

Análise de lignina com diferentes massas de tegumento de soja utilizando método gravimétrico

ASSUNÇÃO, G.M.¹; KRZYZANOWSKI F.C.¹; OLIVEIRA NETO, W. de.¹. ¹Embrapa Soja, Caixa Postal, 231, 86001-970, Londrina, Paraná,
e-mail: grettya@cnpso.embrapa.br

Introdução

A lignina é uma macro molécula como polímero de 3-metóxicofenilpropenol e 3-5 dimetóxi-fenilpropenol, muito complexa, sendo o terceiro maior componente da parede celular e o principal constituinte da substância intercelular, responsável pela manutenção da integridade e coesão estrutural das fibras vegetais (BUTLER & BAILEY, 1973).

A lignina é sintetizada pelas plantas a partir da polimerização de álcool p-hidroxicianamil substituindo através da catálise de peroxidases. Sua formação pelos álcoois cianamílicos precursores varia de acordo com o tecido vegetal, idade, clima, luz solar e temperatura (VAN SOEST et al, 1991).

Para verificar a quantidade de lignina no tegumento de soja os métodos mais indicados são os de análise gravimétrica, utilizando ácido sulfúrico, e o método espectrofotométrico UV.

A gravimetria é um método analítico quantitativo onde um elemento ou um composto é separado da amostra. Baseia-se no cálculo da porcentagem das espécies envolvidas em uma reação através da diferença de massa (VOGEL, 1992).

O objetivo deste trabalho foi avaliar as diferenças nos teores de lignina, utilizando diversas massas para a sua determinação pelo método gravimétrico, de duas cultivares de soja.

Material e Métodos

As sementes foram inicialmente imersas em água por aproximadamente 12 horas, em um copo de 50 mL, para separar os tegumentos. Em seguida, os tegumentos das sementes foram secos em estufa, por 16 horas a 105°C, e colocados em um dessecador com sílica em 7% de umidade relativa. Foi utilizado o método do ácido sulfúrico descrito por Bailey (1967) e modificado por Vidaure (1991).

Foram utilizadas quinze subamostras das variedades DOKO e SAVANA, com diferentes massas: 0,25g, 0,3g, 0,5g, 0,75g e 1,0g de tegumento, que foram pesadas e transferidas para frascos de 250 mL de capacidade volumétrica. Cinquenta mililitros de etanol 80% (v/v) foram adicionados a cada frasco contendo fragmentos do tegumento das sementes, sendo o frasco submetido a aquecimento sob refluxo durante 10 min. As amostras foram então filtradas através de filtros de papel. Os filtrados foram descartados e os resíduos submetidos novamente ao mesmo processo. Os resíduos tratados com solução de etanol foram transferidos para frascos de vidro semelhantes

aos descritos anteriormente, em que 100 mL de água destilada deionizada foram adicionados. Os frascos foram submetidos novamente ao aquecimento sob refluxo durante 10 minutos e, em seguida, as amostras foram filtradas. Os filtrados foram descartados e os resíduos tratados da mesma maneira.

Os resíduos foram transferidos para frascos de vidro e 100 mL de oxalato de amônio 0,03 mol/L foram acrescentados. Os frascos foram aquecidos sob refluxo, durante 2 horas, a solução filtrada através de papel filtro e os filtrados descartados. Cem mililitros de solução de ácido sulfúrico 0,5 mol/L foram adicionados a estes resíduos e transferidos para frascos, que foram aquecidos em uma chapa elétrica quente sob refluxo, durante 2 horas. A solução foi filtrada através de um cadinho de porcelana poroso (porosidade média de 40 a 60 micra de diâmetro) sob vácuo. Os filtrados foram descartados e os resíduos retidos no cadinho foram lavados com 50 mL de acetona e transferidos para béqueres, para serem tratados com 20 mL de solução de ácido sulfúrico 50% (v / v). Estes béqueres foram cobertos com vidros de relógio e deixados à temperatura ambiente por 12 horas.

Finalmente os resíduos foram transferidos para frascos de vidro, hidrolisados com 100 mL de água deionizada e aquecidos por 2 horas, sob refluxo. Após o tratamento térmico, a solução foi filtrada novamente em cadinho de porcelana poroso, previamente seco, resfriado em dessecador, pesado em balança analítica e anotada a sua massa, e submetido à filtração a vácuo. Os resíduos (lignina) retidos sobre as placas de vidro do cadinho foram lavados com 200 mL de água destilada deionizada. Os cadinhos com os resíduos foram secos em estufa a 105°C por 18 horas, resfriados em um dessecador com sílica e pesados em balança analítica para quantificar a porcentagem de lignina no tegumento das sementes de genótipos de soja.

Resultados e Discussão

Os dados dos teores de lignina foram comparados utilizando o teste de Tukey, após Análise de Variância, ao nível subsequente de 5% de probabilidade.

Entre os cultivares analisados, foram evidentes as diferenças entre os teores de lignina no tegumento de soja conforme a tabela 1. Tais resultados são similares aos obtidos por Krzyzanowski, et al (2008), utilizando o mesmo método que obteve resultados na cultivar Doko de 6,24% e para Savana 4,24%, utilizando massa de 0,25g.

Na tabela 1, observa-se um aumento significativo nos teores de lignina quando extraída com massas diferentes da metodologia prescrita por Bailey (1967) e modificado por Vidaure (1991). Os resultados indicam que massas acima de 0,30g na metodologia utilizada não devem ser utilizadas para avaliação do teor de lignina no tegumento de soja, devido à falta proporcional de reagentes para ocorrer a oxidação da lignina. Trabalhos de Krzyzanowski, et al (2008), Krzyzanowski, et.al. (1999) e Alvarez, et al (1997) não encontraram valores acima de 7,00% de lignina no tegumento de soja com a massa de 0,25g.

Tabela 1 - Interação entre massas de tegumento x cultivares (valores médios)

Massa (g)	Doko (%)	Savana (%)
0,25	5,80 ^{cA*}	4,52 ^{dB}
0,30	5,77 ^{cA}	4,65 ^{dB}
0,50	15,68 ^{bA}	13,18 ^{cB}
0,75	25,52 ^{aA}	21,67 ^{bB}
1,00	26,61 ^{aA}	25,78 ^{aA}

* Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna, e maiúscula na linha, não diferem pelo teste de Tukey (p = 0,05)

Conclusões

- Entre os cultivares analisados, foram evidentes as diferenças entre os teores de lignina no tegumento.
- O método gravimétrico é eficiente para determinação do teor de lignina com massas de 0,25 e 0,30g;
- Para utilizar massas acima de 0,30g, recomenda-se realizar estudos para adequar a quantidade proporcional de reagentes a massa a ser avaliada.

Referências

- ALVAREZ, P.J.C.; KRZYZANOWSKI, F.C.; MANDARINO, J.M.G.; FRANÇA NETO, J. de B. Relationship between soybean seed coat lignin content and resistance do mechanical damage. **Seed Science and Technology**, Zurich, 25, 209-214.1997.
- BUTLER, G. W.; BAILEY, R. W. **Chemistry and biochemistry of herbage**. London and New York: Academic Press, 1973. v. 3, 416 p.
- JEFFERY, G.J.; BASSET, J.; MENDHAM, J.; DENNEY, R.C., Vogel - **Análise química quantitativa**, 5. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. 712 p.
- KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J. de B.; MANDARINO, J.M.G.; KASTER M. Evalution of lignin conten of soybean seed coat stored in a controlled environment. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.30 n.2, 2008.
- KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J. de B.; MANDARINO, FELISBINO, L.A. Avaliação de métodos para determinação do conteúdo percentual de lignina em tegumento de soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1999, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 1999, p.363 (Embrapa Soja. Documentos, 124).
- VAN SOEST, P. J., ROBERTSON, J. B., LEWIS, B. A. Symposium: carbohydrate methodology,metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal Dairy Science.**, Champaign, v. 74, n. 10,p. 3583-3597, 1991.
- VIDAURE, J.C. **Otimização do processo de pré-tratamento do bagaço de cana- de-açúcar com peróxido de hidrogênio alcalino e sua hidrólise por enzima celulolíticas**. 1991. 130 f. Tese (Mestrado) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.