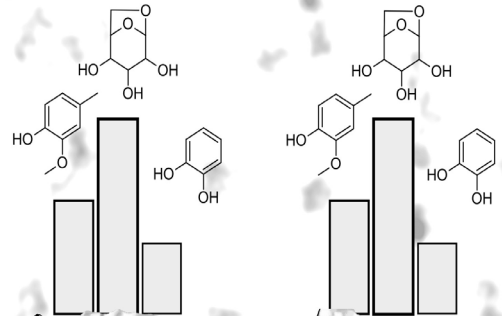


OBJETIVOS DE
DESENVOLVIMENTO
SUSTENTÁVEL12 CONSUMO E
PRODUÇÃO
RESPONSÁVEISCOMUNICADO
TÉCNICO

496

Colombo, PR
Novembro, 2023

Extrato pirolenhoso: caracterização química, estabilidade térmica e efeito inibidor da germinação de sementes de *Bidens pilosa* L. (picão-preto)

Leopoldo Luiz Gubert Filho
Natália Saudade de Aguiar
Fabrício Augusto Hansel
Edson Alves de Lima

Extrato pirolenhoso: caracterização química, estabilidade térmica e efeito inibidor da germinação de sementes de *Bidens pilosa* L. (picão-preto)¹

¹ Leopoldo Luiz Gubert Filho, engenheiro-agrônomo, estudante de mestrado em Agronomia na Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR; Natália Saudade de Aguiar, engenheira florestal, estudante de doutorado em Ciências Florestais na Universidade Federal do Paraná, PR; Fabricio Augusto Hansel, bacharel em química, doutor em Química Analítica, analista da Embrapa Florestas, Colombo, PR; Edson Alves de Lima, licenciado em Ciências Agrícolas, doutor em Produção Vegetal, pesquisador da Embrapa Florestas, Colombo, PR.

Introdução

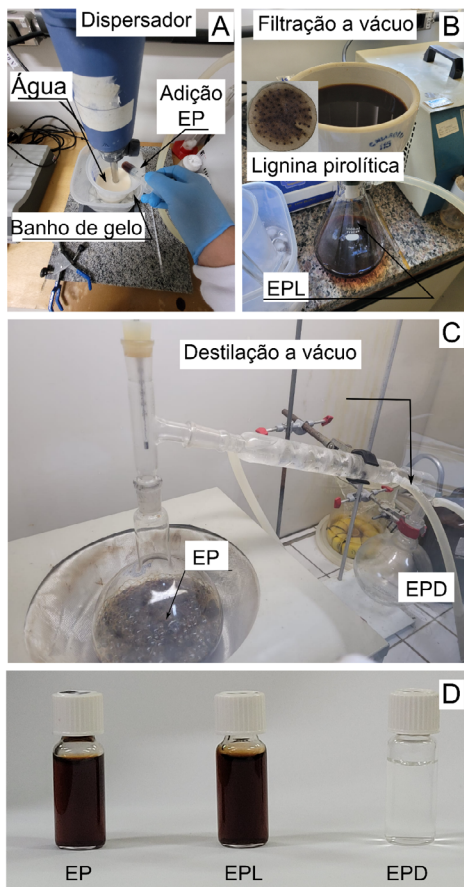
A pirólise da biomassa, ou seja, a queima de material vegetal em altas temperaturas e na ausência ou suprimento limitado de oxigênio, tem como um de seus subprodutos o bio-óleo, fração obtida pela condensação dos gases (Grewal et al., 2018). Esse produto pode ser dividido em uma parte ácida com alto teor de água, denominada ácido pirolenhoso ou extrato pirolenhoso (EP), e uma parte concentrada em compostos orgânicos conhecida como alcatrão (Cordella et al., 2012). O bio-óleo é caracterizado por uma ampla gama de compostos voláteis e reativos, o que resulta em uma baixa estabilidade química, e ao longo do tempo é possível observar um aumento da massa molecular média, viscosidade e conteúdo de água total (Czernik et al., 1994). Várias alternativas têm sido propostas para aumentar a estabilidade do bio-óleo,

como: armazenamento em diferentes temperaturas e adição de álcoois de baixo peso molecular, destilação e fracionamento para a remoção da lignina pirólítica (Scholze; Meier, 2001; Capunitan; Capareda, 2013; Zhang et al., 2017; Cai et al., 2019). Fases purificadas de bio-óleo e similares ao EP (solúveis em água) são mais estáveis que sua fração orgânica (Ren; Ye, 2018), porém a estabilidade do EP é pouco estudada. Pensando em uma possível aplicação deste produto, é importante que este seja estável quimicamente por longos períodos, sem perder sua eficácia.

A utilização do EP na agricultura de forma correta e eficaz pode se tornar uma alternativa de destinação para este subproduto (Cordella et al., 2012). O EP tem diversos usos potenciais agrícolas, como estimulante do crescimento vegetal, do enraizamento de propágulos, antifúngico, antibacteriano e inseticida, por exemplo (Grewal et al., 2018). Um estudo

anterior demonstrou a eficiência do EP na inibição da germinação de sementes de espécies de plantas daninhas, indicando o seu potencial como herbicida pré-emergente (Zeferino et al., 2018). O presente trabalho analisa quimicamente o extrato pirolenhoso, a sua estabilidade térmica e a eficiência do extrato pirolenhoso puro (EP), fracionado via destilação (EPD) e com a retirada da lignina pirolítica (EPL), como inibidor da germinação de sementes de picão-preto.

O EP utilizado nos testes foi proveniente da pirólise lenta de *Eucalyptus* sp.. Os tratamentos utilizados para melhorar a estabilização do EP foram a retirada da lignina pirolítica residual (EPL) e a destilação (EPD). Para a retirada da lignina pirolítica do EP adicionou-se, por gotejamento, 375 mL de extrato pirolenhoso em 125 mL de água ultrapura sob temperatura de 3 °C e 17.000 rpm, no intervalo de 10 minutos. Após a adição, manteve-se a solução sob 17.000 rpm, por mais 15 minutos. Posteriormente, a solução foi filtrada com o auxílio de uma bomba de vácuo, um kitassato e filtro de papel (14 µm). O sobrenadante consiste no EP sem lignina pirolítica (EPL), enquanto a lignina pirolítica (sólido) foi seca em estufa sob temperatura de 50 °C, por 24 horas, e sua massa foi pesada. Para a amostra destilada (EPD), realizou-se a destilação simples (500 mL de extrato pirolenhoso) utilizando vácuo, no qual a temperatura de destilação se manteve em 73 °C, até a obtenção de 250 mL de destilado (Figura 1).



Fotos: Leopoldo Luiz Gubert Filho

Figura 1. Tratamentos utilizados para avaliar a estabilização do extrato pirolenhoso (EP): (A, B) extração da lignina pirolítica; (C) destilação a vácuo; (D) extrato pirolenhoso (EP) e após a retirada da lignina pirolítica (EPL) e destilação (EPD).

A estabilidade dos produtos gerados foi avaliada por meio de envelhecimento acelerado (Meng et al., 2015), no qual foram adicionados 2 mL do EP, EPL e EPD em tubos Eppendorf previamente tarados e, posteriormente, acondicionadas em bloco térmico (80 °C por 24 horas). Em seguida, as amostras foram

centrifugadas (7 minutos 12.000 rpm) e o sobrenadante retirado, sendo a massa dos sólidos mensuradas. As concentrações dos sólidos gerados no envelhecimento térmico e na retirada da lignina pirolítica foram calculadas tendo como base o volume das amostras (mL) em quadruplicata. Os dados não seguiram uma distribuição normal e, dessa forma, foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com 5% de probabilidade de erro, sendo os grupos comparados pelo teste LSD (R Core Team, 2016).

Por fim, a composição química do extrato pirolenhoso e seus derivados in natura ou envelhecidos foram caracterizados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS), no qual 10 µL de amostra e 40 µL 5α-colestano (0,2 mg mL⁻¹, padrão interno) foram adicionados em tubo Eppendorff e secos sob temperatura ambiente e vácuo por 1 hora. Em seguida, as amostras foram derivatizadas com 50 µL de cloridrato de metilamina em piridina (20 mg mL⁻¹) e, posteriormente, 50 µL de MSTFA; ambos os processos incubados no bloco térmico por 90 minutos sob temperatura de 40 °C. As amostras foram transferidas aos inserts (150 µL) e acondicionadas em vials (2 mL), para injeção automática no GC-MS (1 µL) (TripPlus AS, Focus GC, Polaris Q, Thermo). As amostras foram injetadas com divisão de fluxo 1:25 e separadas por coluna cromatográfica modelo DB-5 (30 m x 0,25 mm Thermo). A separação dos compostos foi feita com a temperatura do injetor medindo 230 °C, linha de transferência

medindo 250 °C, gás de arraste hélio com 1,5 mL min⁻¹, sob fluxo constante e compensação à vácuo. Programação de temperatura do forno: 70 °C, isoterma de 4 minutos, aquecimento até 320 °C na taxa de 3 °C min⁻¹, com isoterma final de 5 minutos. O espectrômetro de massas foi operado no modo positivo com eletroionização de 70 eV, com temperatura da fonte de íons medindo 200 °C. Os cromatogramas gerados pelo software Xcalibur foram transferidos para o software AMDIS (Automated Mass Spectral Deconvolution, NIST). A partir do processo de deconvolução do AMDIS, os compostos foram identificados por meio de seus espectros de massas e índice de retenção (IR). Os compostos identificados foram semiquantificados a partir da altura do pico gerado pelo fragmentograma característico para cada composto (três principais fragmentos, m/z) e, então, as intensidades foram normalizadas pelo volume das amostras e padrão interno (5α-colestano). Os dados foram analisados pela estatística não paramétrica, utilizando o teste de Kruskal-Wallis com 5% de probabilidade de erro, sendo os grupos comparados pelo teste LSD.

Para testar a eficácia dos produtos obtidos como inibidores da germinação de sementes, foram realizados testes com *Bidens pilosa* L. (picão-preto), espécie herbácea considerada como invasora. O experimento foi realizado em caixas do tipo gerbox contendo 50 sementes, com quatro repetições (200 sementes por tratamento). Duas folhas de papel mata-borrão foram embebidas em uma

solução de extrato pirolenhoso e água destilada. O volume total da solução consistia em 2,5 vezes o peso do substrato em cada repetição, sendo 13 mL por gerbox. Para o preparo da solução de extrato pirolenhoso foi considerado um volume de calda de 100 L ha⁻¹ do produto, calculado para a área do gerbox (11 cm x 11 cm), resultando em 121 µL gerbox⁻¹. As caixas gerbox foram alocadas em câmara de germinação tipo BOD, com fotoperíodo de 8 horas e temperatura constante de 25 °C. A avaliação foi realizada aos dez dias, considerando como germinadas somente as plântulas normais (Brasil, 2009). As porcentagens de germinação foram submetidas à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott Knott com 5% de probabilidade de erro.

Com os processos de retirada da lignina pirolítica e de destilação, obtiveram-se três frações do extrato pirolenhoso (Figura 1): o extrato pirolenhoso (EP), o extrato pirolenhoso sem a lignina

pirolítica (EPL) e o extrato pirolenhoso destilado (EPD). A partir da cromatografia gasosa foi possível identificar 65 compostos nas diferentes amostras. Para comparação da composição química da amostra original (EP) com os tratamentos (EPL e EPD), foram selecionados os dez compostos que apresentaram as maiores concentrações. Dentre os compostos citam-se aqueles oriundos da pirólise da celulose/hemicelulose (como xilose, arabinose, ácido 2-hidroxi-hexanedióico levoglucosano) e derivados da lignina (como 4-metil siringol, 4-etil siringol e siringol), além do catecol, que pode ser derivado tanto de carboidratos como da lignina (Pastorova et al., 1994, Del Río et al., 2005). Os compostos mais abundantes nas amostras foram o levoglucosano, seguido de catecol e 4 metil-siringol (Figura 2).

A destilação foi eficiente em separar os compostos, principalmente os derivados dos açúcares (Figura 2B). A retirada da lignina pirolítica, por sua vez,

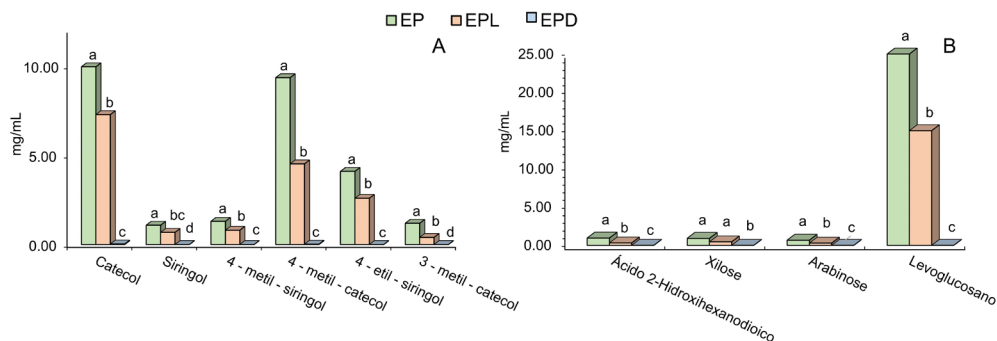


Figura 2. Concentrações dos derivados da lignina (A) e derivados da celulose/hemicelulose (B) nas amostras do extrato pirolenhoso (EP), extrato pirolenhoso sem a lignina pirolítica (EPL) e o extrato pirolenhoso destilado (EPD). Comparação de média entre os produtos para cada composto pelo teste de Kruskal-Wallis com 5% de probabilidade de erro, sendo os grupos comparados pelo teste LSD.

reduziu parcialmente a concentração de todos os compostos, devido à diluição da amostra durante o processo de extração da lignina (Figura 2). Também pode-se observar que os compostos analisados não tiveram suas concentrações alteradas com o envelhecimento térmico. O envelhecimento acelerado por temperatura teve como objetivo avaliar a estabilidade térmica do EP e dos tratamentos de retirada da lignina e de destilação; dessa forma, demonstrou-se que o produto é estável.

A quantidade de sólidos gerados pelos tratamentos de envelhecimento acelerado não diferiu entre EP e EPL; entretanto, houve redução significativa da quantidade de sólidos com a destilação (EPD) (Figura 3). A presença de sólidos gerados após os tratamentos é um indicativo do aumento da viscosidade do material, que está relacionada à possível polimerização causada pelo envelhecimento (Meng et al., 2015). Dessa forma, é possível afirmar que a retirada da lignina pirolítica não melhorou a estabilidade química dos compostos, enquanto a destilação aumentou significativamente a estabilidade, por gerar menos resíduos sólidos.

Considerando a semelhança entre as amostras EP e EPL, com ressalva somente pela diminuição da concentração dos compostos alvos, a retirada da lignina pirolítica não se mostrou interessante, quimicamente, para o objetivo do trabalho. Assim, foram realizados testes de germinação utilizando somente EP e EPD, buscando a inibição da germinação das sementes. Os tratamentos EP e EPD reduziram significativamente

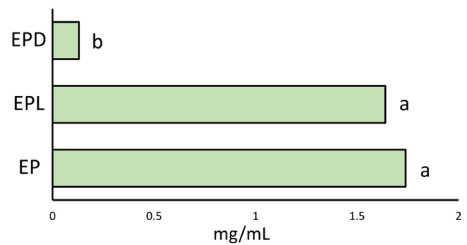


Figura 3. Concentração média dos sólidos gerados nos diferentes tratamentos do extrato pirolenhoso, após o envelhecimento acelerado por temperatura. EP: extrato pirolenhoso puro. EPL: extrato pirolenhoso sem a lignina pirolítica e EPD: extrato pirolenhoso destilado. Médias com letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis com 5% de probabilidade de erro, sendo os grupos comparados pelo teste LSD.

a germinação de sementes *B. pilosa*, sendo o EP o mais eficaz, com uma porcentagem média de germinação de apenas 2% (Figura 4).

O EPD apresenta em sua composição majoritária os compostos ácido láctico, 4-hidroxybutanóico, seringol

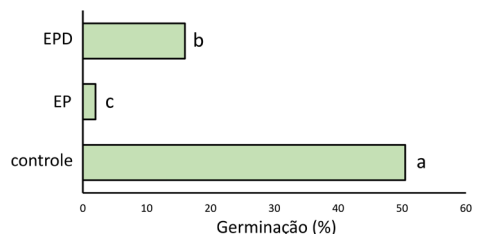


Figura 4. Germinação de sementes (%) de *Bidens pilosa* submetidas à aplicação de extrato pirolenhoso (EP) e extrato pirolenhoso destilado (EPD), comparadas com o tratamento controle (somente água destilada). Volume de “calda” considerado de 100 L ha⁻¹. Comparação de médias pelo teste de Scott Knott ($p < 0,05$).

e catecol. Embora o EPD tenha uma estabilidade química maior (Figura 3), a inibição da germinação de *B. pilosa* foi menor quando comparado ao EP, não sendo vantajoso para esta finalidade. Isso provavelmente está associado à diminuição da concentração dos compostos fenólicos por conta da destilação; a proporção da concentração de catecol entre EP:EPD é 325:1, por exemplo. Na literatura existem relatos sobre o efeito aleloquímico do catecol no controle de *Papaver rhoeas* (papoula) e de *Cirsium arvense* (cardo-das-vinhas), sendo a eficácia desse efeito dependente da concentração aplicada (Topal et al., 2006). Entretanto, destaca-se que, mesmo diminuindo a concentração de fenólicos no EPD, esse ainda se mostrou efetivo como inibidor da germinação.

A efetividade do EP no controle da germinação de algumas sementes de plantas invasoras, dentre elas *B. pilosa*, já havia sido comprovada; entretanto, utilizando um volume de calda de 500 L ha⁻¹ (Zeferino et al., 2018). O teste presente foi reproduzido com o mesmo EP, após dois anos de armazenamento em galão, em local coberto sob temperatura ambiente. Mesmo após esse tempo de armazenamento, e utilizando menor volume de calda (100 L ha⁻¹), o EP se mostrou efetivo, com 98% no controle de germinação das sementes de picão-preto.

Em resumo: (i) o extrato pirolenhoso se mostrou estável quimicamente sob efeito da temperatura; (ii) a retirada de compostos de alto peso molecular via retirada da lignina pirolítica não surtiu efeito na estabilidade térmica do EP.

Após destilação, entretanto, embora mais estável, o produto gerado não apresentou efetividade no controle da germinação de sementes de picão-preto, quando comparado ao EP. Dessa forma, ambos processos apresentam-se dispensáveis; (iii) o EP armazenado em galão escuro, em local coberto sob temperatura ambiente, manteve a efetividade do produto no controle da germinação de *Bidens pilosa*.

Esse trabalho apresenta alinhamento às metas dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Agenda 2030 da ONU, especialmente do ODS 12, por estudar a eficiência de extrato pirolenhoso como inibidor da germinação de sementes de picão-preto, visando à gestão sustentável e o uso eficiente dos recursos naturais.

Referências

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF, 2009. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise_sementes.pdf. Acesso em: 28 mar. 2023.

CAI, W.; KANG, N.; JANG, M. K.; SUN, C.; LIU, R.; LUO, Z. Long term storage stability of bio-oil from rice husk fast pyrolysis. **Energy**, v. 115882, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.energy.2019.115882>.

CAPUNITAN, J. A.; CAPAREDA, S. C. Characterization and separation of corn stover bio-oil by fractional distillation. **Fuel**, v. 112, p. 60-73, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.04.079>.

CORDELLA, M.; TORRI, C.; ADAMIANO, A.; FABBRI, D.; BARONTINI, F.; COZZANI, V.. Bio-oils from biomass slow pyrolysis: a chemical and

toxicological screening. **Journal of Hazardous Materials**, v. 231-232, p. 26-35, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.06.030>

CZERNIK, S.; JOHN, D. K. W.; BLACK, S. Stability of wood fast pyrolysis oil. **Biomass and Bioenergy**, v. 7, p. 187-192, 1994. DOI: [https://doi.org/10.1016/0961-9534\(94\)00058-2](https://doi.org/10.1016/0961-9534(94)00058-2).

DEL RÍO, J. C.; GUTIÉRREZ, A.; HERNANDO, M.; LANDÍN, P.; ROMERO, J.; MARTÍNEZ, A. T. Determining the influence of eucalypt lignin composition in paper pulp yield using Py-GC/MS. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, 74, n. 1-2, p. 110-115, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2004.10.010>.

GREWAL, A.; ABBEY, L.; GUNUPURU, L. R. Production, prospects and potential application of pyrolygneous acid in agriculture. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 135, p. 152-159, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2018.09.008>.

MENG, J.; MOORE, A.; TILOTTA, D. C.; KELLEY, S. S.; ADHIKARI, S.; PARK, S. Thermal and storage stability of bio-oil from pyrolysis of torrefied wood. **Energy Fuels**, v. 29, p. 5117-5126, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.5b00929>.

PASTOROVA, I.; BOTTO, R. E.; ARISZ, P. W.; BOON, J. J. Cellulose char structure: a combined analytical Py-GC-MS, FTIR, and NMR study. **Carbohydrate Research**, v. 262, n. 1, p. 27-47, 1994. DOI: [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(94\)84003-2](https://doi.org/10.1016/0008-6215(94)84003-2).

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2016.

REN, S.; YE, X. P. Stability of crude bio-oil and its water-extracted fractions. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 132, p. 151-162, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2018.03.005>.

SCHOLZE, B.; MEIER, D. Characterization of the water-insoluble fraction from pyrolysis oil (pyrolytic lignin). Part I. PY-GC/MS, FTIR, and functional groups. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 60, p. 41-54, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0165-2370\(00\)00110-8](https://doi.org/10.1016/S0165-2370(00)00110-8).

TOPAL, S.; KOCAÇALIŞKANA, I.; ARSLAN, O. Herbicidal potential of catechol as an Allelochemical. **Zeitschrift für Naturforschung**

C, v. 61, n. 1-2, p. 69-73, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1515/znc-2006-1-213>.

ZEFERINO, I.; LIMA, E. A.; VIEIRA, E. S. N. **Uso do extrato pirolenhoso como adjuvante de herbicida**. Colombo: Embrapa Florestas, 2018. 4 p. (Embrapa Florestas. Comunicado técnico, 429).

ZHANG, L.; LUO, Y.; WIJAYAPALA, R.; WALTERS, K. B. Alcohol stabilization of low water content pyrolysis oil during high temperature treatment. **Energy & Fuels**, v. 31, n. 12, p. 13666-13674, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.7b02276>.

Embrapa Florestas

Estrada da Ribeira, km 111, Guaraituba,
Caixa Postal 319
CEP 83411-000, Colombo, PR
Fone: (41) 3675-5600
www.embrapa.br/florestas
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

1ª edição

Publicação digital (2023): PDF



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA E
PECUÁRIA

**Comitê Local de Publicações
da Embrapa Florestas**

Presidente

Patrícia Póvoa de Mattos

Vice-Presidente

José Elidney Pinto Júnior

Secretária-executiva

Elisabete Marques Oaida

Membros

*Annete Bonnet**Cristiane Aparecida Fioravante Reis**Elenice Fritzsos**Guilherme Schnell E Schuhl**Marilice Cordeiro Garrastazú**Sandra Bos Mikich**Susete do Rocio Chiarello Penteado**Valderés Aparecida de Sousa*

Supervisão editorial/Revisão de texto

José Elidney Pinto Júnior

Normalização bibliográfica

Francisca Rasche (CRB-9/1204)

Projeto gráfico da coleção

Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica

Celso Alexandre de Oliveira Eduardo

Foto da capa

Fabricio Augusto Hansel

CGPE 018373