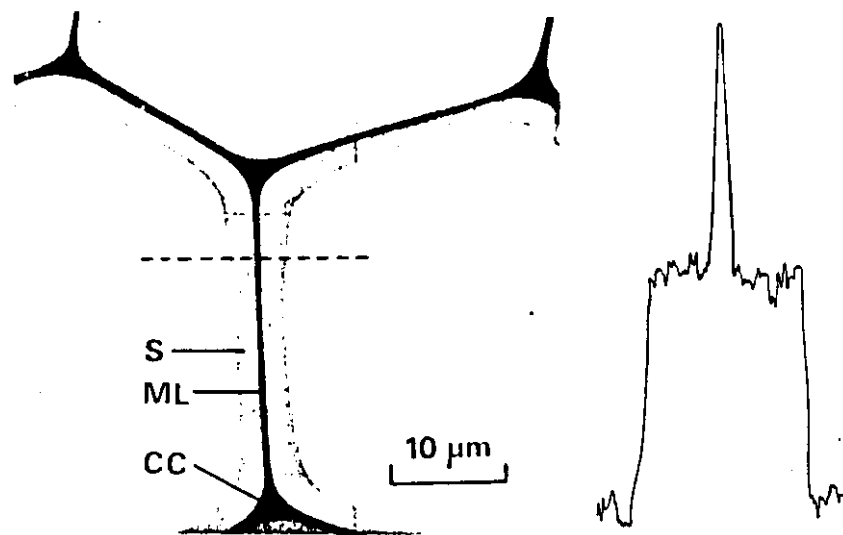


Figura 9. Secção transversal de um traquídeo de abeto fotografado na luz ultravioleta. A medição do densitômetro foi feita através da parede do traquídeo na linha tracejada. (S=parede secundária; ML=lamela média; CC=canto de célula)

TABELA 6. Distribuição da Lignina no Traqueídeo da Madeira de Abeto Preto (*Picea mariana*).

Madeira	Região morfológica ²	Volume do tecido, %	Lignina (% do total)	Concentração da lignina, %
Lenho de	S	87	72	23
Início de	ML	9	16	50
Estação	CC	4	12	85
Lenho de	S	94	82	22
Fim de	ML	4	10	60
Estação	CC	2	9	100

^aPara explicações veja Figura 9.

TABELA 7. Distribuição da Lignina no Xilema de Bétula Branca (*Betula papyrifera*)

Célula	Região Morfológica ^a	Tipo de lignina ^b	Volume do tecido	Lignina (% do total)	Concentração da lignina, %
Fibra	S	S	73	60	19
	ML	G-S	5	9	40
	CC	G-S	2	9	85
Vaso	S	G	8	9	27
	ML	G	1	2	42
Célula do					
Raio	CC	S	11	11	27

^aPara explicações veja Figura 9

^bS = lignina siringil, G-S = lignina guaiacil-siringil, G = lignina guaiacil

6. REAÇÕES DA LIGNINA

A reatividade da lignina tem sido intensivamente estudada por dois motivos: elucidar sua estrutura química e descobrir as suas reações nos processos de polpação e branqueamento.

A degradação da lignina através de reações solvolíticas suaves é o melhor ferimento analítico disponível para estudos estruturais das ligninas. Os procedimentos mais importantes são: a hidrólise suave, a acidólise, a etanólise e a tioacetólise (Fengel, Wegener, 1989).

Nesta seção será apresentado um breve sumário das reações de deslignificação de importância comercial (i.e. na polpação e no branqueamento) baseado no conceito de Gierer (1982a,b).

As reações de deslignificação podem ser classificadas entre reações que ocorrem nos átomos de carbono da cadeia lateral (posições α , β e γ), no núcleo aromático (C1 até C6), na metoxila, ou menos frequentemente, na hidroxila fenólica (Figura 10). De acordo com o conceito proposto por Gierer, a lignina ou fragmentos de lignina são unidades de fenilpropano com elétrons desemparelhados no oxigênio fenólico, o que leva à criação de sítios de alta densidade de elétrons (δ^-) através do sistema de ressonância aromática dos elétrons π . Nas unidades de fenilpropano

não-conjugadas, estes sítios de alta densidade estão nas posições orto e para ao oxigênio fenólico, enquanto que nas unidades que têm uma ligação dupla alifática conjugada ao anel aromático existe mais um sítio de alta densidade de elétrons π , no $C\beta$ da cadeia lateral. Os sítios com deficiência de elétrons (δ^+) são formados pela transição das unidades de fenilpropano aos quinonametídeos intermediários pela eliminação dos substituintes nos carbonos α e γ (Figura 11, Fengel, Wegener, 1989).

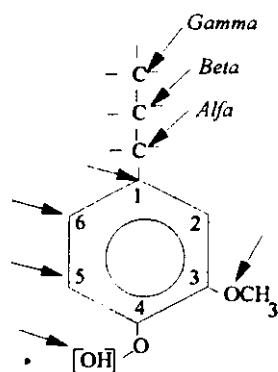


Figura 10. Principais sítios de reação em unidades de fenilpropano da lignina

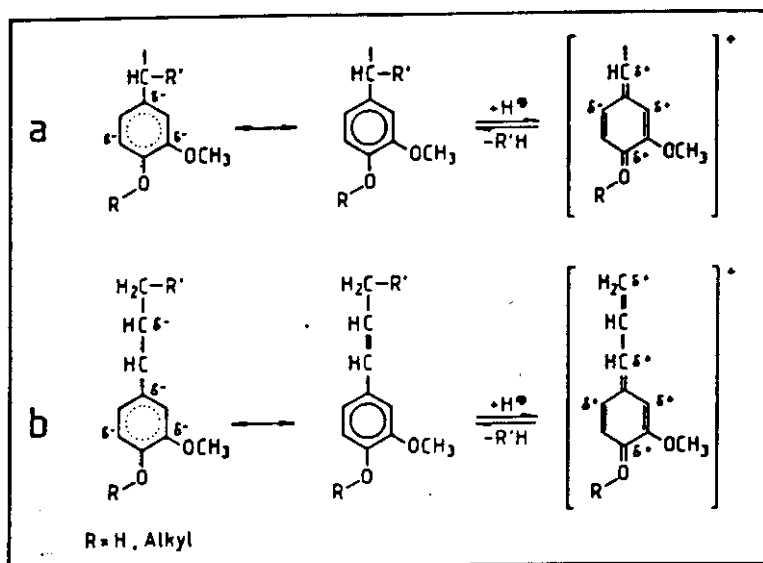


Figura 11. Sítios de alta e baixa densidade de elétrons π nas unidades de fenilpropano da lignina

As posições com alta densidade de elétrons (δ^-) sofrem ataques por eletrófilos enquanto as posições com baixa densidade de elétrons (δ^+) sofrem ataques por nucleófilos. As reações de deslignificação durante a polpação se devem exclusivamente a reações nucleofílicas (Tabela 8) (Gierer, 1982a), enquanto a deslignificação durante o branqueamento se inicia por reações eletrofílicas (Tabela 9) que podem ser seguidas de reações nucleofílicas (Tabela 10) (Gierer, 1982b).

Tablela 8. Reações Que Ocorrem Durante a Polpação

REAGENTE (NUCLEÓFILO)	TIPO(S) DE REAÇÃO	SÍTIOS DO ATAQUE	INTERMEDIÁRIOS OU PRODUTOS
HO ⁻	abstração do próton adição nucleofílica	hidroxilas fenólicas e alifáticas C ^{δ+} nos quinonametídeos intermediários outras enonas intermediárias	fenolatos e alcóolatos álcoois benzílicos e cinamílicos hidroxi-enóis
HS ⁻	adição nucleofílica deslocamento nucleofílico	C ^{δ+} nos quinonametídeos intermediários outras enonas intermediárias C da metoxila	tióis benzílicos e cinamílicos mercapto-enóis metil-mercaptanas
R-O ⁻	deslocamento nucleofílico	C _β nos β-aril-éteres	oxiranas
R-S ⁻	deslocamento nucleofílico	C _β nos β-aril-éteres	tiiranos
HSO ₃ ⁻	adição nucleofílica	C ^{δ+} nos quinonametídeos intermediários outras enonas intermediárias	ácidos sulfônicos benzílicos e cinamílicos enóis-ácidos sulfônicos
SO ₃ ⁻	adição nucleofílica deslocamento nucleofílico	C ^{δ+} nos quinonametídeos intermediários outras enonas intermediárias C _β nas estruturas de β-aril-éter-ácido-α-sulfônico C da metoxila	ácidos sulfônicos benzílicos e cinamílicos enóis-ácidos sulfônicos ácidos α- e β- disulfônicos ácido metanosulfônico
Carbânion (C ⁻)	adição do conjugado	C ^{δ+} nos quinonametídeos intermediários formaldeído	1,1- e 1,3-diarilpropano hidroximetil-ciclohexadienonas
R-ArO ⁻	deslocamento nucleofílico	C _β nos β-aril-éteres	ciclohexadienonas aril-coumaranos
SO ₂ .H ₂ O	adição nucleofílica	C ^{δ+} nos quinonametídeos intermediários do íon oxônio	ácidos α- e γ- sulfônicos

* R representa uma estrutura β-aril-éter ligada a O⁻, S⁻ ou resíduo fenolato na posição α (ou γ)

Tabela 9. Reações Iniciais do Branqueamento

REAGENTE (ELETRÓFILO)	TIPO(S) DE REAÇÃO	SÍTIOS DO ATAQUE	INTERMEDIÁRIOS OU PRODUTOS
Cátions			
Cl ⁺ (do Cl ₂ ou HOCl protonado)	substituição eletrofílica em aromáticos adição eletrofílica a ligações duplas conjugadas adição eletrofílica a outras ligações duplas em olefinas	C ^{δ-} em fenólicos livres e eterificados C ^{δ-} em estruturas conjugadas (Cβ) C ^{δ-} em olefinas	íons de ciclohexadienonila substituídos com Cl íons benzilhos↔oxônios substituídos na posição β com Cl ou íons clorônios cíclicos carbocátions substituídos com Cl ou íons clorônios cíclicos
⁻ O-O-O ⁺ (ozone)	adição eletrofílica adição 1,3-dipolar adição 1,1 inserção	C ^{δ-} em fenólicos livres e eterificados ligações duplas em aromáticos e olefinas ligações duplas em olefinas ligações C-H em álcoois, éteres e aldeídos	trióxidos ozonídeos epóxidos hidrotrióxidos
HO ⁺ (do H ₂ O ₂ ou CH ₃ COOOH protonados)	substituição eletrofílica em aromáticos adição eletrofílica a ligações duplas conjugadas adição eletrofílica a outras ligações duplas em olefinas	C ^{δ-} em fenólicos livres e eterificados C ^{δ-} em estruturas conjugadas (Cβ) C ^{δ-} em olefinas	íons de ciclohexadienonila substituídos com HO íons benzilhos↔oxônios substituídos com HO carbocátions substituídos com HO
Radicais			
Cl [·] (do Cl ₂ , HClO ou ClO ⁻)	abstração do hidrogênio abstração do elétron adição eletrofílica	hidroxilas fenólicas íons de fenolato C ^{δ-} em radicais fenóxidos e ciclohexadienonílicos mesoméricos	radicais fenoxi- e ciclohexadienonila mesoméricos ciclohexadienonas substituídas com Cl
O ₂ [·]	abstração do hidrogênio abstração do elétron adição eletrofílica	hidroxilas fenólicas íons de fenolato C ^{δ-} em radicais fenóxidos e ciclohexadienonilas mesoméricas	radicais fenoxi- e ciclohexadienonila mesoméricos radicais fenoxi- e ciclohexadienonila mesoméricos ciclohexadienonas e quinonametídeos substituídos com OOH
HO [·] e HOO [·] (do H ₂ O ₂)	abstração do hidrogênio abstração do elétron adição eletrofílica	hidroxilas fenólicas íons de fenolato C ^{δ-} em radicais fenóxidos e de ciclohexadienonilas mesoméricas radicais β	radicais fenoxi- e ciclohexadienonila mesoméricos radicais fenoxi- e ciclohexadienonila mesoméricos ciclohexadienonas substituídas com OOH ou OH quinonametídeos substituídos na posição β com OH ou OOH
ClO ₂ [·]	abstração do hidrogênio adição eletrofílica	hidroxilas fenólicas C ^{δ-} em radicais fenóxidos e de ciclohexadienonilas mesoméricas	radicais fenoxi- e ciclohexadienonila mesoméricos ésteres σ- e ρ-quinol do ácido cloroso

Tabela 10. Branqueamento - Reações Subsequentes

REAGENTE (NUCLEÓFILO)	TIPO(S) DE REAÇÃO	SÍTIOS DO ATAQUE	INTERMEDIÁRIOS OU PRODUTOS
HO ⁻	adição nucleofílica deslocamento nucleofílico	C ^{δ+} em intermediários quinonóides quinonóides substituídos com Cl	ciclohexadienonas substituídas com OH carboxi- e hidroxiciclopentadienos ciclohexadienonas substituídas com OH e Cl
Cl ⁻	adição nucleofílica	C ^{δ+} em intermediários quinonóides outras enonas intermediárias carbocátions substituídos com Cl	ciclohexadienonas substituídas com Cl enóis substituídos com Cl estruturas 1,2-dicloro
ClO ⁻	adição nucleofílica	C ^{δ+} em intermediários quinonóides outras enonas intermediárias	ésteres σ- e ρ-quinol e benzílicos do ácido hipocloroso enóis substituídos com ClO
HOO ⁻	adição nucleofílica	C ^{δ+} em intermediários quinonóides outras enonas intermediárias	hidroperóxidos de ciclohexadienonila e benzila enóis substituídos com OOH

AGRADECIMENTO

Agradecemos o suporte financeiro oferecido pela White Martins Gases Industriais S/A que tornou possível a realização e apresentação deste trabalho.

7. LITERATURA

- Adler, E. (1977). Lignin chemistry - Past, present and future, *Wood Sci. Technol.* **11**:169-218.
- Chen, C-L. (1991). Lignins: Occurrence in woody tissues, isolation, reactions, and structure, in *Wood Structure and Composition*, (M. Lewin, I.S. Goldstein, Eds.), Marcel Dekker, New York
- Fengel, D., Wegener, G. (1989). *Wood - Chemistry, Ultrastructure, Reactions*, Walter de Gruyter, Berlin
- Fergus, B.J., Goring, D.A.I. (1969). The distribution of lignin in birch wood as determined by ultraviolet microscopy. *Holzforschung* **24**:118-124
- Fergus, B.J., Procter, A.R., Scott, J.A.N., e Goring, D.A.I. (1969). The distribution of lignin in sprucewood as determined by ultraviolet microscopy. *Wood Sci. Technol.* **3**:117-138
- Glasser, W.G. (1980). Lignin, in *Pulp and Paper Chemistry and Technology, 3rd Ed., Vol. 1*, (J.P. Casey, Ed.), Wiley Interscience, New York
- Gierer, J. (1982a). The chemistry of deglignification - A general concept, Part I, *Holzforschung* **36**:43-51
- Gierer, J. (1982b). The chemistry of deglignification - A general concept, Part II, *Holzforschung* **36**:55-64
- Sederoff, R., Chang, H-m. (1991). Lignin biosynthesis, in *Wood Structure and Composition*, (M. Lewin, I.S. Goldstein, Eds.), Marcel Dekker, New York
- Sjostrom, E. (1981). *Wood Chemistry: Fundamentals and Applications*, Academic Press, New York
- Whiting, P. (1981). The topochemistry of black spruce tracheids, Tese de PhD, McGill University, Montreal