

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS FENÓLICAS DE
DIFERENTES COBERTURAS FLORESTAIS**

LEISIANI MARIA BATISTA DOS SANTOS

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
FEVEREIRO – 2010**

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS FENÓLICAS DE
DIFERENTES COBERTURAS FLORESTAIS**

LEISIANI MARIA BATISTA DOS SANTOS

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para a obtenção
do título de Mestre em Produção Vegetal.”

Orientador: Prof. Antonio Carlos da Gama-Rodrigues

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
FEVEREIRO – 2010

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS FENÓLICAS DE DIFERENTES COBERTURAS FLORESTAIS

LEISIANI MARIA BATISTA DOS SANTOS

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.”

Aprovada em 24 de Fevereiro de 2010

Comissão Examinadora:

Prof. Gláucio de Mello Cunha (D. Sc., Produção Vegetal) - UFES

Prof^a Emanuela Forestieri da Gama-Rodrigues (Ph. D., Ciência do Solo) - UENF
Co-orientadora

Prof^a Leda Mathias (D. Sc., Química Produtos Naturais) - UENF
Co-orientadora

Prof. Antonio Carlos da Gama-Rodrigues (D. Sc., Ciência do Solo) - UENF
Orientador

“Porque Dele, e por Ele, e para Ele são todas as coisas; glória, pois, a Ele eternamente. Amém!” Rm 11:36.

A Deus,

meu TUDO, meu Rei, meu Pai, minha herança, meu libertador, meu amigo, minha segurança e minha fortaleza. Por seu amor e por sua preciosa presença em minha vida.

AGRADEÇO

Aos meus preciosos pais, Claudio e Francisca, aos meus irmãos, Claudio, João, Paulo e Simone; às minhas cunhadas Catarina, Meiry e Fabiana e às minhas lindas sobrinhas Thaiany Eduarda e Karoliny, pelo amor, incentivo e principalmente, pelas orações e apoio em todas as etapas da minha vida.

DEDICO E OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, o meu carinho e reconhecimento. Em especial agradeço:

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), pela oportunidade;

Ao Laboratório de Solos (LSOL) e ao Laboratório de Produtos Naturais (LCQUI) por toda a estrutura e assistência necessárias à realização desse trabalho;

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de estudos concedida;

À Fazenda Carrapeta e à Almirante Cacau pelo local para coleta das amostras;

Ao Professor Antônio Carlos da Gama-Rodrigues, pela oportunidade de desenvolver esse trabalho, além de todo apoio e amizade no decorrer das atividades;

À querida professora Leda Mathias, pela paciência, incentivo, amizade e ensinamentos. Deixo registrado o meu carinho e admiração;

À professora Emanuela, pelo carinho, confiança, amizade e incentivo;

Aos técnicos do Laboratório de Solos da UENF, Vanilda, Kátia e Ederaldo, pela importante contribuição na etapa de laboratório e campo e por todo carinho e amizade;

Aos colegas Alexandre Fontes, Suzana Garcez e Mirian Peixoto, pela disponibilização de parte de suas amostras, que acabaram sendo incorporadas nos estudos deste trabalho;

Aos colegas do Laboratório de Solos: Joice, Liliana, Maria Kellen, Carmen, Danielle e do laboratório de Produtos Naturais: Fernanda, Roberta, Graziella, Ildomar, Rennê, Dainne, Érica e Emanuela, pela amizade, carinho e pelo auxílio durante a realização do curso de mestrado;

Às minhas queridas amigas Neide, Elaine, Suelem, Vanessa, Rute, Hellen, Alice, Fernanda, Isabela, Andréia, Rogéria, Juliana pelo ótimo convívio, pela grande amizade, amor e carinho, e por terem se tornado como irmãs passando comigo por momentos difíceis durante esse período, assim como por momentos inesquecíveis de alegria e conquistas. Amo demais vocês e as guardarei pra sempre no meu coração!

À minha grande e maravilhosa família pelo carinho, dedicação e estímulo;

Aos meus queridos irmãos da igreja pelo carinho e pelas constantes orações.

“Grandes coisas fez o Senhor por nós, e, por isso, estamos alegres.” Sl 126:3

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E NOMENCLATURAS	xii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xvii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
2.1. Objetivo geral	4
2.2. Objetivos específicos	4
3. REVISÃO DE LITERATURA	6
3.1. Coberturas Vegetais	6
3.1.1. Fragmento florestal de Mata Atlântica em sucessão secundária (capoeira)	6
3.1.2. <i>Acacia auriculiformis</i> (Mimosaceae)	8
3.1.3. <i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Fabaceae)	9
3.1.4. <i>Theobroma cacao</i> (Sterculiaceae)	11
3.1.5. Sistemas agroflorestais de cacau	12
3.2. Metabólitos Especiais	15
3.2.1. Substâncias Fenólicas	16
3.2.2. Atividade Antioxidante	26
4. MATERIAL E MÉTODOS	31

4.1. Coleta do material vegetal	31
4.1.1. Área de coleta das amostras de <i>Acacia auriculiformis</i> (acácia), <i>Mimosa caesalpinifolia</i> (sabiá) e do fragmento florestal de Mata Atlântica em sucessão secundária (capoeira).....	31
4.1.2. Área de coleta das amostras de mata natural, <i>Theobroma cacao</i> (cacau) e dos sistemas agroflorestais de cacau-eritrina e cacau-cabruca.....	33
4.2. Secagem e moagem do material vegetal	34
4.3. Preparação dos extratos.....	34
4.4. Avaliação do teor de polifenóis totais	35
4.5. Avaliação do teor de lignina e celulose.....	36
4.6. Avaliação do teor de flavonóides totais	38
4.7. Avaliação da atividade antioxidante	38
4.8. Análise estatística.....	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1. Estudo das amostras de folha e material fragmentado, de <i>Acacia auriculiformis</i> (acácia), <i>Mimosa caesalpinifolia</i> (sabiá) e Fragmento florestal de Mata Atlântica em sucessão secundária (capoeira), em três estágios de decomposição, coletadas na Fazenda Carrapeta, no Município de Conceição de Macabu, RJ.	40
5.2. Estudo das amostras de folha de mata natural, <i>Theobroma cacao</i> (cacau) e dos sistemas agroflorestais de cacau-eritrina e cacau-cabruca coletados na Fazenda Brasileira, cidade de Uruçuca, Região Sul da Bahia.	49
6. RESUMO E CONCLUSÕES	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
APÊNDICE.....	74

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1A.** Teores de polifenóis totais, flavonóides totais, atividade antioxidante, lignina e celulose em %, de folhas e material fragmentado de três diferentes coberturas vegetais e estágios de decomposição ----- 75
- Tabela 2A.** Teores de polifenóis totais, flavonóides totais, atividade antioxidante, lignina e celulose de folha de cacau fotossinteticamente ativa (FFA), cacau (CE) e cacau (CC)----- 75
- Tabela 3A.** Teores de polifenóis totais, flavonóides totais, atividade antioxidante, lignina e celulose de folha de mata natural (MN), de eritrina (CE) e de árvore de sombra (CC)----- 76
- Tabela 4A.** Teores de polifenóis totais, flavonóides totais, atividade antioxidante, lignina e celulose de folha de eritrina (CE) e de cacau (CE)----- 76
- Tabela 5A.** Teores de polifenóis totais, flavonóides totais, atividade antioxidante, lignina e celulose de folha de árvore de sombra (CC) e de cacau (CC) ----- 76

LISTA DE FIGURAS

- Figura 01.** Serrapilheira de um fragmento florestal de Mata Atlântica em sucessão secundária (Fazenda Carrapeta – Conceição de Macabu/RJ). -----8
- Figura 02.** Serrapilheira de uma cobertura florestal de *Acacia auriculiformis* (Fazenda Carrapeta – Conceição de Macabu/RJ). -----9
- Figura 03.** Serrapilheira de uma cobertura florestal de *Mimosa caesalpiniiifolia* (Fazenda Carrapeta – Conceição de Macabu/RJ)----- 11
- Figura 04.** Sistema agroflorestal de cacau-cabruca (Fazenda Brasileira – Uruçuca/BA).----- 13
- Figura 05.** Sistema agroflorestal de cacau-eritrina (Fazenda Brasileira – Uruçuca/BA).----- 14
- Figura 06.** Principais vias do metabolismo especial e suas interligações. ----- 16
- Figura 07.** Principais substâncias fenólicas derivadas da via do ácido chiquímico. ----- 18

Figura 08. Estrutura dos flavonóides luteolina, quercetina e rutina e os requisitos que definem um flavonóide como potencial oxidante. -----	20
Figura 09. Biossíntese de lignina. -----	23
Figura 10. Lignina tipo G (parte da estrutura) e pontos de ruptura. -----	25
Figura 11. Reação de oxirredução entre DPPH e a Rutina. -----	29
Figura 12. Formação do complexo Flavonóide - Al, em solução metanólica de cloreto de alumínio -----	30
Figura 13. Estrutura do ácido tânico. -----	35
Figura 14. Análises de amostras de acácia, sabiá e capoeira (%) em três diferentes estágios de decomposição. (a) teor de polifenóis totais (CV% das amostras de acácia= 1.82; sabiá= 7.75 e capoeira= 5.33) (b) teor de flavonóides totais (CV% das amostras de acácia= 8,03; sabiá= 11,34 e capoeira= 3.46). (c) atividade antioxidante (CV% das amostras de acácia= 1,49; sabiá= 0.55 e capoeira= 1,36). -----	45
Figura 15. Análises de amostras de acácia, sabiá e capoeira (%) em três diferentes estágios de decomposição. (a) teor de lignina (CV% das amostras de acácia= 1,45; sabiá= 0,10 e capoeira= 0,04). (b) teor de celulose (CV% das amostras de acácia= 0,16; sabiá= 1,48 e capoeira= 0,08). -----	48
Figura 16. Análises em %, de amostras de folha de cacau fotossinteticamente ativa, cacau (CE) e cacau (CC). (a) teor de polifenóis totais (CV%= 5,96); teor de flavonóides totais (CV%= 13,40); atividade antioxidante (CV%= 3,56). (b) teor de lignina (CV%= 0,03); teor de celulose (CV%= 0,05). -----	51
Figura 17. Análises em %, de amostras de folha de mata natural (MN), eritrina (CE) e árvore de sombra (CC). (a) teor de polifenóis totais (CV%= 5,64); teor	

de flavonóides totais (CV%= 2,56); atividade antioxidante (CV%= 2,14). (b) teor de lignina (CV%= 0,34); teor de celulose (CV%= 0,03). ----- 53

Figura 18. Análises em %, de amostras de folha de eritrina (CE) e de cacau (CE). (a) teor de polifenóis totais (CV%= 6,83); teor de flavonóides totais (CV%= 3,17); atividade antioxidante (CV%= 4,68). (b) teor de lignina (CV%= 0,04); teor de celulose (CV%= 0,06). ----- 55

Figura 19. Análises em %, de amostras de folha de árvore de sombra (CC) e de cacau (CC). (a) teor de polifenóis totais (CV%= 3,73); teor de flavonóides totais (CV%= 1,48); atividade antioxidante (CV%= 2,86). (b) teor de lignina (CV%= 0,40); teor de celulose (CV%= 0,02). ----- 57

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E NOMENCLATURAS

UV: Radiação ultravioleta

CO₂: Gás carbônico

N₂: Gás nitrogênio

DPPH: 1,1-difenil-2-picrilhidrazila

PAL: *Fenilalanina amônio liase*

-NH₂: Grupo amino

CHS: *chalcona sintase*

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

SAM: S-adenosil metionina

-OCH₃: Metoxila

-OH: Hidroxila

EROs: Espécies reativas de oxigênio

DNA: Ácido desoxirribonucleico

AlCl₃: Cloreto de alumínio

MeOH: Metanol

FFA: Fotossinteticamente ativa

CE: Sistema cacau-eritrina

CC: Sistema cacau-cabruca

MN: Mata natural

Na₂WO₄. 2H₂O: Tungstato de sódio

Na₂CO₃: Carbonato de cálcio

FDA: Fibra em Detergente ácido

CTAB e $C_{19}H_{42}BrN$: Cetiltrimetil amônio bromídrico

H_2SO_4 : Ácido sulfúrico

AA: Atividade antioxidante

Abs: Absorbância

SAEGDemo: Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas

PFT: Teor de polifenóis totais

FLT: Teor de flavonóides totais

PED: Primeiro estágio de decomposição

SED: Segundo estágio de decomposição

TED: Terceiro estágio de decomposição

LIG: Teor de lignina

CEL: Teor de celulose

CV: coeficiente de variação

RESUMO

SANTOS, LEISIANI MARIA BATISTA DOS, M. Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Fevereiro de 2010. Caracterização química das substâncias fenólicas de diferentes coberturas florestais. Orientador: Prof. Antonio Carlos da Gama-Rodrigues. Co-orientadoras: Prof^a. Leda Mathias e Prof^a. Emanuela Forestieri da Gama-Rodrigues.

Os sistemas florestais e agroflorestais por promoverem grande deposição de resíduos vegetais sobre o solo tornam-se importante fonte de matéria orgânica para o sistema solo, e assim, são considerados agrossistemas conservacionistas. O trabalho teve como objetivo caracterizar quimicamente as substâncias fenólicas presentes em diferentes coberturas florestais e relacionar essas substâncias fenólicas com o processo de decomposição de alguns dos materiais. O estudo foi realizado nos anos de 2003 e 2004 em duas diferentes áreas: Fazenda Carrapeta, no município de Conceição de Macabu, RJ, onde foram analisadas três diferentes áreas sob os plantios puros das espécies arbóreas *Acacia auriculiformis* (acácia), *Mimosa caesalpiniiifolia* (sabiá) e um fragmento florestal de Mata Atlântica em sucessão secundária (capoeira) utilizada como referência adjacente aos plantios puros; e também na fazenda Brasileira, no município de Uruçuca, BA, onde foram estudados diferentes sistemas agroflorestais de cacau (*Theobroma cacao*): cacau-cabruca e cacau com sombreamento definitivo de eritrina (*Erythrina* spp), além da mata natural considerada o sistema referencial. O trabalho foi dividido em duas partes: inicialmente determinaram-se os teores de polifenóis totais, flavonóides totais, atividade antioxidante, lignina e celulose, em

percentagem, comparando os teores nos estágios de decomposição dentro de cada cobertura (acácia, sabiá e capoeira). Já a segunda parte do trabalho consistiu em fazer comparações dos teores destas variáveis entre os diferentes agrossistemas. A análise das amostras de acácia, sabiá e capoeira apresentou maior quantidade de polifenóis totais e flavonóides totais nos estágios iniciais de decomposição. Na análise das amostras de sabiá e capoeira foram encontrados os maiores teores de lignina, principalmente, nos estágios mais avançados de decomposição. Os maiores teores de celulose, no entanto, foram determinados no segundo estágio de decomposição das três amostras analisadas. A análise da amostra de folha de cacau fotossinteticamente ativa apresentou maiores quantidades de substâncias fenólicas solúveis, se comparado com as amostras de folha de cacau (cacau-eritrina) e de folha de cacau (cacau-cabruca). Já a análise da amostra de folha de cacau (cacau-cabruca), em relação a estas amostras, apresentou-se mais rica, em substâncias orgânicas mais resistentes à degradação (lignina), o que torna mais lento o processo de devolução de nutrientes para o solo. A amostra de folha da mata natural, comparada com a amostra de folha das árvores de sombra dos sistemas cacau-eritrina e cacau-cabruca apontaram maior quantidade de substâncias orgânicas que atuam como agentes antioxidantes promovendo melhor proteção para o sistema. As amostras de folhas das árvores de sombra dos sistemas cacau-eritrina e cacau-cabruca possuem maior quantidade de material recalcitrante, ou seja, de mais difícil degradação quando comparado com as amostras de folha de mata natural, o que pode retardar o processo de decomposição e reposição de nutrientes nestes. Os diferentes sistemas agroflorestais, ou seja, suas respectivas amostras de folhas de cacau e de árvores de sombra apresentaram através da análise das diferentes variáveis (polifenóis totais, flavonóides totais, atividade antioxidante, lignina e celulose) uma importante relação entre elas. As amostras de folhas de árvores de sombra dos dois agrossistemas apontaram os maiores teores de polifenóis totais e lignina em comparação às amostras de cacau dos respectivos agrossistemas. Já na análise de celulose, as amostras de folhas de árvores de sombra apresentaram menores teores se comparado com as amostras de folhas de cacau. Além disso, não houve diferença significativa entre as amostras de folhas das árvores de sombra dos dois agrossistemas se comparado com as amostras de folha de cacau dos mesmos, na análise da atividade antioxidante. A única

variável que se diferenciou foi a análise que mediu a concentração de flavonóides totais.

ABSTRACT

SANTOS, LEISIANI MARIA BATISTA, M. Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. February, 2010. Chemical characterization of phenolic substances in different vegetation covers. Advisor: Antônio Carlos da Gama-Rodrigues. Co-advisor: Leda Mathias and Emanuela Forestieri da Gama-Rodrigues.

The forestry and agroforestry systems for promoting large deposition of residues on the soil become important source of organic matter to the soil, and thus are considered agrosystems conservationists. The study aimed to chemically characterize the phenolic substances present in different forest cover and relate these phenolic substances in the process of decomposition of some materials. The study was conducted in the years 2003 and 2004 in two different areas: Farm Carrapeta in the municipality of Conceição de Macabu, RJ, were analyzed three different areas under pure stands of tree species *Acacia auriculiformis*, *Mimosa caesalpinifolia* and a fragment of Atlantic Forest in secondary succession used as reference to the adjacent pure stands, and also on the farm Brasileira in the municipality of Uruçuca, BA, where we studied different agroforestry systems of cocoa (*Theobroma cacao*): cocoa- cabruca and cocoa with shade definitive erythrite (*Erythrina* spp), and the natural forest system considered the referential. The work was divided into two parts: initially determined the content of total polyphenols, total flavonoids, antioxidant activity, lignin and cellulose, as a percentage, comparing the levels in the stages of decomposition within each coverage (*Acacia auriculiformis*, *Mimosa caesalpinifolia* and caponier). The

second part of this work consists in comparing the levels of these variables between the different agrosystems. The leaf samples of cocoa and shade trees of the two agroforestry systems presented in the analysis of different variables (total polyphenols, total flavonoids, antioxidant activity, lignin and cellulose) an important relationship between them. The analysis of samples of *Acacia auriculiformis*, *Mimosa caesalpiniiifolia* and caponier showed higher amount of total polyphenols and total flavonoids in the early stages of decomposition. In the analysis of samples of *Mimosa caesalpiniiifolia* and in caponier were found higher content of lignin, especially in more advanced stages of decomposition. The highest levels of cellulose, however, were determined in the second stage of decomposition of the three samples. The analysis of the sample of cocoa leaf photosynthetic active had higher amounts of soluble phenolic substances, compared with samples of leaves of cocoa (cocoa-erythrite) and leaf of cocoa (cocoa-cabruca). But analysing a sample sheet of cocoa (cocoa-cabruca), these samples was richer in organic substances more resistant to degradation (lignin), which slows down the process of returning nutrients to soil. The sample sheet of natural forest, compared with the sample sheet of shade trees systems-erythrite cocoa and cocoa-cabruca showed higher amount of organic substances that act as antioxidants to promote better protection for the system. Samples of leaves of shade trees systems-erythrite cocoa and cocoa-cabruca have greater amount of recalcitrant material, ie more difficult degradation when compared with samples of cocoa leaf photosynthetic active, which can slow the process decomposition and nutrient turnover in these. The different agroforestry systems or their respective cocoa leaf samples and shade trees presented by analyzing the different variables (total polyphenols, total flavonoids, antioxidant activity, lignin and cellulose) an important relationship between them. Samples of leaves of shade trees of the two agro showed higher contents of total polyphenols and lignin in comparison samples of their cocoa agro. In the analysis of cellulose, the samples of leaves of shade trees had lower levels compared with samples of cocoa leaves. Furthermore, no significant difference between samples of leaves, shade trees of the two agro compared with samples from the same sheet of cocoa. The only variable that differed was the analysis that measured the concentration of total flavonoids.

1. INTRODUÇÃO

As substâncias fenólicas representam a classe mais extensamente distribuída de metabólitos especiais encontrados nas plantas (Filho et al., 2001; Heim et al., 2002). Essas substâncias foram reconhecidas como reguladores de processo do solo, onde tem sido sugerido que inibem a nitrificação, bem como a decomposição e ciclagem de nutrientes, como um subproduto da sua atividade anti-herbivoria. Como alternativa, foi proposto que os polifenóis produzidos pelas plantas poderiam controlar a forma de armazenamento de nutrientes disponíveis para as plantas e/ou microorganismos (Rice e Pancholy, 1973; Baldwin et al., 1983; Horner et al., 1988; Kuiters, 1990, Coley et al., 1985; Northup et al., 1995 e Schimel et al., 1998 *apud* Hättenschwiler e Vitousek, 2000).

Essas substâncias parecem estar envolvidas em praticamente, qualquer interação da planta com o ambiente abiótico. Fatores abióticos naturais como irradiação solar, luz UV, seca, nutrientes e estações do ano influenciam no metabolismo e na produção destes compostos (Mole e Waterman, 1988; Gartlan et al., 1980; Glyphis e Puttick, 1988). Fatores artificiais, como poluentes, também podem interferir nesse mecanismo (Jordan et al., 1991).

As substâncias fenólicas também são identificadas como substâncias que trazem algum benefício à saúde humana, variando da prevenção da cárie até ao câncer, exercendo esses benefícios pelo seu poder antioxidante (Wollgast e Anklan, 2000), recebendo dentre diversas classes de substâncias antioxidantes de ocorrência natural, muita atenção nos últimos anos, sobretudo devido à sua

função de inibir a peroxidação lipídica e a lipooxidação *in vitro* (Haslam, 1996; Soares, 2002). Porém, as concentrações de polifenóis relatadas na literatura variam imensamente e não podem ser comparáveis entre si (Hättenschwiler e Vitousek, 2000).

Dentre as diversas substâncias fenólicas, os flavonóides e as ligninas estão entre as que apresentam maior importância no reino animal e vegetal. Os flavonóides, por exemplo, apresentam importantes funções na sinalização entre plantas e microorganismos, na fertilidade de algumas espécies, na defesa como agentes antimicrobianos, entre outras (Winkel-Shirley, 2001). As ligninas, por sua vez, desempenham um importante papel no transporte de água, nutrientes e metabólitos, sendo responsáveis pelo suporte mecânico e realização de funções protetoras importantes nos vegetais (Fengel e Wegener, 1984 *apud* Saliba et al., 2001).

A concentração de ligninas no resíduo é uma das características químicas mais influentes na decomposição deste, dada a natureza recalcitrante destas substâncias (Zeikus, 1981 *apud* Gonçalves, 1995). Esta é uma das últimas substâncias a serem decompostas.

A serrapilheira depositada na superfície do solo apresenta quantidades significativas de nutrientes, que retornam ao solo após a sua decomposição e são absorvidos novamente pelas árvores. A decomposição da serrapilheira ocorre através da atividade biológica dominada pelos microorganismos decompositores de matéria orgânica. A quantidade disponibilizada desses nutrientes depende da velocidade de decomposição que, por sua vez, depende de outros fatores, como decomposição da serrapilheira, temperatura, pH do solo, precipitação pluviométrica e da qualidade do sítio. O ambiente físico, a qualidade da serrapilheira e composição das comunidades decompositoras são os três principais fatores que controlam a decomposição (Berg et al., 1993; Couteaux et al., 1995; Cadish e Giller, 1997).

A principal função da microbiota do solo é degradar materiais orgânicos e conseqüentemente liberar CO₂ à atmosfera. Qualquer composto sintetizado biologicamente está sujeito à decomposição, assim como, os compostos adicionados ao solo (Tauf, 1990).

Enfim, a decomposição é um processo dinâmico, em que ocorrem, simultaneamente, a fragmentação física das suas estruturas, a transformação

química e a síntese de novos compostos e transporte destes produtos formados para horizontes mais profundos da manta orgânica e, ou, do solo (Heal et al., 1997).

Dentre as principais funções das substâncias húmicas no solo, que são substâncias derivadas de ligninas, carboidratos e outras classes de compostos orgânicos, pode-se enfatizar a capacidade de agregação, capacidade de intercâmbio iônico, capacidade de reter umidade, complexação e quelatização, solubilidade, mineralização e o importante papel na acumulação de carbono e na retenção e disponibilização de nutrientes para a planta (Swift, 2001; Stevenson, 1994).

Ao considerar a grande importância das substâncias fenólicas, o presente trabalho se empenhou em estudar a presença destas substâncias em um gradiente de amostras de diferentes coberturas florestais, caracterizando-as através de várias análises químicas quantitativas (polifenóis totais, flavonóides totais, atividade antioxidante, lignina e celulose), assim como, também se empenhou em gravar a influência dessas substâncias sobre o processo de decomposição de algumas das amostras. Para isso, utilizou-se a hipótese científica de que altos teores de polifenóis e flavonóides estão relacionados com elevada atividade antioxidante, baixa taxa de decomposição, baixa atividade microbiana, menor liberação de nutrientes e como consequência, maior acúmulo de serrapilheira, sendo sugerido efeito contrário das variáveis quando os teores de substâncias fenólicas diminuem.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Caracterizar quimicamente as substâncias fenólicas presentes em diferentes coberturas florestais em duas diferentes áreas: Fazenda Carrapeta, município de Conceição de Macabu/RJ, onde foram coletadas as amostras de *Acacia auriculiformis* (acácia), *Mimosa caesalpinifolia* (sabiá) e fragmento florestal de Mata Atlântica em sucessão secundária (capoeira), e Fazenda Brasileira, município de Uruçuca/BA, onde foram coletadas as amostras de mata natural e de diferentes sistemas agroflorestais de cacau (*Theobroma cacao*): cacau-cabruca e cacau com sombreamento definitivo de eritrina (*Erythrina* spp). Além disso, relacionar as amostras da fazenda Carrapeta com o processo de decomposição.

2.2. Objetivos específicos

➤ Avaliar a atividade antioxidante [fenólicos totais (Folin-Dennis), antioxidante (DPPH - 1,1-difenil-2-picrilhidrazila)] de diferentes coberturas vegetais em duas diferentes áreas: Fazenda Carrapeta, município de Conceição de Macabu/RJ onde foram coletadas as amostras de *Acacia auriculiformis* (acácia), *Mimosa caesalpinifolia* (sabiá) e fragmento florestal de Mata Atlântica

em sucessão secundária (capoeira), e Fazenda Brasileira, município de Uruçuca/BA, onde foram coletadas as amostras de mata natural e de diferentes sistemas agroflorestais de cacau (*Theobroma cacao*): cacau-cabruca e cacau com sombreamento definitivo de eritrina (*Erythrina* spp);

- Avaliar o teor de flavonóides totais de diferentes coberturas florestais;
- Avaliar o teor de lignina e celulose de diferentes coberturas florestais.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Coberturas Vegetais

3.1.1. Fragmento florestal de Mata Atlântica em sucessão secundária (capoeira)

A Mata Atlântica, um bioma considerado uma das duas florestas mais ameaçadas do planeta (Souza, 2007; Mittermeir et al., 1999; Myers et al., 2000), se desenvolve em toda a porção leste do território brasileiro, por onde se estende as cadeias montanhosas, indo do Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul, cobrindo total ou parcialmente 17 estados brasileiros: Alagoas, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Sergipe e São Paulo (Assis et al., 1994; Souza, 2007).

A formação vegetal da Mata Atlântica apresenta ambiente úmido, devido à sua localização próxima ao oceano Atlântico. Recebe influência direta dos ventos alísios carregados de umidade, favorecendo assim o desenvolvimento da vegetação que é sempre verde (perene), contendo muitas árvores por metro quadrado (densa) e com várias espécies por área abordada (heterogênea) (Assis et al., 1994; Consórcio Mata Atlântica, 1992).

Desde a época da colonização do país que este bioma vem sendo explorado desordenadamente, sendo devastado por interesses comerciais ou que atendessem as necessidades momentâneas das pessoas ou civilizações que a exploraram (Souza, 2007).

A devastação teve início com a exploração de Pau-Brasil, passando pela criação de áreas para a monocultura de cana-de-açúcar e em seguida de café, chegando a queimadas associadas à formação de pasto para a pecuária extensiva e culminando na atual pressão antrópica proporcionada pelo crescimento urbano-industrial. Atualmente, 61% da população brasileira sobrevivem em área antes ocupada pela Mata Atlântica. Enfim, a ocupação humana, reduziu a Mata Atlântica em pequenos fragmentos florestais de variados tamanhos (Figura 01, pag. 8), restando hoje apenas 5% da sua cobertura original de vegetação (Souza, 2007; Fundação SOS Mata Atlântica e INPE, 2002).

Na região Norte Fluminense, a cobertura atual de Mata Atlântica é inferior a 5% da mata original, devido ao longo período de atividades agropecuárias como cana-de-açúcar e café, além do uso regular de fogo e mecanização intensiva. Devido a isso, houve uma drástica redução do maciço florestal, como também um elevado grau de degradação dos solos. A consequência disso foi a decadência socioeconômica da região, na qual as atividades de uso atual das terras são pastagens também degradadas (Gama-Rodrigues e May, 2001).

Frente a esta realidade, técnicas e estratégias de recuperação de terras degradadas têm sido desenvolvidas e empregadas com o intuito de favorecer os mecanismos naturais que permitem a reação do ecossistema aos diferentes graus de perturbação (Campello, 1998).

Nesse sentido, uma técnica que tem se mostrado viável para a recuperação e sustentabilidade dos solos das regiões tropicais, é o uso da cobertura vegetal com espécies arbóreas, sobretudo leguminosas associadas às bactérias fixadoras de N_2 e fungos micorrízicos, através da influência positiva em vários atributos de qualidade do solo (Franco, 1996).

A cobertura florestal influencia na qualidade do solo, mediante a ciclagem de nutrientes, aumentando o teor de matéria orgânica e a disponibilidade de nutrientes, melhorando as propriedades físicas e otimizando a atividade biológica (Young, 1989; Franco e Faria, 1997; Gama-Rodrigues et al., 1999). Segundo Láng (1994), o reflorestamento, além de promover a manutenção ou melhoria dos

processos ecológicos, também reduziria a pressão de exploração sobre os remanescentes de floresta natural e promoveria uma alternativa socioeconômica de desenvolvimento regional.



Figura 01. Serrapilheira de um fragmento florestal de Mata Atlântica em sucessão secundária (Fazenda Carrapeta – Conceição de Macabu/RJ).

3.1.2. *Acacia auriculiformis* (Mimosaceae)

A espécie *Acacia auriculiformis* pertence à família Mimosaceae, e é conhecida popularmente como acácia, é encontrada principalmente nas regiões tropicais, mas também ocorre nas regiões subtropicais, sendo abundante em savanas, em matas, assim como em matas xerófitas, na América tropical, África, Ásia e Austrália local onde se encontra a maior parte da espécie (Burkart, 1979 *apud* Starr et al., 2003).

A *Acacia auriculiformis* é promissora para produção de celulose, e se comporta bem em solos extremamente pobres e deficientes de nitrogênio, sendo freqüentemente usada para estabilizar erosão em encostas e melhorar a fertilidade do solo (Chakraborty e Chakraborty, 1989; National Research Council, 1980; Streets, 1962). É geralmente encontrada em solos argilosos, porém tem capacidade de crescer em outros tipos de solo, incluindo solos arenosos, calcário entre outros. Possui alta tolerância a solos alcalinos e salinos (Parrotta, 1997).

A árvore alcança altura aproximada de 8-20 m, com galhada e tronco curto. Em locais adequados pode crescer até 30-40 m de altura, com um único tronco reto de 80-100 cm de diâmetro à altura do peito (Figura 02). Além disso, a árvore possui inflorescências compostas por aproximadamente 100 pequenas flores amarelas brilhantes, vagens ligeiramente lenhosas com ranhuras transversais e suas sementes geralmente são ovais ou elípticas (Pedley, 1978; Ibrahim e Awang, 1991).



Figura 02. Serrapilheira de uma cobertura florestal de *Acacia auriculiformis* (Fazenda Carrapeta – Conceição de Macabu/RJ).

3.1.3. *Mimosa caesalpinifolia* (Fabaceae)

A espécie *Mimosa caesalpinifolia* (Figura 03, pag. 11), pertence à Família Fabaceae e é popularmente conhecida como sabiá, devido à semelhança da cor da casca da planta jovem com a plumagem do pássaro sabiá (Corrêa, 1975), assim como, sansão-do-campo e unha-de-gato. Ocorre naturalmente em áreas da Caatinga de vários estados da região Nordeste, caracterizando-se por apresentar rápido crescimento, alta capacidade de regeneração e resistência à seca (Drumond et al., 1984).

As árvores apresentam características ornamentais e sua madeira é apropriada para usos externos, como mourões, estacas, postes, lenha e até para

carvão, devido à sua resistência físico-mecânica, e como alternativa energética pelo seu alto poder calorífico e forragem. As folhas possuem alto valor nutritivo, sendo utilizadas como fonte de alimento para o gado, especialmente na época de escassez de chuvas no semi-árido. Entretanto, a presença de acúleos, caráter dominante na espécie, dificulta o manejo de povoamentos, limitando a sua exploração em condições naturais (Lorenzi, 2000).

A árvore apresenta porte pequeno e crescimento cespitoso, ou seja, de um mesmo ponto partem vários troncos, geralmente, com tamanhos semelhantes (Suassuna, 1989 *apud* Mendes, 1989). Quando adulta, pode atingir até 8 m de altura e por volta de 20 cm de diâmetro à altura do peito (Mendes, 1989).

Apresentam folhas bipinadas, flores pequenas, brancas reunidas em espigas cilíndricas de 5 a 10 cm de comprimento. A madeira é dura, compacta e muito durável, mesmo no solo. A floração, na Região Nordeste do Brasil, geralmente ocorre de março a abril e as plantas florescem antes de completar um ano de idade (Mendes, 1989). Os frutos são legumes articulados, planos, medindo de 7 a 10 cm de comprimento e de 10 a 13 mm de espessura. As sementes são lisas e duras, medindo 5-8 mm de diâmetro (Tigre, 1976) e apresentam dormência tegumentar.



Figura 03. Serrapilheira de uma cobertura florestal de *Mimosa caesalpiniiifolia* (Fazenda Carrapeta – Conceição de Macabu/RJ).

Alves et al. (2004) sugerem em seus estudos, que o uso adequado de leguminosas arbóreas com elevado teor protéico e capacidade de suporte como *Mimosa caesalpiniiifolia* pode melhorar substancialmente as pastagens naturais no Nordeste. Entretanto, apesar de seu emprego ser freqüente, ainda não há levantamento sobre a extensão de seu uso ou das regiões que preferencialmente o adotam (Laranjeira, 1997).

Por apresentar altos teores de celulose e lignina, estudos sugerem a utilização da espécie na produção de álcool combustível e coque siderúrgico (Paula e Alves, 1980). Além disso, é recomendada, sua utilização na recuperação de áreas degradadas e na proteção de solos contra a erosão, considerando que enriquece o solo através da fixação de nitrogênio (Mendes, 1989).

3.1.4. *Theobroma cacao* (Sterculiaceae)

Quando os primeiros colonizadores espanhóis chegaram à América, o cacau, também conhecido como cacaeiro e árvore da vida, já era cultivado pelos nativos, principalmente os Astecas, no México, e os Maias, na América Central. A espécie é nativa da floresta tropical úmida americana, sendo seu centro de origem, provavelmente, as nascentes dos rios Amazonas e Orinoco. O cacaeiro pode atingir 6 m de altura e, é uma planta perene, arbórea, dicotiledônea,

cultivado em regiões tropicais onde ocorrem pequenas variações na radiação solar e na temperatura do ar durante o ano (Gramacho et al., 1992).

As flores pequenas, amarelo-avermelhadas, inodoras e pouco atraentes, nascem unidas ao tronco. Delas se originam as bagas ou frutos, que medem até 25 cm de comprimento e adquirem, quando maduros, tonalidade esverdeada, amarela, vermelha ou roxa (Purseglove, 1968). Cada fruto contém cinquenta ou mais sementes envoltas em uma polpa viscosa e esbranquiçada. O cacaeiro pode viver mais de cem anos, começa a frutificar com cerca de três anos, produz abundantemente a partir dos oito e em geral até os trinta mantém uma produção satisfatória.

As condições climáticas mais adequadas para o desempenho normal dos diversos processos fisiológicos do cacaeiro caracterizam-se geralmente por uma precipitação pluvial em torno de 1400 a 2500 mm/ano, bem distribuída no decorrer do ano, e uma temperatura média do ar de 22,4 a 26,7°C (Pinho et al., 1992). Temperaturas inferiores a 12°C impedem ou reduzem a frutificação. Em cultivo, para facilitar a colheita, é costume podá-lo quando ultrapassa os quatro metros (Pesce, 1941).

A cultura do cacau pode ser considerada a mais eficiente comunidade vegetal, no que se refere à proteção de solos tropicais contra agentes de degradação. Isso porque possui muito dos atributos de sustentabilidade da floresta heterogênea natural, podendo tornar-se um componente socioeconômico-ecológico apropriado para reduzir a pressão antrópica sobre a cobertura vegetal original dos trópicos úmidos (Muller, et al., 2004). Além disso, esta cultura é importante fonte de matéria-prima para a indústria do chocolate, manteiga de cacau e outros subprodutos.

3.1. 5. Sistemas agroflorestais de cacau

No sistema cacau-cabruca, os cacaeiros são cultivados sob sombreamento de mata que, geralmente consiste de uma mistura de espécies. O raleamento da floresta é realizado, retirando-se a vegetação de menor porte e mantendo-se a vegetação de grande porte para garantir o sombreamento. Este sistema de plantio foi bastante utilizado na formação dos cacaeiros da Bahia (Figura 04, pag.13).



Figura 04. Sistema agroflorestal de cacau-cabruca (Fazenda Brasileira – Uruçuca/BA).

Já no sombreamento definitivo, são empregadas árvores plantadas ou nativas. Dentre as espécies de sombra plantadas, a *Erythrina* spp. é uma das mais utilizadas (Figura 05, pag. 14). A vantagem do seu uso é o enriquecimento do solo com nitrogênio, resultante da fixação biológica. Neste sistema, são realizados derruba total, recorte e queima do revestimento florístico da área. As plantas jovens são, inicialmente, cultivadas sob sombreamento provisório com bananeira, outros cultivos alimentícios, mandioca e milho, por cerca de 2-3 anos, ou até que as plantas de eritrinas (sombreamento definitivo) estejam fornecendo sombra suficiente (Müller et al., 2002).



Figura 05. Sistema agroflorestral de cacau-eritrina (Fazenda Brasileira – Uruçuca/BA).

O sombreamento regula a atividade do cacauzeiro, mediante uma maior ou menor quantidade de luz que proporciona à planta, favorecendo condições ambientais estáveis, sem oscilações bruscas de temperatura e umidade (Gramacho et al., 1992). Dessa forma, a combinação do cacauzeiro com espécies não lenhosas (bananeira, mandioca, etc.) e espécies lenhosas (eritrina, cajá, etc.) constitui uma excelente comprovação da compatibilidade e complementaridade de diferentes espécies e, ao mesmo tempo, sustentabilidade de sistemas de produção multiestratificados (Müller et al., 2004).

A cultura do cacau constitui um agrossistema conservacionista do solo, devido ao recobrimento total do terreno e pela formação de densa camada de serrapilheira (Santana et al., 1990) que favorece a abundância e diversidade de fauna do solo (Moço et al., 2009).

3.2. Metabólitos Especiais

Uma das características dos seres vivos é a presença de atividade metabólica, que pode ser descrita como um conjunto de reações químicas que ocorrem em nível celular. Nas células vegetais a atividade metabólica freqüentemente é devida ao metabolismo primário e secundário (especial).

Metabolismo primário é o conjunto de processos metabólicos que desempenham funções essenciais nos organismos vegetais, tais como: fotossíntese, respiração e transporte de solutos. As substâncias produzidas pelo metabolismo primário apresentam distribuição universal nas plantas, como por exemplo, ácidos aminados, nucleotídeos, lipídeos, hidratos de carbono e clorofila (Taiz e Zeiger, 2002).

Ao contrário dos metabólitos primários que têm ampla distribuição nos organismos, os metabólitos especiais são encontrados com distribuição limitada na natureza.

Embora nem sempre seja necessário para que uma planta complete seu ciclo vital, os metabólitos especiais desempenham um papel importante na interação da planta com o meio ambiente. Além disso, apresentam distribuição restrita no reino vegetal, sendo restritos, a uma espécie vegetal (ou até mesmo em partes do vegetal), gênero ou família, isto é, os metabólitos especiais são uma expressão da individualidade de cada espécie (Taiz e Zeiger, 2002).

Os principais blocos construtores empregados na biossíntese dos metabólitos especiais são derivados de intermediários especiais tais como: Acetil-CoA (via do acetato), ácido chiquímico (via do chiquimato) e ácido mevalônico (via do mevalonato) (Dewick, 1997) (Figura 06, pag. 16).

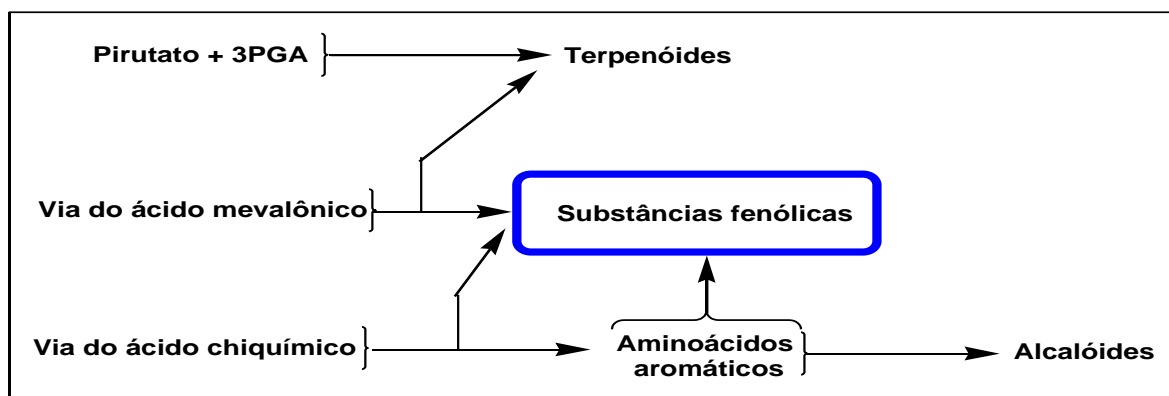


Figura 06. Principais vias do metabolismo especial e suas interligações.

A via do acetato dá origem a fenóis, prostaglandinas, antibióticos, macrolídeos e ácidos graxos derivados da interface do metabolismo primário/especial. A via do chiquimato (combinação de fosfoenolpiruvato, um dos intermediários da via glicolítica e eritrose-4-fosfato da via das pentoses) origina fenóis, derivados do ácido cinâmico, lignanas, ligninas e alcalóides. Por outro lado, a via do mevalonato (formada a partir de três moléculas de acetil-CoA) dá origem a esteróides e terpenóides (Dewick, 1997)

3.2.1. Substâncias Fenólicas

As substâncias fenólicas aparecem no dia a dia como responsáveis pelo sabor, odor e coloração de diversos vegetais apreciados pelo homem. Elas também são atrativas para animais, que são atraídos para polinização ou dispersão de sementes. Além disso, essas substâncias são importantes na proteção da planta contra os raios UV, insetos, fungos, vírus e bactérias, sendo que algumas plantas biossintetizam substâncias fenólicas no intuito de inibir o crescimento de outras plantas competidoras (ação alelopática) (Haslam, 1981, Bernays et al., 1989 *apud* Häterschwiler e Vitousek, 2000).

Essas substâncias influenciam na taxa de decomposição e ciclagem de nutrientes, podem afetar diretamente a composição e atividade das comunidades decompositoras, além de alterar a disponibilidade de nitrogênio que formará

complexo com proteínas, e influenciar o destino de outros nutrientes através de mecanismos substancialmente diferentes (Hättenschwiler e Vitousek, 2000).

Substâncias fenólicas produzidas pelas plantas se enquadram em várias categorias, como fenóis simples (com um único anel aromático), ácidos fenólicos (derivados de ácido benzóico e cinâmico), cumarinas, flavonóides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e lignina (Naczek e Shahidi, 2004). Essas substâncias são biossintetizadas a partir de duas rotas metabólicas principais: a via do ácido chiquímico (Figura 07, pag. 18) e a via do ácido mevalônico, que é menos significativa.

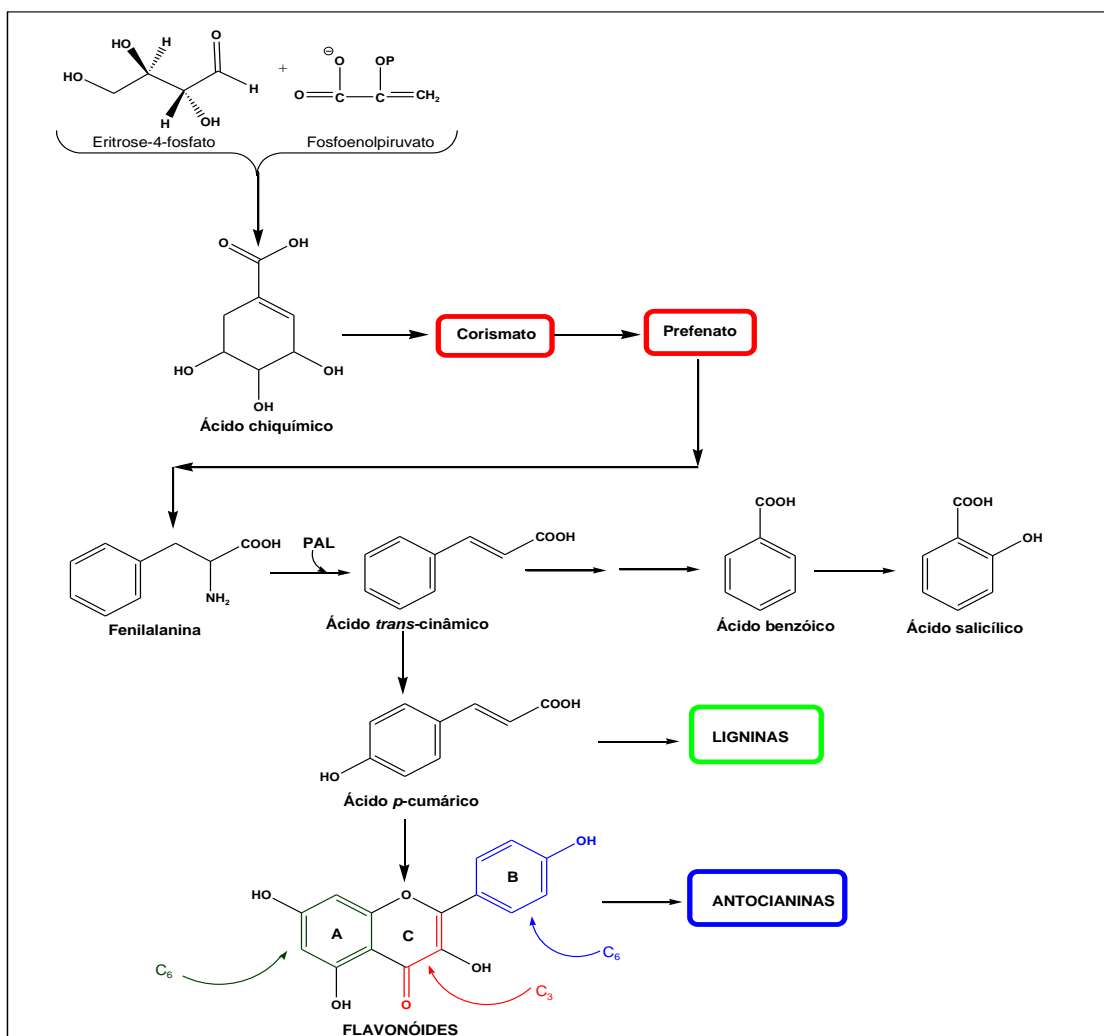


Figura 07. Principais substâncias fenólicas derivadas da via do ácido chiquímico.

A principal enzima envolvida na via do ácido chiquímico é a *fenilalanina amônio liase* (PAL). Essa enzima retira um grupamento $-NH_2$ da fenilalanina formando o ácido cinâmico. A PAL é regulada por fatores ambientais como o nível nutricional, a luz (pelo efeito do fitocromo) e infecção por fungos. Entre as substâncias formadas após a ação da PAL estão o ácido benzóico, que dá origem ao ácido salicílico, uma importante substância de defesa de plantas contra patógenos (Figura 07, pag. 18).

Uma classe importante de substâncias derivadas da via do ácido chiquímico esta representada pelos flavonóides.

Os flavonóides foram descobertos em 1930, pelo prêmio Nobel Szent-György, que extraiu a partir da casca do limão uma substância que possui a capacidade de regulação da permeabilidade dos vasos capilares. Inicialmente a substância foi chamada vitamina P (de permeabilidade) assim como, vitamina C₂ devido ao fato de algumas substâncias pertencentes a esta classe apresentar propriedades semelhantes às da vitamina C. No entanto, como essas substâncias não foram confirmadas como vitaminas ambos os nomes foram abandonados em 1950, sendo então denominada citrina (Martínez- Flores et al, 2002).

Mais de 8.000 flavonóides identificados (Pietta, 2000) estão amplamente distribuídos nas plantas, frutos, hortaliças e bebidas em diferentes componentes. Estes apresentam importantes funções na sinalização entre plantas e microorganismos, na fertilidade de algumas espécies, na defesa como agentes antimicrobianos, entre outras (Winkel-Shirley, 2001).

A estrutura base dos flavonóides consiste em um núcleo fundamental, constituído de quinze átomos de carbono arranjados em três anéis (C₆-C₃-C₆), sendo dois anéis fenólicos substituídos (A e B) e um pirano (cadeia heterocíclica C) acoplado ao anel A (Figura 08, pag. 20) (Di Carlo et al., 1999). Além disso, sua estrutura apresenta um variável número de hidroxilas fenólicas com propriedade de quelação com ferro e outros metais de transição o que lhes confere uma grande capacidade antioxidante, ou seja, desempenham um papel fundamental na proteção contra agentes oxidantes, como por exemplo, o raio ultravioleta, a poluição ambiental, substâncias químicas presentes nos alimentos, entre outros, atuando também como agentes terapêuticos em um grande número de doenças, incluindo doenças cardiovasculares, aterosclerose ou câncer (Havsteen, 1983; Peres, 1994).

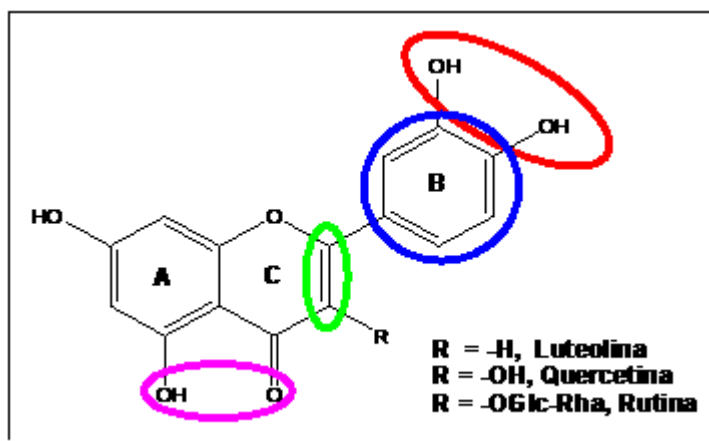


Figura 08. Estrutura dos flavonóides luteolina, quercetina e rutina e os requisitos que definem um flavonóide como potencial oxidante.

Os flavonóides de origem natural apresentam-se, freqüentemente, oxigenados e um grande número ocorre conjugado com açúcares. Esta forma conjugada é conhecida como heterosídeo e, quando está sem o açúcar, é chamado de aglicona ou genina. São subdivididos em: flavonas, flavonóis, O-heterosídeos, C-heterosídeos, antociananidinas, chalconas, auronas, diidroflavonóides, flavanas, leucoantocianidinas, proantocianidinas, isoflavonóides, neoflavonóides, biflavonóides, além de outras estruturas (Zuanazzi e Montanha, 2003).

Outra enzima importante na biossíntese de flavonóides é a *chalcona sintase* (CHS), que está relacionada na formação de antocianinas, flavonóis, taninos condensados e isoflavonóides.

Flavonóis agem como precursores de antocianinas e taninos e juntamente com as flavonas, são considerados os pigmentos que absorvem radiação UV (280-230nm) protegendo a planta (Harborne, 1977), além de serem os mais comuns (Pietta et al., 1989).

Isoflavonóides são conhecidos como fitoalexinas, substâncias naturais acumuladas em resposta ao estresse e que possuem atividade inibidora contra: bactérias, fungos e efeito tóxico para plantas e animais (Hammerschmidt, 1999).

Taninos condensados são substâncias fenólicas solúveis em água e com massa molecular entre 500 a 3000 Daltons (Bate-Smith e Swain, 1962). Atuam como substâncias de defesa contra pragas, pelo fato de se ligarem a proteínas

digestivas de insetos e também são responsáveis pela adstringência de alguns frutos. São denominados de proantocianidinas, pelo fato de produzir pigmentos avermelhados (antocianidinas) após sua degradação.

Taninos também são bastante conhecidos devido à sua capacidade de precipitar alcalóides, gelatinas e outras proteínas. De modo mais simples, pode-se dizer que taninos são substâncias com sabor adstringente e que têm capacidade de curtir o couro (Vickery e Vickery, 1981).

Outra classe de substâncias oriundas da via do ácido chiquímico são as ligninas. A palavra lignina vem do latim *lignum*, que significa madeira (Fengel e Wegener, 1984 *apud* Saliba et al., 2001). O interesse científico e econômico sobre esta classe se desenvolveu há aproximadamente 150 anos. Apesar de todos os estudos realizados até hoje, permanecem ainda muitas dúvidas sobre os lignóides, principalmente no que diz respeito à sua estrutura química (Morais, 1987 e 1992, *apud* Saliba et al., 2001).

Ligninas são polímeros de constituição difícil de ser estabelecida, devido não somente à complexidade de sua formação, baseada em unidades fenilpropanóides interligadas por diferentes tipos de ligações, como também porque sofrem modificações estruturais durante seu isolamento das paredes celulares. Isto também decorre da grande diversidade de estruturas, quando se passa de uma espécie vegetal para outra ou, até mesmo, dentro da mesma espécie, quando são analisadas partes diferentes do vegetal. As diferenças na constituição dessas substâncias são devidas, principalmente, às diferenças de condições de solo e de clima (Morais 1987 e 1992 *apud* Saliba et al., 2001).

Na natureza, a lignina está fisicamente incrustada à celulose, e é resistente à degradação por muitos microrganismos (Crawford, 1983). Essas substâncias provavelmente são as substâncias aromáticas mais recalcitrantes e, com exceção da celulose, mais abundantes produzidas pelas plantas (Crawford, 1981 *apud* Entry e Backman, 1995).

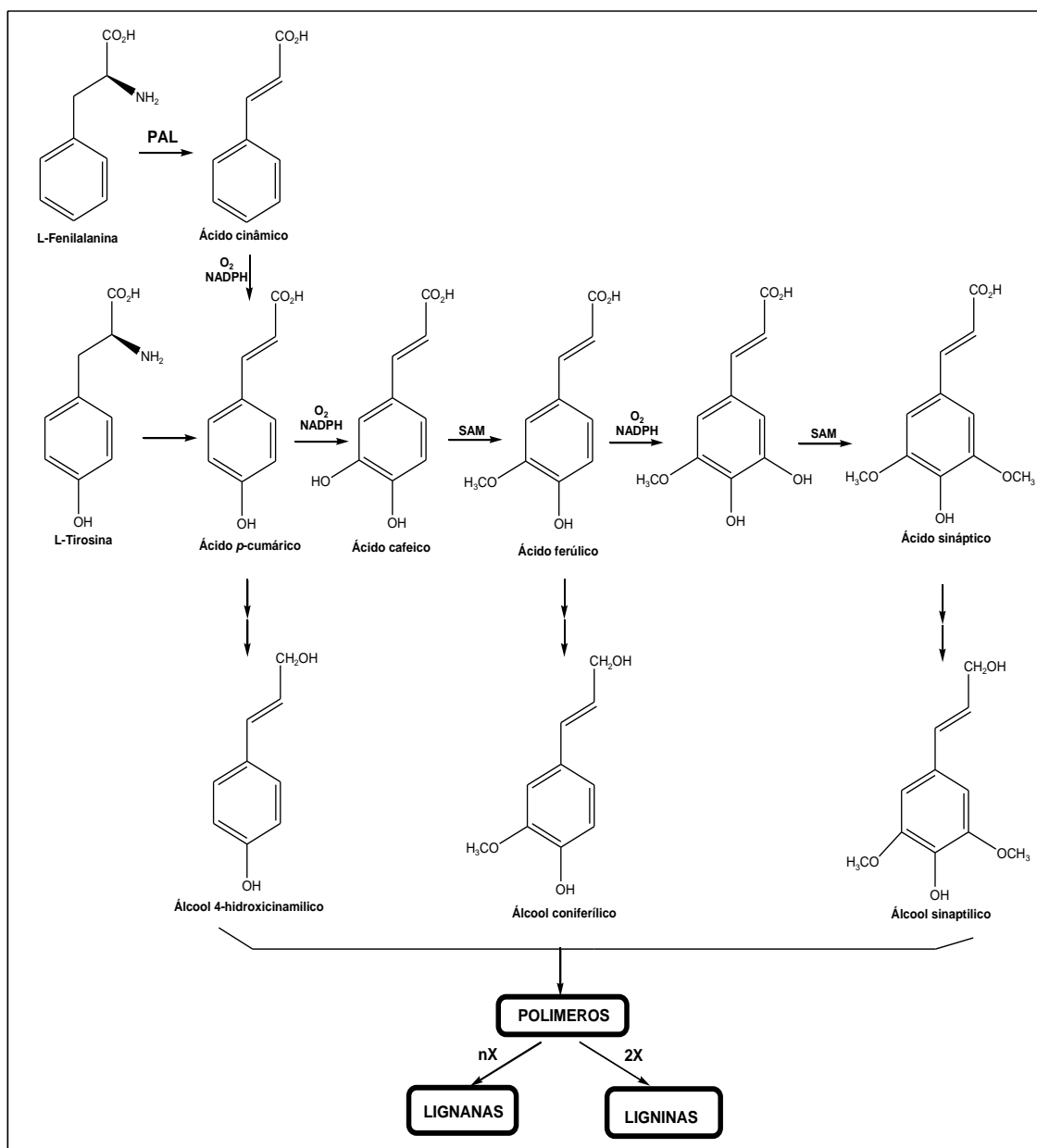
Durante o processo de decomposição da serrapilheira, observa-se uma aparente elevação na concentração de ligninas devido à sua baixa taxa de decomposição e também porque os métodos convencionais de análise de lignina não conseguem distinguir produtos humificados e a verdadeira lignina. Além disso, a composição química de uma dada serrapilheira, em determinado estágio de decomposição depende das condições climáticas locais. Em locais mais

quentes e úmidos, por exemplo, onde as taxas iniciais de decomposição são maiores, a concentração de lignina também será mais elevada (Coüteaux et al., 1995).

Segundo Lapierre (1993), a lignina pode ser classificada em *core* e *não core*, com base em sua susceptibilidade relativa à hidrólise.

A lignina *não core* consiste de compostos fenólicos de baixo peso molecular por hidrólise, que é representada por ácidos *p*-hidroxicinâmico éster-ligados. Já lignina *core*: consiste de polímeros fenilpropanóides da parede celular, altamente condensados e muito resistentes à degradação. Eles são compostos de unidades *p*-hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S), em proporções diferentes, de acordo com sua origem.

Ligninas são formadas através de acoplamento oxidativo de monômeros de álcool hidroxicinâmílico, com a participação de peroxidase. Os mais importantes são: álcool 4-hidroxicinâmílico (álcool *p*-cumarílico), álcool coniferílico e álcool sinapílico (Dewick, 1997) (Figura 09, pag. 23).



- PAL: *Fenilalanina amônia liase*;
- NADPH: Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato;
- SAM: S-adenosil metionina

Figura 09. Biossíntese de lignina.

A utilização desses monômeros (alcoóis) varia de acordo com o tipo de planta. Gimnospermas polimerizam principalmente álcool coniferílico, dicotiledôneas, o álcool sinaptílico e monocotiledôneas, todos os três tipos de alcoóis (Dewick, 1997).

A presença marcante de grupos metóxi (-OCH₃), na maioria das unidades fenilpropanóides de lignina, faz com que sejam partes integrantes da fórmula mínima das ligninas (Saliba et al., 2000). Os grupos hidroxilas (-OH) são o segundo grupo funcional mais estudado em ligninas, podendo estar presentes tanto como hidroxilas fenólicas quanto como hidroxilas alifáticas (Morais 1987 *apud* Saliba et al., 2001) (Figura 10, pag. 25).

Sendo assim, polifenóis é a classe mais extensamente distribuída de metabólitos especiais encontrados nas plantas e atualmente mais de 4000 estruturas fenólicas são conhecidas (Filho et al., 2001; Heim et al., 2002). A grande variedade estrutural destas substâncias se deve ao fato de estar ligados a grupos hidroxilas, metoxilas ou conjugados com açúcares (Heim et al., 2002).

3.2.2. Atividade Antioxidante

As células produzem continuamente radicais livres e espécies reativas de oxigênio (EROs) como parte do processo metabólico. Essas espécies reativas são geralmente neutralizadas pelos sistemas antioxidantes presentes nos organismos. Desta forma, o estado de estresse oxidativo pode resultar tanto de um aumento na produção de EROs, quanto da redução da capacidade antioxidante celular total que pode levar danos moleculares às estruturas celulares, com conseqüente alteração funcional e prejuízo das funções vitais em diversos tecidos ou órgãos (Halliwell e Cross, 1994).

Um quadro gerado pela presença excessiva de EROs é a peroxidação lipídica, que pode ser definida como uma cascata de eventos bioquímicos resultantes da ação de EROs sobre os lípidos insaturados das membranas celulares, gerando especialmente radical alquila, alcoxila e peroxila, o que induz a destruição de sua estrutura, falência dos mecanismos de troca de metabólitos e, em uma condição extrema, à morte celular (Benzie, 1996).

Os antioxidantes atuam em diferentes níveis na proteção dos organismos. O primeiro mecanismo de defesa contra os radicais livres é o impedimento de sua formação, principalmente pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre. As substâncias antioxidantes são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre lipídeos, aminoácidos, dupla ligação dos ácidos graxos poliinsaturados e bases do DNA, evitando a formação de lesões e perdas da integridade celular (Bianchini e Antunes, 1999).

Outro mecanismo de proteção é a restauração das lesões causadas pelos radicais, ou seja, ocorre a remoção de danos da molécula de DNA e a reconstituição das membranas celulares danificadas. Em alguns casos pode

ocorrer uma adaptação do organismo em resposta à geração desses radicais com o aumento da síntese de enzimas antioxidantes (Bianchini e Antunes, 1999).

Dentre diversas classes de substâncias antioxidantes de ocorrência natural, as substâncias fenólicas têm recebido muita atenção nos últimos anos, sobretudo devido às suas propriedades redutoras e sua estrutura química, em particular às hidroxilas que podem doar elétrons e suportar como resultado a deslocalização do elétron desemparelhado em torno do sistema aromático, e às suas propriedades redutoras. Estudos indicam que agliconas, incluindo quercetina e luteolina apresentam capacidade antioxidante maior que de flavonóides conjugados, devido à existência de um número maior de hidroxilas livres (Haslam, 1996; Soares, 2002; Noroozi et al., 1998).

Estas características desempenham um importante papel na neutralização ou seqüestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (Haslam, 1996; Soares, 2002; Chun et al., 2005).

Segundo Williams et al., (2004), os principais requisitos básicos que definem um flavonóide como potencial antioxidante são o sistema catecol ou anel B diidroxilado, a presença de insaturação no anel C, presença de função 4-oxo no anel C e a presença de outras funções capazes de quelar íons de metais de transição como o cobre e o ferro. (Figura 08, pag. 20).

Os flavonóides são os compostos mais diversificados do reino vegetal (Soares, 2002) e a sua capacidade antioxidante neutralizando os EROs previne a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade, pois anula seus efeitos negativos sobre as células (Martinez – Flores et al., 2002).

Várias metodologias são utilizadas atualmente para avaliar a atividade antioxidante de um material vegetal e podem ser classificadas em duas categorias: ensaios baseados em estudos de cinética química, denominados de métodos diretos e ensaios mediados pela transferência de elétrons, denominados de métodos indiretos (Huang et al, 2005).

Em ensaios indiretos, o processo é caracterizado por uma reação de oxirredução entre o oxidante (geralmente uma sonda para monitorar a reação) e o

antioxidante. O método está baseado na seguinte reação de transferência de elétrons:

Sonda (oxidante) + elétrons (do antioxidante) → sonda reduzida + antioxidante oxidado.

A sonda ao ser reduzida pelo antioxidante sofre mudanças colorimétricas. A intensidade da mudança de cor é proporcional a atividade do antioxidante ou a concentração do mesmo (Benzie e Strain, 1999).

Dentre os métodos indiretos mais utilizados pode-se destacar a redução do radical DPPH e o ensaio com reagente Folin-Dennis.

- a) Redução do radical DPPH (1,1- difenil-2-picrilhidrazila): este ensaio se baseia em um ensaio qualitativo e quantitativo do grau de atividade antioxidante e na habilidade das substâncias agirem como seqüestradoras de radicais livres. O DPPH é um radical livre estável à temperatura ambiente e produz uma solução de coloração violeta em etanol (Mensor et al., 2001). Devido ao seu elétron desemparelhado, a solução etanólica de DPPH exibe uma forte banda de absorção na faixa de 515-518 nm. Em contato com um potencial oxidante, o DPPH é reduzido (Brand-Williams et al., 1995; Sánchez-Moreno et al., 1998). A interação de um potencial oxidante com DPPH depende da conformação estrutural, da posição e do número de hidroxilas livres presente na molécula analisada (Williams et al., 2004) (Figura 11, pag. 29).
- b) Ensaio com o reagente Folin-Dennis: O ensaio Folin-Dennis é um dos métodos mais antigos de quantificação de fenóis em uma amostra, portanto também conhecido como ensaio de fenóis totais. O ensaio atualmente é utilizado para mensurar a capacidade antioxidante de uma amostra, o que aparentemente pode não estar refletido na sua característica de “ensaio de fenóis totais”, porém um crescente número de publicações tem aplicado o ensaio para medir a capacidade antioxidante e encontrado excelente correlação linear entre o perfil de fenóis totais e a atividade antioxidante (Swain e Hillis, 1959; Shahidi e Naczki, 1995). Esta correlação ocorre devido às similaridades químicas existentes nestes ensaios.

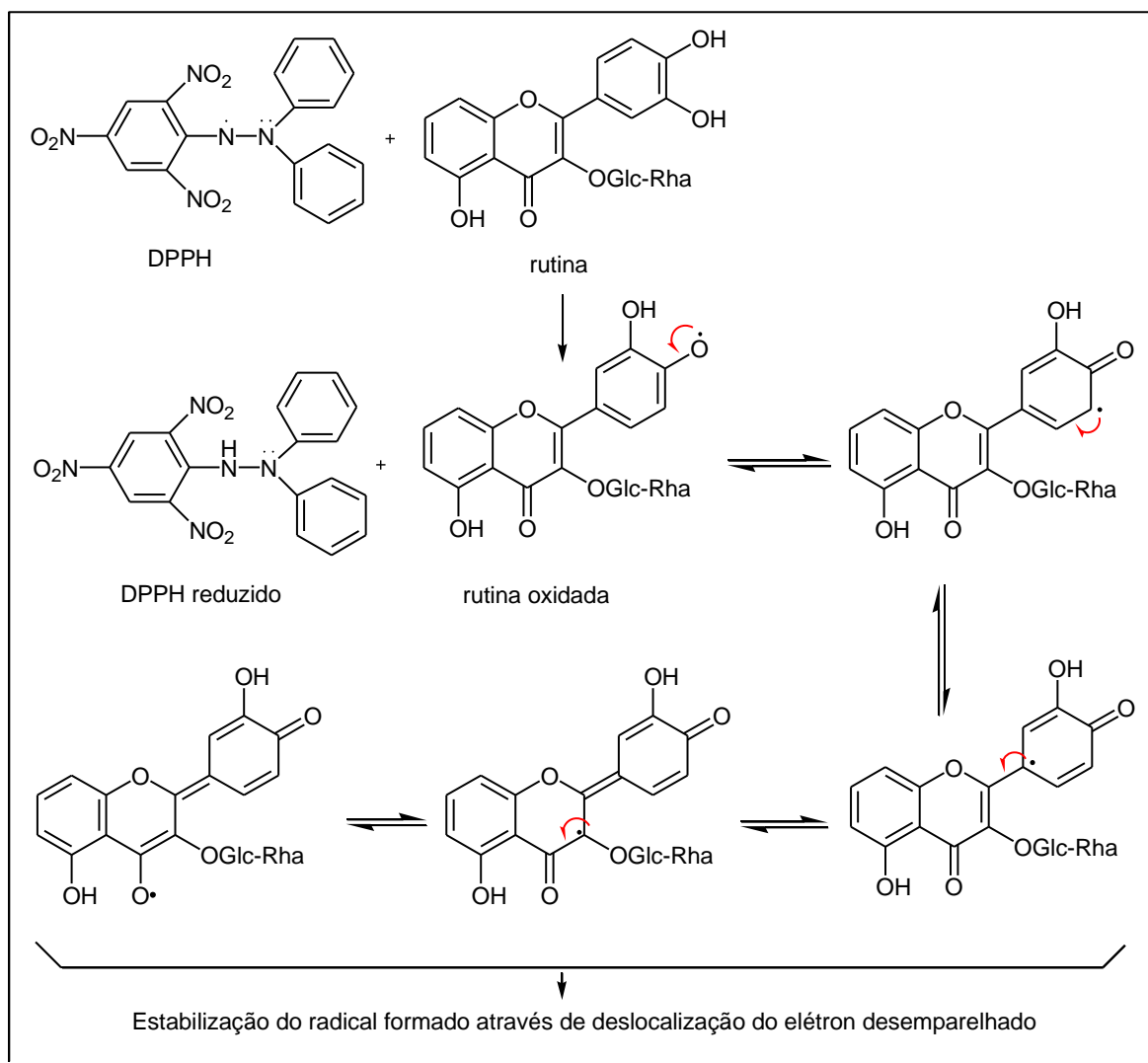


Figura 11. Reação de oxirredução entre DPPH e a Rutina.

Como complemento à análise da atividade antioxidante, a quantificação dos teores de flavonóides totais fornece informações de quanto do potencial antioxidante é devido à presença de flavonóides. A técnica mais utilizada é a que usa solução metanólica de cloreto de alumínio (AlCl_3). O cátion alumínio forma complexos estáveis com os flavonóides em metanol (MeOH), ocorrendo na análise espectrofotométrica um desvio para maiores comprimentos de onda e uma intensificação da absorção (Figura 12, pag. 30). Dessa maneira, é possível determinar a quantidade de flavonóides, evitando-se a interferência de outras substâncias fenólicas, principalmente os ácidos fenólicos (tais como *p*-

hidroxibenzóico, ácido *p*-cumárico, diidroxilados), que invariavelmente acompanham os flavonóides nos tecidos vegetais (Woisky, 1996; Woisky e Salatino, 1998).

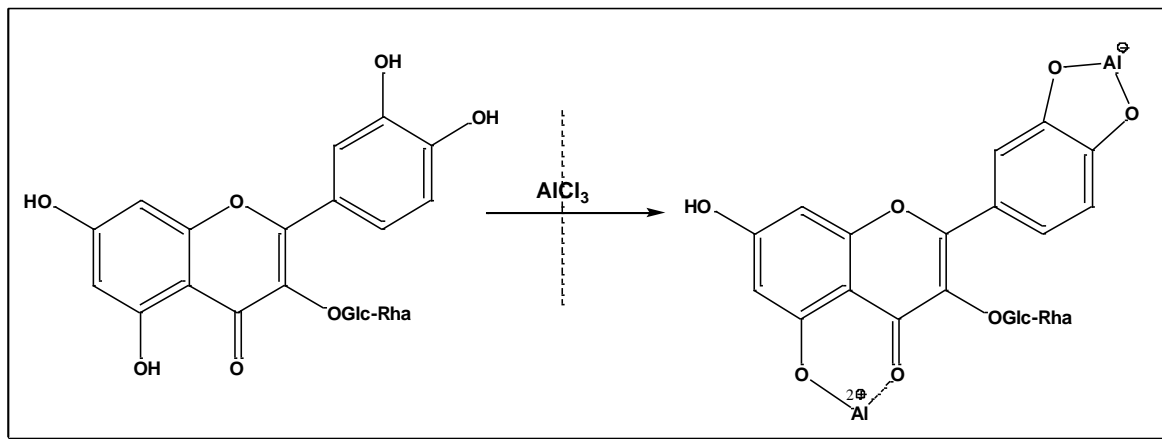


Figura 12. Formação do complexo Flavonóide - Al, em solução metanólica de cloreto de alumínio

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Coleta do material vegetal

4.1.1. Área de coleta das amostras de *Acacia auriculiformis* (acácia), *Mimosa caesalpinifolia* (sabiá) e do fragmento florestal de Mata Atlântica em sucessão secundária (capoeira).

A área em estudo pertence à Fazenda Carrapeta, no município de Conceição de Macabu, RJ (21° 37' S e 42° 05' W). Segundo a classificação Köppen, o clima da região, é do tipo Am, quente e úmido. De acordo com informações locais, a temperatura está em torno de 26 °C e a média anual é de 1400 mm, com período chuvoso entre outubro e março, e seco entre junho e setembro (Gama-Rodrigues et al., 2008). O solo é um Latossolo Vermelho-Amarelo, de textura argilo-franco-arenosa em todas as coberturas vegetais. O relevo é ondulado, com declividade em torno de 35 cm m⁻¹.

A área experimental constituiu-se de três coberturas vegetais em parcelas de 1.500 m² (75 x 20 m). As parcelas experimentais de cada cobertura foram dispostas adjacentes uma à outra, na mesma cota de altitude. As coberturas vegetais foram constituídas de plantios puros das espécies arbóreas *Acacia auriculiformis* (acácia) e *Mimosa caesalpinifolia* (sabiá), inoculadas com estirpes selecionadas de bactérias fixadoras de N₂ atmosférico (BR 3465 e BR 3609 para

Acacia auriculiformis e BR 3407 e 3446 para *Mimosa caesalpinifolia*) e fungos micorrízicos (um combinado de *Gigaspora margarita* e *Glomus clarum* para todas as espécies de leguminosas), além de um fragmento florestal de Mata Atlântica em sucessão secundária, com aproximadamente 40 anos de idade, contendo espécies de diferentes estágios sucessionais (capoeira) utilizados como referência (Gama-Rodrigues et al., 2008).

O plantio das espécies arbóreas foi realizado em dezembro de 1998 com mudas de 30 cm de altura e, no caso das leguminosas, com ótima nodulação e micorrização (bom crescimento das mudas e presença de nódulos ativos). O espaçamento utilizado foi de 3 x 2 m, em covas de 20 x 20 x 20 cm, às quais foram adicionados 150 g de superfosfato simples e 10 g de cloreto de potássio.

Para o procedimento de coleta de serrapilheira e folheto foram utilizadas as seguintes metodologias:

✓ Serrapilheira

Para a amostragem do material coletado em 2003, utilizou-se gabarito (quadrado de madeira) de 0,25m². Nas áreas sob a cobertura vegetal de acácia e sabiá (leguminosas), foram coletadas seis amostras simples, enquanto na área sob a cobertura de capoeira foram coletadas quatro amostras simples. A amostragem foi realizada ao acaso e, no caso das leguminosas revegetadas, entre linhas de plantio. Os componentes da serrapilheira foram devidamente separados (folhas, galhos, estrutura reprodutiva e material fragmentado), porém, o presente trabalho analisou as amostras de folhas e material fragmentado apenas.

✓ Folheto

As folhas coletadas em 2004 foram retiradas de 18 coletores espalhados por toda a área experimental, estando presentes seis coletores em cada uma delas (amostras simples).

A partir das amostras simples dos materiais utilizados (serrapilheira e do folheto) foram feitas amostras compostas das diferentes formas de coleta em cada área.

Além disso, as amostras foram analisadas caracterizando diferentes estágios de decomposição: como um primeiro estágio de decomposição, a folha

senescente do coletor, a folha senescente coletada com gabarito seria um segundo estágio, e por fim, o material já fragmentado, admitido como um terceiro e mais avançado estágio de decomposição.

O material fragmentado é a fragmentação da matéria orgânica por algumas espécies de organismos do solo que se alimentam de tecido vegetal em decomposição. Estes organismos fragmentam o material vegetal, não somente através de sua atividade alimentar, mas também devido à sua intensa movimentação na superfície do solo, levando a uma redução no tamanho de suas partículas. Como resultado, observa-se uma maior exposição de sítios favoráveis à colonização microbiana. Quanto mais fragmentado o material, mais rápido é o consumo da matéria orgânica.

4.1.2. Área de coleta das amostras de mata natural, *Theobroma cacao* (cacau) e dos sistemas agroflorestais de cacau-eritrina e cacau-cabruca.

O estudo foi realizado em diferentes sistemas agroflorestais de cacau (*Theobroma cacao*) no sul da Bahia, Brasil. As coberturas vegetais estão localizadas na Fazenda Brasileira, no município de Uruçuca e os sistemas agroflorestais de cacau diferenciam-se em função do tipo de sombreamento, idade de plantio das plantas de cacau e renovação de suas copas. Neste caso, coletaram-se folhas de cacau fotossinteticamente ativa (FFA), folhas de cacau do sistema cacau-eritrina (CE), folha de cacau do sistema cacau-cabruca (CC), folha eritrina do sistema cacau-eritrina (CE), folha de árvore de sombra do sistema cacau-cabruca (CC) e folha de árvore de mata natural (MN).

As folhas senescentes das árvores de sombra e de cacau foram coletadas no período de novembro de 2003 a outubro de 2004, em coletores de 0,64 m² (0,80 x 0,80 m de lado), com 10 repetições, distribuídas aleatoriamente nas parcelas de 1500 m². Foram feitas amostras compostas de cada área.

A área de *cacau com eritrina* (CE) possui solo classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo. Neste sistema foi retirado todo revestimento florístico da área (método da derruba total) para formação de plantações tecnicamente orientadas de cacau e árvores de sombra (*Erythrina* spp.). Com idade aproximada de 25 anos, foi feita a renovação de copa das plantas de cacau

por material genético resistente à doença vassoura de bruxa (*Crinipellis pernicioso*), proveniente da coleção de germoplasmas de cacau da Almirante Cacau.

A área de *cacau cabruca* (CC), possui solo classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo. A cabruca é um sistema de cultivo do cacau em consórcio com a mata natural. Neste sistema, a vegetação rasteira e as árvores de menor porte são retiradas, permanecendo somente aquelas que poderão sombrear as plantas de cacau. Houve também renovação da copa das plantas de cacau, de aproximadamente 25 anos de idade.

Mata natural (MN), possui solo classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo e com pouca intervenção antrópica.

O estudo das amostras citadas anteriormente, não faz comparação com o efeito do processo de decomposição e sim realiza análises químicas para comparação entre espécies com características semelhantes.

4.2. Secagem e moagem do material vegetal

Todas as amostras foram secas a uma temperatura de aproximadamente 75 °C em estufa com circulação de ar MA 035, por 24 horas. Depois de desidratadas, as amostras foram devidamente moídas em moinho de facas, tipo Willy, com peneira 20 mesh.

4.3. Preparação dos extratos

O material vegetal depois de moído e pesado foi submetido à extração através de maceração exaustiva com metanol a frio, filtrado, evaporado a pressão reduzida e pesado.

4.4. Avaliação do teor de polifenóis totais

Neste trabalho, os polifenóis (polifenóis solúveis, taninos hidrolisáveis e condensados, assim como os polifenóis não-tanínicos) foram quantificados segundo o método de Folin-Dennis (Swain e Hillis, 1959; Shahidi e Nacz, 1995) em meio básico, (Figura 13). Como padrão utilizou-se uma solução de ácido tânico.

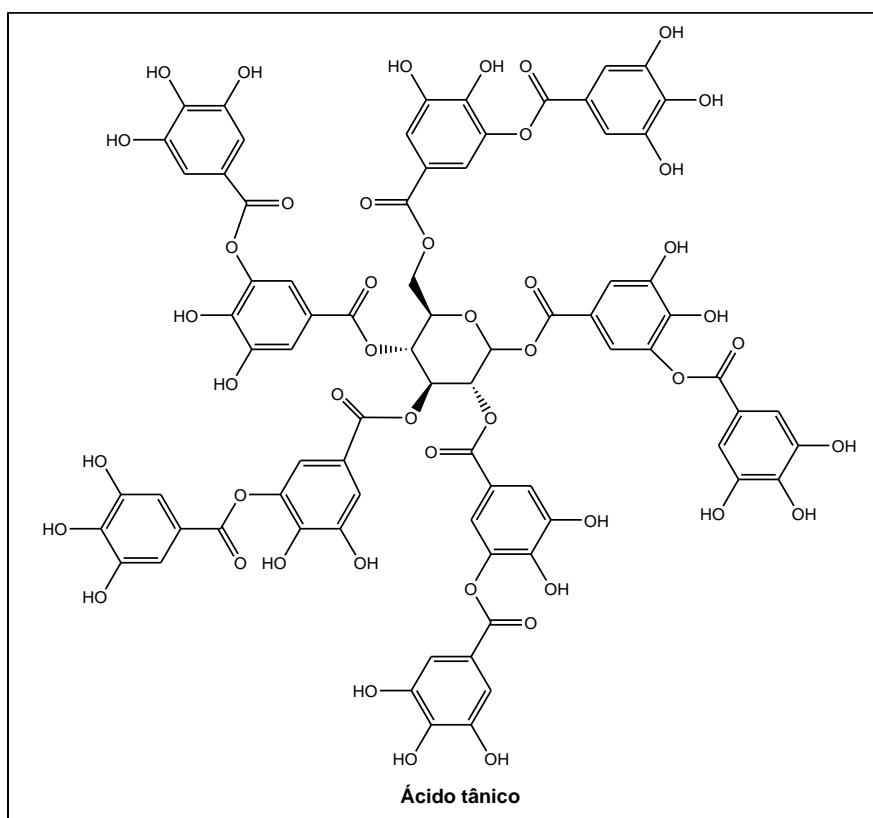


Figura 13. Estrutura do ácido tânico.

O método de Folin-Denis é o mais utilizado para a determinação de fenólicos totais em vegetais (Shahidi e Nacz, 1995). Este método descrito por Swain e Hillis (1959) baseia-se na redução em meio alcalino do reagente Folin-Denis (ácido fosfomolibdico + tungstato de sódio) pelas hidroxilas fenólicas, produzindo um complexo de coloração azul, que é medido a 760 nm. A reação

ocorre em meio alcalino e a solução saturada de carbonato de sódio é a base mais indicada (Swain e Hillis, 1959).

Para a preparação da curva padrão, foram pipetadas alíquotas de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0 mL da solução estoque de ácido tânico (0,05g de ácido tânico em 500 mL de água destilada) em balões volumétricos de 10 mL. Em seguida, foi adicionado à solução 0,5 mL do reagente Folin-Denis [375 mL de água destilada a uma mistura de 50 g de tungstato de sódio ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 10 g de ácido fosfomolibdico e 25 mL de ácido ortofosfórico (H_3PO_4)], 2,0 mL da solução de carbonato de sódio 17% (Na_2CO_3) (170g de carbonato de cálcio em 1000 mL de água destilada) e depois o volume foi completado com água destilada. A solução homogeneizada ficou em repouso por 30 minutos e em seguida foi realizada a leitura da absorbância a 760 nm no espectrofotômetro (Espectrofotômetro UV-VIS Hitachi, mod. U2000, Shimadzu). As soluções de coloração levemente amarelada adquirem coloração azul-marinho cuja intensidade é proporcional à concentração de polifenóis.

Para a execução do ensaio, inicialmente foi realizada a extração dos polifenóis totais: as amostras de folha foram pesadas (0,75 g) e transferidas para tubos de ensaio de 50 mL, sendo adicionados 20 mL de MeOH 50%. Em seguida, a solução foi aquecida em banho-maria à temperatura de 80°C por 1 hora e após resfriamento, transferida e filtrada através de papel de filtro para balões volumétricos de 50 mL. O volume foi completado com água destilada.

Em seguida, foi transferido para um balão volumétrico de 10 mL, 0,2 mL de extrato, 0,5 mL de reativo de Folin-Denis, e 2,0 mL de carbonato de sódio 17%. O volume foi completado com água destilada e a solução homogeneizada, ficando em repouso por 30 minutos. O branco foi feito em paralelo e a leitura efetuada no espectrofotômetro (Espectrofotômetro UV-VIS Hitachi, mod. U2000, Shimadzu).

4.5. Avaliação do teor de lignina e celulose

O teor de lignina foi determinado pelo método de Fibra em Detergente Ácido [FDA - 5L de solução 0,5 M de ácido sulfúrico, 100 g de cetiltrimetil amônio bromídrico, CTAB ($\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{BrN}$)] de Van Soest e Wine (1968), que se baseia na

separação das diferentes frações constituintes do material, utilizando-se reagentes específicos denominados detergentes. Nesse procedimento, foram utilizados o ácido sulfúrico (H_2SO_4) e o (CTAB) para eliminar o amido e os compostos nitrogenados, restando, assim, a lignina, celulose e cinzas. A celulose foi destruída pelo ácido sulfúrico 72% e assim, a lignina foi determinada pela diferença de peso, subtraindo-se as cinzas pela queima a 550 °C, em mufla (Anderson e Ingram, 1996).

Inicialmente, foram pesados 250 mg de amostra de folha que em seguida foi transferida para um tubo de ensaio de digestão. Foram adicionados 50 mL de solução FDA, deixando em repouso por 18 horas. Após esse período, o conteúdo do tubo de ensaio foi aquecido até atingir a temperatura de 125 °C por mais 1 hora.

Os cadinhos foram colocados na estufa a 105 °C para secar e depois transferidos para o dessecador, onde pudessem esfriar sem absorver umidade, sendo em seguida pesados (Pc).

As amostras de folhas foram transferidas do tubo de ensaio para os cadinhos e lavadas com água destilada quente, por várias vezes. Depois as amostras foram lavadas com acetona e secas na estufa a 105 °C. Os cadinhos contendo as amostras foram novamente pesados (a).

As amostras foram cobertas por H_2SO_4 72% (720 mL de ácido sulfúrico e 380 mL de água destilada para 1L de solução), por 3 horas. Em seguida, repetiram-se os processos de secagem na estufa a 105 °C, esfriagem no dessecador e pesagem (b). Logo após, os cadinhos foram colocados na mufla e quando a temperatura atingiu 550 °C manteve-se por 4 horas. Desligada a mufla, ao atingir a temperatura de 105 °C, os cadinhos foram retirados, colocados no dessecador e depois de frios, pesados (c).

Os teores de lignina e celulose puderam ser calculados através das seguintes fórmulas: % de celulose = $100 (a - b) / P$ e % de lignina = $100 (c - Pc) / P$, onde: a = é a primeira pesagem, b = segunda pesagem, c = terceira pesagem, P = peso da amostra e Pc = peso do cadinho.

4.6. Avaliação do teor de flavonóides totais

A dosagem de flavonóide foi feita de acordo com o método proposto por Rio (1996) modificado, onde se utilizou o flavonóide rutina (Figura 08 pag. 20) como padrão, em solução de cloreto de alumínio (AlCl_3). Inicialmente, 10 mg da amostra de extrato bruto foram diluídas em 250 mL de metanol (MeOH) 70%. Uma alíquota de 15 mL foi colocada em balão volumétrico acrescida de 1 mL de solução de cloreto de alumínio (5 g de cloreto de alumínio em 100 mL de MeOH), segundo Markham (1982), sendo o volume completado para 50 mL.

Após repouso de 30 minutos, fez-se leitura da absorbância a 425 nm em espectrofotômetro UV/visível Beckman DU 70 para se obter a concentração de flavonóides. A análise foi feita em triplicata. Os dados de absorbância das amostras foram comparados com uma curva padrão, construída a partir de soluções com concentrações crescentes de rutina. A solução padrão de rutina foi preparada com MeOH 70% em uma concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$. Alíquotas de 3,5 mL (7,5 $\mu\text{g/mL}$) a 7,5 mL (15 $\mu\text{g/mL}$), com intervalos de 0,5 mL foram utilizadas para a confecção da curva padrão, acrescidas de 1 mL de cloreto de alumínio e completadas para 50 mL com MeOH 70%.

4.7. Avaliação da atividade antioxidante

Na avaliação da atividade antioxidante relacionada aos fenólicos totais foi utilizado o método indireto quantitativo que utiliza o DPPH como seqüestrador de radicais livres (Brand-Williams et al., 1995; Sanchez – Moreno et al., 1998), como padrão foi utilizado o flavonóide rutina (Figura 11, pag. 29).

Uma solução estoque (1,0 mg/mL) foi preparada a partir das amostras de extrato bruto (10,0 mg) em etanol (10,0 mL). A solução recém-preparada foi submetida à diluição de 250,0 $\mu\text{g/mL}$. A análise foi realizada reagindo-se 1,0 mL de uma solução etanólica 0,3 mM de DPPH com 2,5 mL da diluição preparada dos extratos. Após 30 minutos, a leitura do decaimento da absorção do DPPH foi lida em um espectrofotômetro de luz ultravioleta a 518 nm.

Os valores das absorbâncias obtidos foram convertidos em porcentagem de atividade antioxidante (AA%) através da seguinte fórmula: $AA\% = 100 - \{[(Abs_1 -$

$Abs_2) \times 100] / Abs_3$, onde: Abs_1 = absorção da amostra, Abs_2 = absorção do branco (2,5mL da diluição da amostra analisada e 1,0 mL de etanol) e Abs_3 = absorção do controle negativo (1,0 mL de solução de DPPH e 2,5 mL de etanol).

4.8. Análise estatística

Utilizou-se o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas - SAEGDemo para avaliação dos resultados. Os dados foram submetidos à análise de variância, segundo delineamento inteiramente casualizado, com três repetições nas análises dos atributos químicos. Adotou-se para comparação de médias, o teste de Tukey, a 5%. Cada cobertura florestal foi considerada um tratamento de efeito fixo, a exemplo do procedimento empregado por Lugo et al., (1990).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Estudo das amostras de folha e material fragmentado, de *Acacia auriculiformis* (acácia), *Mimosa caesalpinifolia* (sabiá) e Fragmento florestal de Mata Atlântica em sucessão secundária (capoeira), em três estágios de decomposição, coletadas na Fazenda Carrapeta, no Município de Conceição de Macabu, RJ.

Os vegetais superiores sintetizam e acumulam uma grande diversidade de substâncias fenólicas (Julkunen-Tiitto, 1985 *apud* Santos et al., 1998). Essas substâncias naturais são numerosas e variadas, estando representadas em quase todas as classes de metabólitos especiais (Smith, 1976). Na classificação de Waterman e Mole (1994) são descritos fenóis simples (com um único anel aromático), metabólitos mais complexos baseados no esqueleto C_6C_3 , metabólitos com o esqueleto carbônico $C_6C_{0-2}C_6$, metabólitos com o esqueleto $C_6C_3C_6$, quinonas, benzofenonas e substâncias afins, alcalóides, terpenos e, finalmente, fenóis mascarados.

Analisando a quantidade de polifenóis totais (PFT), flavonóides totais (FLT) e a atividade antioxidante (AA) nos três estágios de decomposição [primeiro estágio de decomposição (PED), segundo estágio de decomposição (SED) e terceiro e mais avançado estágio de decomposição (TED)] dentro de cada cobertura florestal (acácia, sabiá e capoeira), pode-se observar inicialmente, que a análise da amostra de acácia apresentou no PED o maior teor de PFT, FLT,

assim como a maior AA, sugerindo-se que neste PED, a taxa de decomposição e a liberação de nutrientes tenha sido menor, e conseqüentemente tenha ocorrido um maior acúmulo de serrapilheira (Swift et al., 1979, *apud* Monteiro e Gama-Rodrigues, 2004). Na análise da amostra de acácia no SED, foi observado teor intermediário de PFT, menor teor de FLT e AA estatisticamente igual a AA observada na análise desta amostra no TED. E por fim, na análise respectiva ao TED da amostra de acácia, foi determinada a menor quantidade de PFT, e teor intermediário de FLT (Figura 14, pag. 45; Tabela 1A).

A análise do PED, SED e TED da amostra de sabiá, mostrou que na determinação de PFT e FLT, os maiores teores foram determinados no PED da amostra, enquanto que na análise de AA não foi observado diferença significativa entre os três diferentes estágios de decomposição. A análise da amostra no SED apresentou teor intermediário de PFT e FLT, porém nesta última análise, não houve diferença significativa, se comparada com o TED.

Assim, como observado na análise da amostra de acácia, a análise da amostra de capoeira apontou os maiores teores de PLT e FLT no PED. A maior AA, também foi observada neste estágio inicial de decomposição (PED), porém no caso desta análise, não houve diferença significativa com o estágio mais avançado de decomposição (TED). A análise da amostra de capoeira no SED apresentou teores intermediários de PFT e FLT, além da menor AA observada. Conseqüentemente, os menores teores de PFT e FLT, foram detectados no TED da análise da amostra de capoeira.

A ordem decrescente de teor de PFT, observada na análise das amostras das três coberturas florestais, pode ser explicada pelo fato de a composição relativa de polifenóis poder mudar consideravelmente durante a senescência dos tecidos vegetais e assim, ocorrer uma diminuição substancial no número e na concentração de fenólicos de baixo peso molecular, o que tem sido observado em folha de serrapilheira em comparação a folhas verdes (Hättenschwiler e Vitousek, 2000). Essa perda de polifenóis solúveis é devida principalmente, a processos de lixiviação conforme relatado por (Handayanto et al., 1997; Hättenschwiler e Vitousek, 2000; Costa et al., 2005) (Figura 14a, pag. 45; Tabela 1A).

A princípio era de se esperar que a análise do PED, de todas as três coberturas florestais, apresentasse os maiores teores de PFT, FLT e a maior AA, o SED apresentasse teores intermediários dessas variáveis e que o TED

apresentasse os menores teores, seguindo a ordem de estágios de decomposição. Porém, como visto anteriormente, este fenômeno não foi observado integralmente na análise das amostras de acácia, sabiá e capoeira, pois ao realizar o estudo destas variáveis nas amostras, deve-se levar em consideração não somente a quantidade, como também a qualidade dessas substâncias, dado a ampla diversidade.

O Acréscimo de teor de FLT, na análise da amostra de acácia, do SED para o TED, influenciou o resultado da AA dos mesmos, não sendo observada diferença significativa entre estes dois estágios de decomposição nesta análise, o que pode ser devido à presença de flavonóides de diferentes qualidades, ou seja, com mais ou menos hidroxilas fenólicas livres. Assim, sugere-se que a amostra no SED, apesar de ter apresentado menor teor de FLT que no TED, apresente flavonóides com maior quantidade de hidroxilas fenólicas livres (-OH) que a amostra no TED (Figura 14b e 14c, pag. 45; Tabela 1A).

Na análise de FLT, da amostra de sabiá, a queda de teor observada do PED para o SED e TED, é devido às perdas ocorridas, principalmente, através de processos de lixiviação, assim como, observado na análise de PFT vista anteriormente.

O consumo de FLT do SED para o TED também era esperado, no entanto, não houve diferença significativa entre estes dois estágios de decomposição, o que pode ser atribuído a uma possível contaminação do material fragmentado no TED, por estruturas reprodutivas ricas em flavonóides capazes de interferir no resultado da análise, elevando o teor de FLT, presente neste TED, ou seja, durante a amostragem desse material, ocorre uma dificuldade de realização do processo de separação dos componentes fragmentados da serrapilheira, que é muito diferente de folhas, podendo ter permanecido presentes na amostra, outros materiais além de folhas, como por exemplo, flores que são estruturas reprodutivas abundantes em flavonóides, o que explicaria um aumento no teor de PFT (Degáspari e Waszczyński, 2004).

A análise quantitativa de FLT em diferentes coberturas florestais é um tema pouco explorado, vários fatores ambientais podem influenciar a produção de flavonóides nas plantas, como, por exemplo, infecção, temperatura, nutrição, injúria, metabolismo de hidratos de carbono e do nitrogênio e qualidade de radiação (Blank, 1947). A radiação solar é um dos fatores que, via de regra, está

relacionada à variação quantitativa. Vários trabalhos demonstram que há um aumento quantitativo de flavonóides em órgãos expostos à luz, em comparação com aqueles que estão à sombra (Hillis e Swan, 1959, Trouchet, 1966 e 1967 *apud* Bohm, 1987 e Holst, 1977).

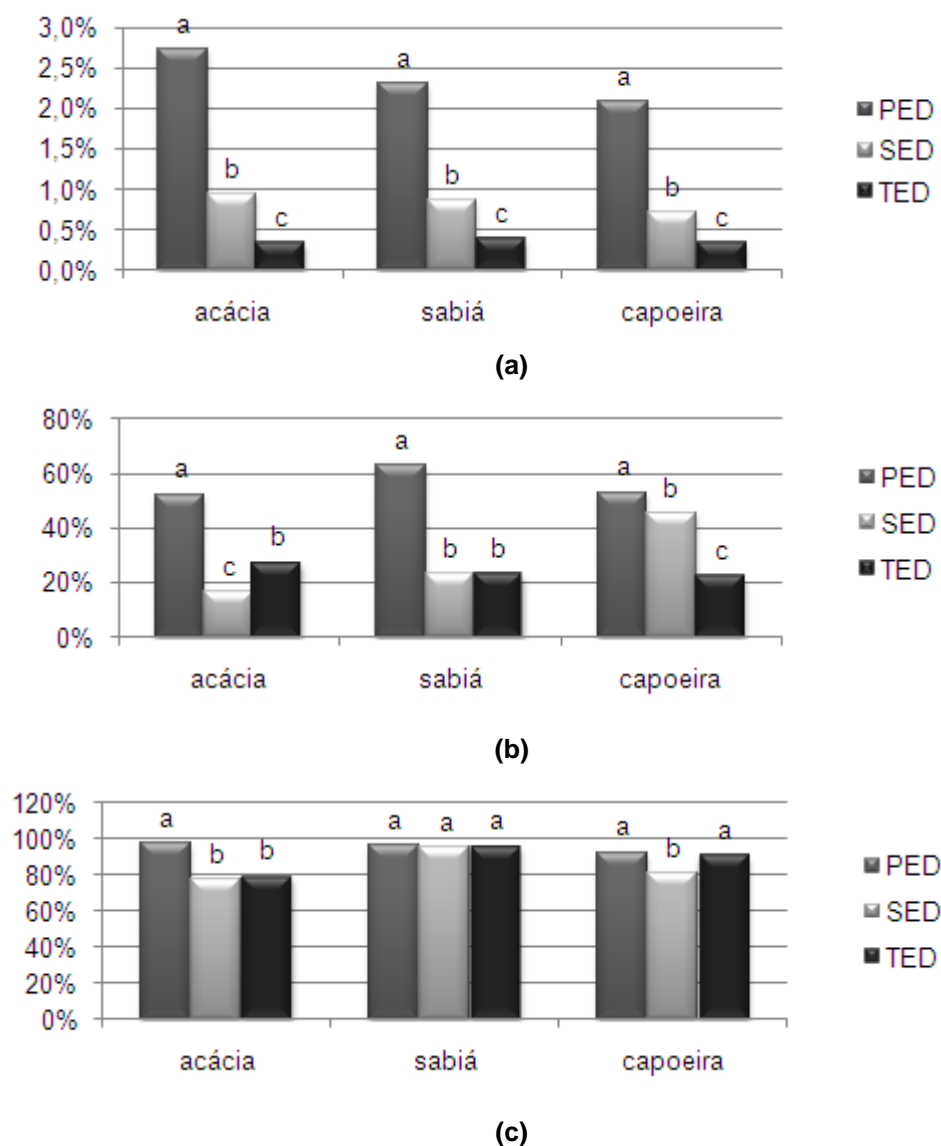
Mesmo não sendo observada diferença significativa entre os três diferentes estágios de decomposição, através de cálculos de proporções tendo como base os resultados da análise de PFT e FLT, pode-se inferir que devido ao elevado teor de FLT em contrapartida ao teor mais baixo de PFT, a AA da amostra de sabiá no PED, está relacionada, principalmente, à presença de substâncias flavonoídicas. Já a análise da AA das amostras de acácia e capoeira, no PED, pode ser explicada pela presença de FLT e pelo somatório dos demais polifenóis presentes em igual proporção. No SED e TED, a análise da AA dessas amostras (acácia e capoeira) é explicada principalmente pela presença de outros polifenóis presentes, como por exemplo, ácidos fenólicos, cumarinas, taninos e ligninas.

O fato de não ter sido observado diferença estatística significativa entre as AA, nos três diferentes estágios de decomposição, na análise da amostra de sabiá, pode estar relacionado com o tipo de flavonóides presentes, ou seja, a eficácia da substância fenólica está relacionada ao grau de hidroxilação. A presença de açúcares na molécula, por exemplo, reduz a AA desta, assim, glicosídeos com uma menor AA do que seus correspondentes apresentando agliconas (Kuskoski et al., 2004; Wang et al., 1997). A estabilidade do radical formado também é um fator que pode ter influenciado no potencial antioxidante, sendo maior nas substâncias que possuem maior capacidade de estabilizar o radical formado por deslocalização do elétron desemparelhado através de sua estrutura (Figura 08, pag. 20) (Duarte-Almeida et al., 2006).

Dentre as substâncias fenólicas, destacam-se os ácidos fenólicos presentes nas formas livres e complexadas. Estes compostos foram identificados e quantificados em diversos tipos de frutas e vegetais, apresentando alta correlação com a AA demonstrada pelas mesmas. No entanto, existe grande variação no conteúdo de fenólicos encontrado em diferentes frutas e vegetais, ou até mesmo para as mesmas, avaliados em diferentes estudos. Estas diferenças podem ser devido à complexidade desse grupo de compostos, aos métodos de extração e/ou à metodologia de quantificação empregada. Além disso, as

substâncias fenólicas das plantas dependem de fatores intrínsecos (gênero, espécie, cultivar) e extrínsecos (condições ambientais e de cultivo, manejo e condições de armazenamento) que essas substâncias fenólicas podem provocar (Einbond et al., 2004, Holmman e Arts, 2000; King e Young, 1999, Soares, 2002, Balasundram et al., 2006 e Tomás-Barberan e Espín, 2001 *apud* Rockenbach et al., 2008).

No solo, os polifenóis solúveis podem enfrentar quatro diferentes destinos. Eles podem ser degradados e mineralizados por microorganismos heterotróficos como fonte de carbono, eles podem ser transformados em substâncias húmicas insolúveis e recalcitrantes através de polimerização e reações de condensação (com a contribuição de microorganismos do solo), eles podem absorver minerais de argila ou formar quelatos com íons de Al ou Fe, ou eles podem permanecer na forma dissolvida, sendo arrastados pela água por percolação e, finalmente, deixar o ecossistema como parte do carbono orgânico dissolvido (Hättenschwiler e Vitousek, 2000).



- PED= primeiro estágio de decomposição, SED= segundo estágio de decomposição e TED= terceiro estágio de decomposição;
- Letras iguais por cobertura vegetal, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

Figura 14. Análises de amostras de acácia, sabiá e capoeira (%) em três diferentes estágios de decomposição. (a) teor de polifenóis totais (CV% das amostras de acácia= 1.82; sabiá= 7.75 e capoeira= 5.33) (b) teor de flavonóides totais (CV% das amostras de acácia= 8,03; sabiá= 11,34 e capoeira= 3.46). (c) atividade antioxidante (CV% das amostras de acácia= 1,49; sabiá= 0.55 e capoeira= 1,36).

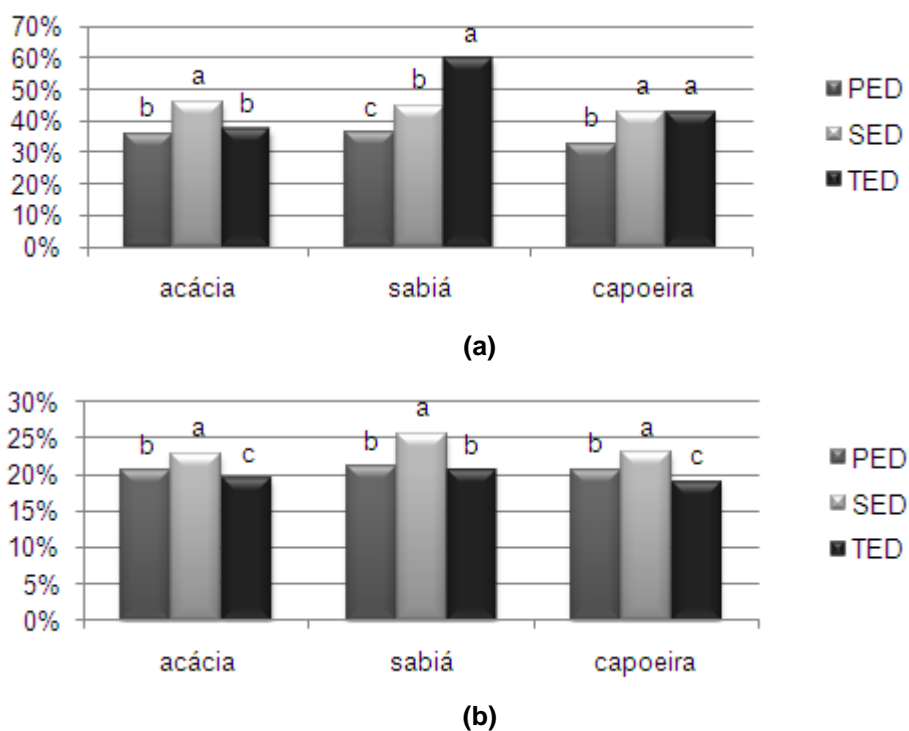
A análise de lignina (LIG) da amostra de acácia apontou os menores teores no PED e TED, enquanto que a amostra no SED apresentou o maior teor. Já a análise de LIG da amostra de sabiá, apresentou ordem crescente de teor, se comparado com o crescente estágio de decomposição, ou seja, PED apresentou o menor teor, SED teor intermediário, e TED o maior. E por fim, a análise da amostra de capoeira apresentou nesta mesma análise, os maiores teores no SED e TED, enquanto que o menor teor de LIG foi determinado na análise da amostra no PED (Figura 15a, pag. 48; Tabela 1A).

Tanto o fato das análises das amostras das três diferentes coberturas terem apresentado no PED o menor teor, se comparado com o SED, quanto o fato de a análise da amostra de sabiá ter apresentado maior teor de LIG no SED em comparação ao TED, são devido a concentração de LIG ter tendência a aumentar, relativamente, em estágios mais avançados de decomposição, devido às suas características recalcitrantes mais resistentes à degradação (Hammel, 1997; Harborne, 1997; Saliba et al., 2001). No entanto, a análise da amostra de acácia ter apresentado no TED menor teor se comparado com a quantidade encontrada no SED, e a análise da amostra de capoeira ter apresentado no TED teor estatisticamente igual ao SED, não era esperado, e pode ser devido à qualidade do material no TED, ou seja, o resultado observado pode ser devido à possibilidade de uma contaminação amostral do material fragmentado, como descrito anteriormente.

A lignina é um polímero altamente aromático, produzido pelas plantas a partir dos carboidratos através do processo de lignificação e no solo é uma fonte importante para a formação de matéria humificada (Tan, 1994). Os principais produtos da hidrólise da lignina no solo são os compostos fenólicos e o metanol. Segundo Filley et al., 2002 *apud* Budziak et al., 2004, lignina são removidos gerando grupos aromáticos ricos em hidroxilas, produzidos durante a degradação de lignina e celulose, simultaneamente, grupos metoxílicos de abundantemente na forma *orto*-di-hidroxi (catecol). Os compostos fenólicos produzidos são queladores de ácidos duros, como íons Fe^{3+} , e fonte de elétrons na redução destes íons férricos.

Como pode ser observado na Figura 15b, pag. 48 (Tabela 1A), na análise de celulose, das amostras de acácia e capoeira, o maior teor foi encontrado no SED, o menor no TED, apresentando o PED teor intermediário. Já na análise da

amostra de sabiá, apesar de não ter existido diferença significativa entre o PED e o TED, também pode ser observado uma elevação de teor do PED para o SED, seguido de uma queda significativa de teor do SED para o TED, como visto nas demais amostras. De acordo com Cardoso (1992) com a decomposição, elevam-se os teores de CEL e LIG nos materiais vegetais, como observado na análise das amostras (acácia, sabiá e capoeira) no PED e SED, no entanto, em estágios mais avançados de deterioração, como se sugere ser o caso das amostras no TED, o enriquecimento de lignina deve ocorrer em detrimento ao declínio de celulose (Figura 15b, pag. 48), o que explicaria a queda brusca de teor de LIG do SED para o TED das amostras.



- PED= primeiro estágio de decomposição, SED= segundo estágio de decomposição e TED= terceiro estágio de decomposição;
- Letras iguais por cobertura vegetal, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 %.

Figura 15. Análises de amostras de acácia, sabiá e capoeira (%) em três diferentes estágios de decomposição. (a) teor de lignina (CV% das amostras de acácia= 1,45; sabiá= 0,10 e capoeira= 0,04). (b) teor de celulose (CV% das amostras de acácia= 0,16; sabiá= 1,48 e capoeira= 0,08).

5.2. Estudo das amostras de folha de mata natural, *Theobroma cacao* (cacau) e dos sistemas agroflorestais de cacau-eritrina e cacau-cabruca coletados na Fazenda Brasileira, cidade de Uruçuca, Região Sul da Bahia.

As análises de PFT, FLT, AA, LIG e CEL, destas amostras, foram realizadas no intuito de se estudar a influência dessas coberturas florestais e agroflorestais na formação da matéria orgânica, através da quantidade e até mesmo da suposta qualidade do material que esta sendo depositado no sistema-solo.

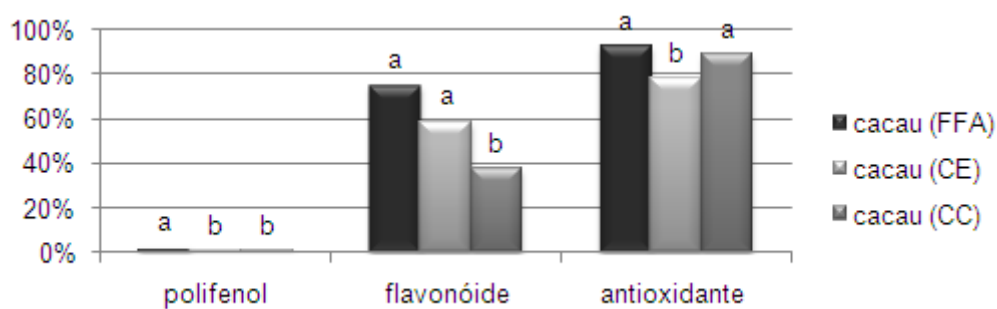
De acordo com a Figura 16a, pag. 51 (Tabela 2A), a análise da amostra de folha de cacau (FFA) apresentou maiores teores de PFT, FLT, e a maior AA, comparado às análises das amostras de folha de cacau (CE) e de cacau (CC). Porém, a análise dessa amostra não apresentou diferença significativa da amostra de folha de cacau (CE) na análise de FLT, assim como da amostra de folha de cacau (CC) na análise de AA. As amostras de folha de cacau (CE) e cacau (CC) apresentaram os menores teores na análise de PFT, a amostra de folha de cacau (CC) o menor teor na determinação de FLT e amostra de folha de cacau (CE) o menor teor na análise de AA.

Os elevados teores de PFT, FLT e conseqüentemente a maior AA observados na análise da amostra de folha de cacau (FFA) eram esperados, uma vez que folhas verdes tendem a apresentar elevado teor de substâncias fenólicas solúveis. Já a amostra de folha de cacau (CE) apesar de ter apontado menor teor na análise de PFT, apresentou elevada quantidade de FLT, o que não foi suficiente para que sua AA fosse maior que as observadas na análise das outras amostras. Pelo contrário, a análise da amostra de cacau (CC) apesar de ter apresentado menor teor de PFT, assim como o menor teor de FLT, obteve maior AA, assim como a amostra de folha de cacau (FFA). Estes resultados são provavelmente reflexos do tipo de flavonóides presentes, ou seja, os tipos de flavonóides detectados na amostra de cacau (CE) devem ser mais pobres em hidroxilas fenólicas livres, enquanto que os flavonóides detectados na amostra de cacau (CC) devem ser mais ricos em hidroxilas fenólicas livres (Hillis e Swan, 1959; Trouchet, 1966 e 1967 *apud* Bohm, 1987 e Holst, 1977; Kuskoski et al., 2004; Wang et al., 1997; Hättenschwiler e Vitousek, 2000).

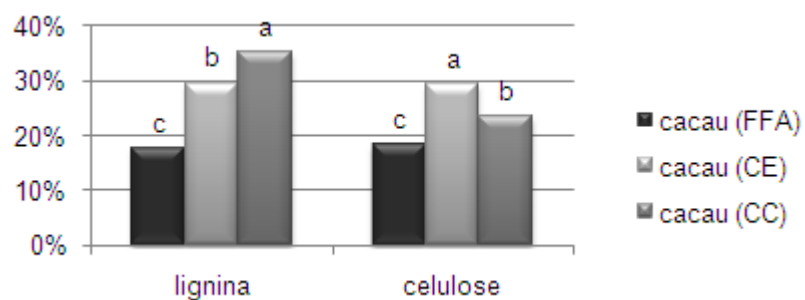
De acordo com cálculos proporcionais, relacionados ao teor de PFT e FLT, pode-se inferir que a AA encontrada na análise das amostras de folhas de cacau FFA e de cacau (CE) é devido principalmente à presença dos FLT. Entretanto, o valor encontrado na análise da amostra de folha de cacau (CC) é devido, sobretudo à presença de outros polifenóis.

Na Figura 16b, pag. 51 (Tabela 2A), pode-se observar que os menores teores determinados de LIG e CEL foram relativos à amostra de folha de cacau FFA. Já o maior teor determinado na análise de LIG, foi encontrado na amostra de folha de cacau (CC), enquanto que na análise de CEL quem apresentou a maior quantidade foi a amostra de folha de cacau (CE).

A explicação para os resultados observados para a análise de LIG e CEL das amostras pode estar relacionada ao fato de a amostra de folha de cacau FFA ainda estar em pleno metabolismo, enquanto que nas amostras de folha de cacau (CC) e de cacau (CE) os processos de decomposição, como, por exemplo, oxidação e hidrólise já se encontram em fase inicial, o que influi nos teores dos metabólitos analisados.



(a)



(b)

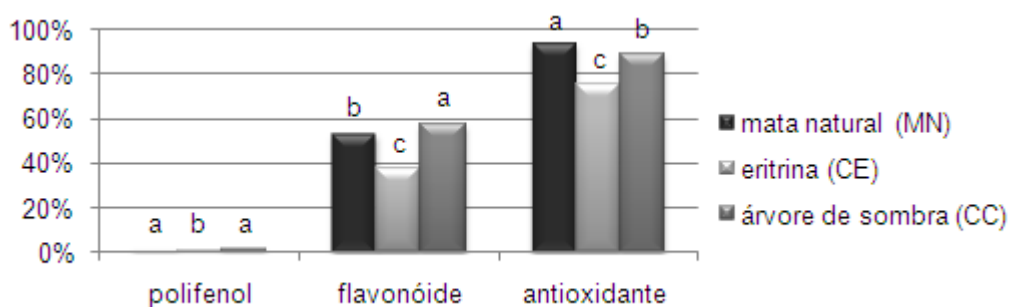
- Letras iguais por cobertura vegetal, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 %.

Figura 16. Análises em %, de amostras de folha de cacau fotossinteticamente ativa, cacau (CE) e cacau (CC). (a) teor de polifenóis totais (CV%= 5,96); teor de flavonóides totais (CV%= 13,40); atividade antioxidante (CV%= 3,56). (b) teor de lignina (CV%= 0,03); teor de celulose (CV%= 0,05).

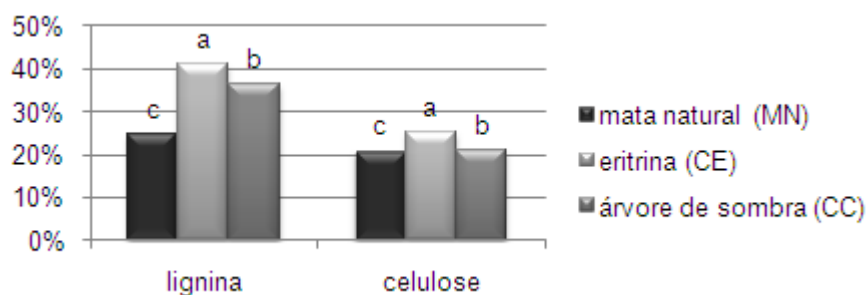
Na Figura 17a, pag. 53, pode-se observar que as amostras MN e da árvore de sombra (CC) aprontaram os maiores teores nas análises de PFT. Já na análise de FLT (Figura 17b, pag. 53; Tabela 3A) foi observado o maior teor na amostra de folha de árvore de sombra (CC) e teor intermediário para a amostra de folha de MN. No entanto, como a amostra de folha de MN apresentou maior AA que a amostra de folha de árvore de sombra (CC) (Figura 17c, pag. 53; Tabela 3A), se sugere que a qualidade dos flavonóides detectados nesta amostra tenha influenciado o resultado da análise, ou seja, os flavonóides presentes na amostra de folha de MN apresentaram maior número de hidroxilas fenólicas livres que a amostra de árvore de sombra (CC). Em contrapartida, os baixos teores da análise de PFT e FLT, conferem à amostra de folha de eritrina (CE) os menores índices de AA.

Os teores de AA determinados na análise das amostras das folhas de MN e da árvore de sombra (CC) são devidos principalmente à presença de FLT, enquanto que a AA encontrada para a amostra de folha de eritrina (CE) é devido à presença de outros polifenóis, principalmente.

Já nas análises de LIG e CEL, o resultado é inverso, a amostra de folha de eritrina (CE) apresentou as maiores taxas, enquanto que a amostra de folha de MN as menores, se apresentado como uma amostra de folha mais rica em materiais recalcitrantes, em comparação às outras amostras analisadas.



(a)



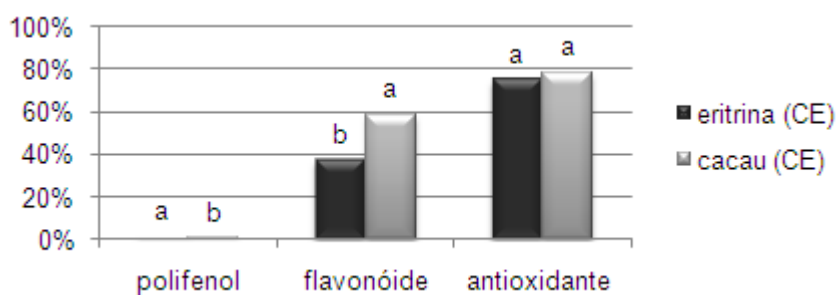
(b)

- Letras iguais por cobertura vegetal, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

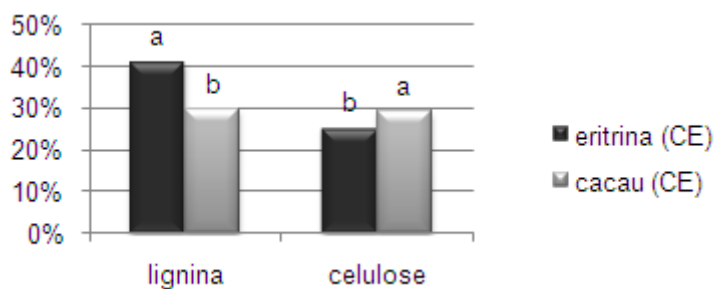
Figura 17. Análises em %, de amostras de folha de mata natural (MN), eritrina (CE) e árvore de sombra (CC). (a) teor de polifenóis totais (CV%= 5,64); teor de flavonóides totais (CV%= 2,56); atividade antioxidante (CV%= 2,14). (b) teor de lignina (CV%= 0,34); teor de celulose (CV%= 0,03).

A amostra de folha de eritrina (CE) apesar de ter apresentado o maior teor na análise de PFT, como mostra a Figura 18a, pag. 55 (Tabela 4A), apresentou menor quantidade de FLT, se comparado com a amostra de cacau (CE) desse mesmo agrossistema florestal. A AA dessa amostra está relacionada ao tipo de flavonóide presente, possivelmente mais rico em hidroxilas fenólicas livres. No entanto, mesmo a amostra de folha de cacau (CE) tendo apresentado menor quantidade de PFT, sua AA estatisticamente igual à amostra de folha de eritrina (CE) pode ser proporcionada pela presença de uma maior concentração de PFT, mesmo sugerindo-se que o tipo de flavonóides presentes nesta amostra, sejam menos ricos em FLT, em comparação aos flavonóides encontrados na amostra de folha de eritrina (CE). Segundo cálculos proporcionais realizados, a AA encontrada para a amostra de folha de eritrina (CE) está relacionada à presença de outros polifenóis, enquanto que a AA encontrada para a amostra de folha de cacau (CE) é devida principalmente à presença de flavonóides.

A amostra de folha de eritrina (CE) apresentou o maior teor de LIG, enquanto que a amostra de folha de cacau (CE) o maior teor de CEL (Figura 18b, pag. 55; Tabela 4A).



(a)



(b)

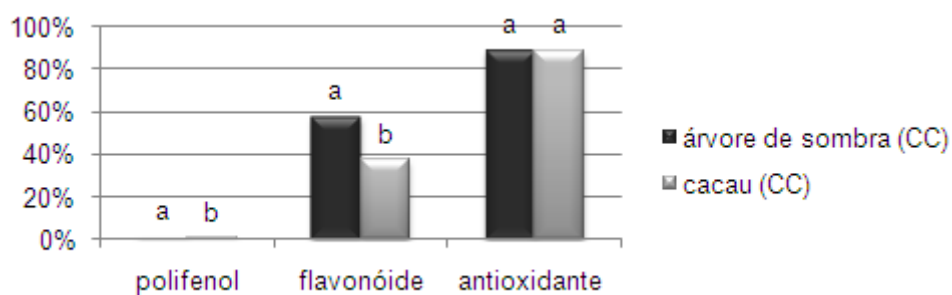
-
- Letras iguais por cobertura vegetal, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 %.

Figura 18. Análises em %, de amostras de folha de eritrina (CE) e de cacau (CE). (a) teor de polifenóis totais (CV%= 6,83); teor de flavonóides totais (CV%= 3,17); atividade antioxidante (CV%= 4,68). (b) teor de lignina (CV%= 0,04); teor de celulose (CV%= 0,06).

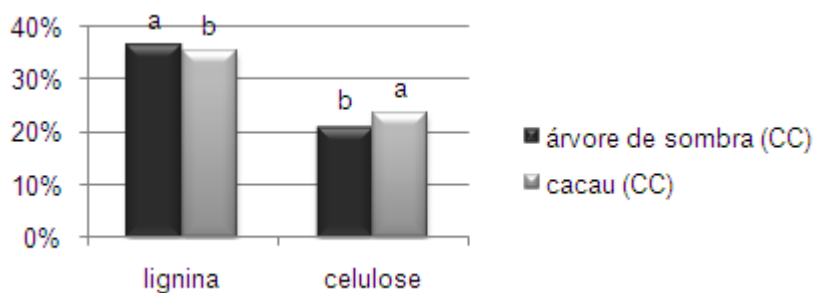
Pode-se observar na Figura 19a, pag. 57 (Tabela 5A), que a amostra de folha de árvore de sombra (CC) apontou maiores teores na análise de PLT e FLT, comparado aos resultados observados nas análises da amostra de folha de cacau (CC). Porém, não foi observada diferença significativa entre essas amostras na análise da AA. O que sugere que mesmo a amostra de cacau (CC) tendo apresentado menores teores de PFT e FLT, possivelmente esta possua maiores concentrações de flavonóides com maior número de hidroxilas fenólicas livres.

A AA encontrada na análise da amostra de folha de árvore de sombra (CC) é devido principalmente à presença de flavonóides, enquanto que a AA detectada na análise da amostra de folha de cacau (CC) é devido aos demais polifenóis.

A análise da amostra de folha de árvore de sombra (CC) apresentou o maior teor de LIG, enquanto que a análise da amostra de folha de cacau (CC) o maior teor de CEL (Figura 19b, pag. 57; Tabela 5A).



(a)



(b)

- Letras iguais por cobertura vegetal, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5 %.

Figura 19. Análises em %, de amostras de folha de árvore de sombra (CC) e de cacau (CC). (a) teor de polifenóis totais (CV%= 3,73); teor de flavonóides totais (CV%= 1,48); atividade antioxidante (CV%= 2,86). (b) teor de lignina (CV%= 0,40); teor de celulose (CV%= 0,02).

6. RESUMO E CONCLUSÕES

O estudo do potencial de retorno dos nutrientes por meio do folheto de espécies aptas a serem utilizadas em programas de revegetação, como as leguminosas, é essencial para o entendimento do processo de ciclagem de nutrientes nestas áreas, e sua sustentabilidade.

A análise das amostras de acácia, sabiá e capoeira apresentou maior quantidade de polifenóis totais e flavonóides totais nos estágios iniciais de decomposição. Na análise das amostras de sabiá e capoeira foram encontrados os maiores teores de lignina, principalmente, nos estágios mais avançados de decomposição. Os maiores teores de celulose, no entanto, foram determinados no segundo estágio de decomposição das três amostras analisadas.

A análise da amostra de folha de cacau fotossinteticamente ativa apresentou maiores quantidades de substâncias fenólicas solúveis, se comparado com as amostras de folha de cacau (cacau-eritrina) e de folha de cacau (cacau-cabruca). Já a análise da amostra de folha de cacau (cacau-cabruca), em relação a estas amostras, apresentou-se mais rica, em substâncias orgânicas mais resistentes à degradação (lignina), o que torna mais lento o processo de devolução de nutrientes para o solo. A amostra de folha da mata natural, comparada com a amostra de folha das árvores de sombra dos sistemas cacau-eritrina e cacau-cabruca apontou maior quantidade de substâncias orgânicas que atuam como agentes antioxidantes promovendo melhor proteção para o sistema.

As amostras de folhas das árvores de sombra dos sistemas cacau-eritrina e cacau-cabruca possuem maior quantidade de material recalcitrante, ou seja, de mais difícil degradação quando comparado com as amostras de mata natural, o que pode retardar o processo de decomposição e reposição de nutrientes nestes.

Os diferentes sistemas agroflorestais, ou seja, suas respectivas amostras de folhas de cacau e de árvores de sombra apresentaram através da análise das diferentes variáveis (polifenóis totais, flavonóides totais, atividade antioxidante, lignina e celulose) uma importante relação entre elas. As amostras de folhas de árvores de sombra dos dois agrossistemas apontaram os maiores teores de polifenóis totais e lignina em comparação às amostras de cacau dos respectivos agrossistemas. Já na análise de celulose, as amostras de folhas de árvores de sombra apresentaram menores teores se comparado com as amostras folhas de cacau. Além disso, não houve diferença significativa entre as amostras de folhas das árvores de sombra dos dois agrossistemas se comparado com as amostras de folha de cacau dos mesmos na análise da atividade antioxidante.

A única variável que se diferenciou foi a análise que mediu a concentração de flavonóides totais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, E. U., Sader, R., Bruno, R. L. A., Alves, A. U. (2004) Dormência e desenvolvimento de sementes de (*Mimosa caesalpinifolia* Benth.) *Revista Árvore*, Viçosa-MG, v.28, n.5, p.655-662.
- Anderson, J. D., Ingram, J. S. I. (1996) Tropical soil biology and fertility: A handbook of methods. 2.ed. Wallingford, *CAB International*, 171p.
- Assis, C. de, Toledo, C. B. de, Romaniuc Neto, S., Cordeiro, I. (1994) *Mata Atlântica*. São Paulo: FTD, 73 p.
- Bate-Smith, E. C., Swain, T. (1962) Compostos flavonóides. *In*: Mason, H. S., Florkin, A. M. (eds.) *Bioquímica comparativa*. V. 3a. *Academic Press*, Nova York.
- Benzie, I. F. F. (1996) Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurements and dietary influences. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, v.47, p.233-261.
- Benzie, I. F. F., Strain, J. J. (1999) Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid

- concentration. *In: Packer, L. (ed.) Methods in Enzymology*, Orlando, FL: *Academic Press*.vol. 299, pp. 15–27.
- Berg, B., Berg, M. P., Bottner, P., Box, E., Breymeyer, A., Couteaux, M., Calvo de Anta, R., Escudero, A., Gallardo, A., Kratz, W., Madeira, M., Mälkönen, E., McClaugherty, M., Meentemeyer, V., Munoz, F., Piussi, F., Remacle, J., Virzo de Santo, A. (1993) Litter mass loss rates in pine forests of Europe and Eastern United States: some relationships with climate and litter quality. *Biogeochemistry*, 20: 127-159.
- Bianchini, M. L. P., Antunes, L. M. G. (1999) Radicais livres e os principais antioxidantes de dieta. *Revista de Nutrição*, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130.
- Blank, F. (1947) The anthocyanin pigments of plants. *Botanical Review*, 13:241-317.
- Bohm, B. A. (1987) Intraspecific flavonoid variation. *Botanical Review*, 53:197-279.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss Technol*, v. 28, p. 25-30.
- Budziak, C. R., Maia, C. M. B. F., Mangrich, A. S. (2004) Transformações químicas da matéria orgânica durante a compostagem de resíduos da indústria madeireira. *Química Nova*, Vol. 27, N. 3, 399-403.
- Cadish, G., Giller K. E. (1997). *Driven by Nature: Plant Litter Quality and Decomposition*. *Wallingford: CAB Int.* 432 pp.
- Campello, E. F. C. (1998) Sucessão vegetal na recuperação de áreas degradadas. *In: Dias, L. E., Griffith, J. J. (eds.) Recuperação de áreas degradadas*. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, p.183-196.

- Cardoso, E. J. B. N. (1992) Efeito da matéria orgânica na biologia do solo. In: Encontro sobre matéria orgânica do solo: problemas e soluções, 1992, Botucatu. *Anais...* Botucatu: FCA/UNESP, p.37-62.
- Chakraborty, R. N., Chakraborty, D. (1989). Changes in soil properties under *Acacia auriculiformis* plantations in Tripura. *Indian Forester*. 115(4): 272-273.
- Chun, S. -S., Vatem, D. A., Lin, Y. -T., Shetty, K. (2005) *Process Biochemistry*. 40:809p.
- Consórcio Mata Atlântica (1992) *Reserva da biosfera da Floresta Atlântica*. Plano de Ação. Referências básicas. Campinas: *Editora da Universidade Estadual de Campinas*, v. 1, 147 p.
- Corrêa, M. P. (1975) Sabiá. In: Corrêa, M. P. *Dicionário das plantas úteis do Brasil*.
- Costa, G. S., Gama-Rodrigues, A. C., Cunha, G. M. (2005) Decomposição e liberação de nutrientes da serapilheira foliar em povoamentos de *Eucalyptus grandis* no norte fluminense. *Revista Árvore*, 29:563-570.
- Coûteaux, M. M.; Botter, P.; Berg, B. (1995) Litter decomposition, climate and litter quality. *Tree*, 10:63-66.
- Crawford, D. L, Pometto III, A. L. Crawford, R. L. (1983) Lignin degradation by *Streptomyces viridosporus*: Isolation and characterization of a new polymeric lignin degradation Intermediate. *Applied environmental microbiology*, v. 45, n. 3, p. 898-904.
- Degáspari, C. H., Waszczyński, N. (2004) Propriedades Antioxidantes de compostos fenólicos. *Revista Visão Acadêmica*. v.5, p.33-40.
- Dewick, P. M. (1997) *Medicinal natural products*. A Biosynthetic Approach, 466p.

- Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A., Capasso, F. (1999) Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences*, 65(4): 337-53.
- Duarte-Almeida, J. M., Santos, R. J., Genovenese, M. I., Lajolo, F. M. (2006) Avaliação da Atividade Antioxidante utilizando sistema beta-Caroteno/ Ácido Linoléico e Método de Seqüestro de Radicais DPPH. *Ciência Tecnologia Alimentos*, v.26 (2), p.446-452.
- Drumond, M. A., Pires, I. E., Brito, J. O. (1984) Algarobeira: uma alternativa para preservar as espécies nativas do Nordeste semi-árido. *In: Seminário sobre potencialidade florestal do semi-árido brasileiro*, 1., João Pessoa: *Silvicultura*, São Paulo, v.10, n.37, p.51-52, 1984. Edição especial.
- Entry, J. A., Backman, C. B. (1995) Influence of carbon and nitrogen on cellulose and lignin degradation in forest soils. *Canadian Journal of Forest Research*. Canada, 25: 1231-1236.
- Filho, D. W., Silva da, E. L., Boveris, A. (2001) *In: Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal*. Chapecó, p. 318-331.
- Franco, A. A., Faria, S. M. (1997) The contribution of N₂-fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics. *Soil biology and soil biochemistry*, 29:897-903.
- Franco, A. A. (1996) Fixação biológica do nitrogênio na agricultura tropical. *In: Alvarez V., V. H., Fontes, L. E., Fontes, M. P. (eds.) O solo nos grandes domínios morfoclimáticos do Brasil e o desenvolvimento sustentado*. Viçosa, MG, *Sociedade Brasileira de Ciência do Solo*, p.505-523.
- Fundação SOS Mata Atlântica e Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE) (2002) Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica: período 1995-2000. *Relatório Final*.

- Gama-Rodrigues, A. C., Barros, N. F., Mendonça, E. S. (1999) Alterações edáficas sob plantios puros e mistos de espécies florestais nativas do Sudeste da Bahia, Brasil. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 23: 581-592.
- Gama-Rodrigues, A. C., May, P. (2001) SAF e o planejamento do uso da terra: Experiência na região Norte Fluminense-RJ. *In: Macedo, J. L. V., Wandelli, E. V., Silva, J. J. P. (eds.) Sistemas agroflorestais: Manejando a biodiversidade e compondo a paisagem rural; Congresso Brasileiro de Sistemas Agroflorestais, 3., Manaus. Anais. Manaus, Embrapa Amazônia Ocidental, p.130-145.*
- Gama-Rodrigues, E. F., Gama-Rodrigues, A. C., Paulino, G. M., Franco, A. A. (2008) Atributos químicos e microbianos de solos sob diferentes coberturas vegetais no Norte do estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32: 1521-1530.
- Gartlan, J. S., McKey, D. B., Waterman, P. G., Mbi, C. N., Strutsake, T. T. (1980) A comparative study of the phytochemistry of two African Rain Forest. *Biochemical Systematics and Ecology*, 8: 401-422.
- Glyphis, J. P., Puttick, G. M. (1988) Phenolics in some Southern African Mediterranean shrubland plants. *Phytochemistry*, 27: 743-751.
- Gonçalves, J. L. M. (1995) Efeito do cultivo mínimo sobre a fertilidade do solo e ciclagem de nutrientes. *In: I Seminário sobre cultivo mínimo do solo em florestas, Curitiba. Anais. Curitiba: CNPFloresta/ IPEF/ UNESP/ SIF/ FUPEF, 1:43-60.*
- Gramacho, I. C. P., Magno, A. E. S., Mandarin, E. P., Matos, A. (1992) *Cultivo e beneficiamento do cacau na Bahia*. Ilhéus: CEPLAC. 124p.
- Halliwell, B., Cross C. E. (1994). Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspect.* 102 Suppl 10:5-12.

- Hammel, K. E. (1997) Fungal degradation of lignin. *In* Cadish, G., Giller, K. E., (Eds.) *Driven by Nature: plant litter quality and decomposition*. Wallingford: CAB International, 1997. 33-46p.
- Hammerschmidt, R. (1999) Phytoalexins: what have we learned after 60 years *Annual Review of Phytopathology*. 37: 285-306.
- Handayanto, E., Giller, K. E., Cadish, G. (1997) Regulating N release from legume tree prunings by mixing residues of different quality. *Soil Biology and Biochemistry*, v.29, p.1417-1426.
- Harborne, J. B. (1977) Flavonóides e da evolução das angiospermas. *Biochemical Systematics and Ecology*. 5:7-22.
- Harborne, F. B. (1997) Role of phenolic secondary metabolites in plants and their degradation in nature. *In*: Cadisch, G., Giller, K. E. (eds.) *Driven by nature*. Cambridge, CAB International, p.67-74.
- Haslam, E. (1996) Natural polyphenols (vegetable tannis) as drug and. Medicines: possible modes of action. *Natural Products*. 59:205-215.
- Hättenschwiler, S., Vitousek, P. M. (2000) The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. *Tree*, 15(6):238-243.
- Havsteen, B. (1983) Flavonoids. A class of natural products of high pharmacological potency. *Pharmacology Biochemistry*, 32:1141-1148.
- Heal, O. W., Anderson, J. M., Swift, M. J. (1997) Plant litter quality and decomposition: an historical overview. *In*: Cadish, G., Giller, K. E. (eds.), *Driven by Nature: Plant Litter Quality and Decomposition*. CAB International, p. 3-30.

- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., Bobilya, D. J. (2002) Flavonoids antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of nutritional biochemistry*, 13:572-584.
- Holst, R. W. (1977) Anthocyanins of *Azolla*. *American Fern Journal*, 67:99-100.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R. (2005) The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agriculture and Food Chemistry*, Washington, v. 53, N. 56, p. 1.841-1.856.
- Ibrahim, Z., Awang, K. (1991) Comparison of floral morphology, flower production and pollen yield of *Acacia mangium* and *A. auriculiformis*. In: Turnbull, J. W. (Ed.) *Advances in tropical Acacia research: Proceedings of an international workshop held in Bangkok, Thailand, n.35*. Canberra, p. 26 – 29.
- Jordan, D. N., Green, T. H., Chappelka, A. H., Lockaby, B. G., Meldahl, R. S., Gjirstad, D. H. (1991). Response of total tannins and phenolics in loblolly pine foliage exposed to ozone and acid rains. *Journal of Chemical Ecology* 17: 505-513.
- Kuskoski E. M., Asuero A. G., García-Parilla M. C., Troncoso A. M., Fett R. (2004) Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 24(4): 691-3.
- Láng, I. (1994) The ecological foundations of sustainable land use: Hungarian agriculture and the way to sustainability. In: Greenland, D. J., Szabolcs, I. (eds.) *Soil resilience and sustainable land use*. Wallingford, CAB International. p. 3-19.
- Lapierre, C. (1993) Application of new methods for the investigation of lignin structure. In: Jung, H. G., Buxton, D. R., Hatfield, R. D., et al. *Forage cell wall structure and digestibility*. Madison: American Society for Agronomy. p.133-163.

- Laranjeira, F. F. (1997) Infestação de cochonilha pardinha em sãnsão-do-campo usado como cerca viva em pomares de laranja. *Bragantia*, v.56, n.2, p.289-290.
- Lorenzi, H. (2000) Árvores Brasileiras. 3. ed. Nova Odessa. *Plantarum*, 352 p.
- Lugo, A. E.; Cuevas, E.; Sanchez, M. J. (1990) Nutrients and mass in litter and soil of ten tropical tree plantations. *Plant Soil*, 125:263-280.
- Markham, K. R. (1982) Techniques of flavonoid identification. *Academic Press*, London, UK, 113p.
- Martínez-Flórez, S.; González-Gallego, J.; Culebras, J. M.; Tuñón, M. J. (2002) Revisión: Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*. Madrid, 17 (6); 271-278.
- Mendes, B. V. (1989) Sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.): valiosa forrageira arbórea e produtora de madeira das caatingas. Mossoró: ESAM, 31p. il. (*ESAM. Coleção Mossoroense Série B*, 660).
- Mensor, L. L., Menezes, F. S., Leitão, G. G. Reis, A. S., dos Santos, T. C., Coube, C. S., Leitão, S. G. (2001) Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy research*, v. 15, p. 127-130.
- Mittermeier, R. A., Myers, N., Mittermeier, C. G. (1999) *Hotspots: earts biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions*. México City: CEMEX, 430p.
- Moço, M. K. S., Gama-Rodrigues, E. F., Gama-Rodrigues, A. C., Machado, R. C. R., Baligar, V. C., (2009) Soil and litter fauna of cacao agroforestry systems in Bahia, Brazil. *Agroforestry Systems*, 76, 127–138.

- Mole, S., Waterman, P. G. (1988) Light-induced variation in phenolic levels in foliage of Rain-Forests plants. II. Potential significance to herbivores. *Journal of Chemical Ecology*, 14: 23-34.
- Monteiro, M. T., Gama-Rodrigues, E. F. (2004) Carbono, nitrogênio e atividade da biomassa microbiana em diferentes estruturas de serapilheira de uma floresta natural. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, 28:819-826.
- Müller, M. W., Almeida, C. M. V. C., Gomes, A. R. S. (2004) Sistemas agroflorestais com cacau como exploração sustentável dos biomas tropicais. *In: Müller, M. W., Gama-Rodrigues, A. C., Brandão, I. C. F. L., Sertdio, M. H. C. F. (eds.) Sistemas agroflorestais, tendência da agricultura ecológica nos trópicos: Sustento da vida e sustento de vida. Ilhéus. SBSAF/CEPLAC/UENF, p.169-179.*
- Müller, M. W., Gomes, A. R. S., Almeida, C. M. V. C. (2002) Sistemas agroflorestais com o cacauero. *In: Congresso Brasileiro de sistemas agroflorestais, 4., 2002, Ilhéus. Sistemas agroflorestais, tendências da agricultura ecológica nos trópicos: sustento da vida: anais. Ilhéus: CEPLAC.*
- Myers, N., Mittermeier, R. A.; Mittermeier, C. G. Fonseca, G. A. B., Kent, J. (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*. v. 403, p. 853-858.
- Naczki, M., Shahidi, F. (2004) Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054:95-111.
- National Research Council (1980). Firewood crops: shrub and tree species for energy production. BOSTID Rep. 27. Washington, DC: *National Academy of Sciences*. 237 p.
- Noroozi, M., Angerson, W. J., Lean, M. E. (1998) Effects of flavonoids and vitamin C on oxidative DNA damage to human lymphocytes. *American Journal of Clinical Nutrition*, 67(6): 1210-8.

- Parrotta, J. A. (1997) *Acacia auriculiformis* A. Cunn. ex Benth. SO-ITF-SM- 6. New Orleans, LA: U.S. *Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station*. 4 p.
- Paula, J. E., Alves, J. L. H. (1980) Estudo das estruturas anatômicas e de algumas propriedades físicas da madeira de 14 espécies ocorrentes em áreas de caatinga. *Brasil Florestal*, Brasília, v.10, n.43, p.47-48.
- Pedley, L. (1978) A revision of *Acacia Mill.* In: Queensland. *Austrobaileya* 1(2):75-234. Pinyopusarerk, K. Williams, E. R., Boland, D.J. 1991. Geographic variation in seedling morphology of *Acacia auriculiformis*. *Australian Journal of Botany* 39:247-260.
- Peres, W. (1994) *Radicais Livres em níveis biológicos*. Ed. Universidade Católica de Pelotas, Brasil, 49-81.
- Pesce, C. (1941) Oleaginosas da Amazônia. Belém: *Revista da Veterinária*, 194, 130p.
- Pietta, G. (2000) Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63:1035-42.
- Pietta, P. G., Mauri, P. L., Manera, E., Ceva, P. L., Rava, A. (1989). Uma análise por HPLC melhoria de flavonóides em extratos de plantas medicinais. *Chromatographia*, 27: 509-512.
- Pinho, A. F. S., Muller, M. W., Santana, M. B. M. (1992) *Sistema de produção de cacau no recôncavo da Bahia*. Ilhéus: CEPLAC/CEPEC, p. 75.
- Purseglove, J. W. (1968) *Culturas tropicais: dicotiledôneas*. London: *Longman Group Limited*, 719 p.

- Rio, R. G. W. (1996) Métodos de controle químico de amostras de própolis. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Rockenbach, I. I., Rodrigues, E., Cataneo, C., Gonzaga, L. V. Lima, A., Mancini-Filho, J., Fett, R. (2008) Ácidos fenólicos e atividade antioxidante em fruto de *Physalis peruviana* L. *Alimentos e Nutrição*, Araraquara ISSN 0103-4235 v.19, n.3, p. 271-276.
- Saliba, E. O. S., Rodriguez, N. M., Morais, S. A. L., Piló-Veloso, D. (2001) Ligninas: métodos de obtenção e caracterização química. *Ciencia Rural*, 31 (5): 917-928.
- Saliba, E. O. S., Rodriguez, N. M., Piló-Veloso, D. (2000) estudos de caracterização química das ligninas dos resíduos agrícolas de milho e da soja. *In: reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*. 37. Ed. Viçosa. *Anais...* Viçosa – MG: SBZ.
- Sanchez-Moreno, C.; Laurrauri, J. A.; Saura-Calixto, F. A. (1998) Procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 76, n. 10, p. 270-276.
- Santana, M. B. M., Cabala-Rosand, P., Serôdio, M. H. (1990) Reciclagem de nutrientes em agroecossistema de cacau, *Agrotrópica*, 2: 68-74.
- Santos, M. D., Blatt, C. T. T (1998) Teor de flavonóides totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers. De mata e de cerrado. *Revista Brasileira de Botânica*. V. 21, n. 2. São Paulo.
- Shahidi, F., Naczk, M. (1995) Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. *Lancaster: Technomic*.
- Smith, P. M. (1976) The chemotaxonomy of plants. *Edward Arnold, Bristol*.

- Soares, S. E. (2002) Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Review of Nutrition*, 15:71-79.
- Souza, L. S. S. (2007) Entomofauna associada ao sub-bosque de um fragmento de Mata Atlântica, no município de Cruz das Almas – Bahia. *Candombá – Revista Virtual*, v. 3, n. 1, p. 27-30.
- Starr, F., Starr, K., Loope, L. (2003) *Acacia auriculiformis*. Maui, Hawai'i, United States Geological Survey-Biological Resources Division Haleakala Field Station.
- Stevenson, F. J. (1994) Humus chemistry: Genesis, composition, reactions. New York, *John Wiley & Sons*, 496p.
- Streets, R. J. (1962). Exotic forest trees in the British Commonwealth. *Oxford: Clarendon Press*. 750 p.
- Swain, T., Hillis, W. T. (1959) The phenolic constituents of *Prunus domestica*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, London, v.10, p.135-144, Feb.
- Swift, R. S. (2001) Humic substances and carbon sequestration. *Soil Science* 166: 858–871
- Taiz, L. L., Zeiger, E. (2002) *Fisiologia vegetal*, 3. ed., São Paulo: Artmed, 719p.
- Tan, K. H. (1994) *Environmental Soil Science*. Marcell Dekker. New York, 255p. 1994. Especialmente o capítulo 3: Organic Constituents.
- Tauk, S. M. (1990) Biodegradação de resíduos orgânicos no solo. *Revista Brasileira de Geociências*, v. 20, n. 1-4, p. 299-301.
- Tigre, C. B. (1976) Estudos de silvicultura especializada do Nordeste. Mossoró: ESAM, 1976. 176p. (*ESAM. Coleção Mossoroense*, 41).

- Van Soest, P. J., Wine, R. H. (1968) The determination of lignin and cellulose in acid-detergent fibre with permanganate. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, v.51, p.780-785.
- Vickery, M. L., Vickery, B. (1981) Metabolismo vegetal secundário. *The McMillan Press Ltd*, Londres.
- Young, A. (1989) Agroforestry for soil conservation. *Wallingford*, CAB International/ICRAF, 276p.
- Zuanazzi J. A. C., Montanha, J. A. (2003). Flavonóides. *In: Simões CMMO. et al. (org.). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS, p.577-614.*
- Wang, H., Cao, G., Prior, R. L. (1997) Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. V.45, p.304 -309.
- Waterman, P. G., Mole, S. (1994) Analysis of phenolic plant metabolites. *Blackwell Scientific Publications*, London.
- Williams, R. J., Spencer, J. P., Rice-Evans, C. (2004) Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? *Free Radical Biology and Medicine*, v.36, n.7, p.838-84.
- Winkel-Shirley, B. (2001) Flavonoids biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology*, v.126, p.485-493.
- Woisky, R. G. do Rio. (1996) *Métodos de controle químico de amostras de própolis*. São Paulo. 74p. Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo.

Woisky, R. G., Salatino, A. (1998) Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of Apicultural Research*, v.37 (2) p. 99-105.

Wollgast, J., Anklan, E. (2000) Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? *Food Research International*, n.33, p.449-459.

APÊNDICE

APÊNDICE A: Tabela das análises realizadas nas amostras de acácia, sabiá, capoeira, mata natural, cacau, e dos sistemas agroflorestais de cacau-eritrina e cacau-cabruca.

Tabela 1A. Teores de polifenóis totais, flavonóides totais, atividade antioxidante, lignina e celulose em %, de folhas e material fragmentado de três diferentes coberturas vegetais e estágios de decomposição

Análise	Cobertura	Estágio de decomposição			CV %
		1	2	3	
Polifenóis	1	2,74a	0,93b	0,34c	1,82
	2	2,30a	0,86b	0,37c	7,75
	3	2,09a	0,71b	0,34c	5,33
Flavonóides	1	52,14a	16,67c	27,13b	8,03
	2	62,92a	23,18b	23,08b	11,34
	3	52,99a	45,19b	22,44c	3,46
Antioxidante	1	97,04a	77,31b	79,40b	1,49
	2	96,00a	95,51a	95,89a	0,55
	3	92,27a	80,73b	90,61a	1,36
Lignina	1	36,00b	46,12a	37,23b	1,45
	2	36,23c	44,77b	59,68a	0,10
	3	32,76b	42,88a	42,92a	0,04
Celulose	1	20,48b	22,88a	19,43c	0,16
	2	21,16b	25,67a	20,56b	1,48
	3	20,68b	22,96a	19,08c	0,08

Coberturas: 1- *Acacia auriculiformis* (acácia); 2- *Mimosa caesalpiniiifolia* (sabiá); 3- Fragmento Florestal da Mata Atlântica em sucessão secundária (capoeira). Estágios de decomposição: 1- folha (primeiro estágio de decomposição - PED); 2- folha (segundo estágio de decomposição - SED); 3- material fragmentado (terceiro estágio de decomposição - TED). As letras iguais, na linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 2A. Teores de polifenóis totais, flavonóides totais, atividade antioxidante, lignina e celulose de folha de cacau fotossinteticamente ativa (FFA), cacau (CE) e cacau (CC)

Cobertura	Polifenol	Flavonóide	Antioxidante	Lignina	Celulose
1	2,52a	75,21a	92,98a	17,64c	18,24c
2	0,97b	58,76a	78,24b	29,52b	29,28a
3	0,88b	37,61b	88,76a	35,28a	23,48b
CV %	5,96	13,40	3,56	0,03	0,05

1-folha de cacau fotossinteticamente ativa; 2- folha de cacau (CE); 3- folha de cacau (CC). As letras iguais, na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 3A. Teores de polifenóis totais, flavonóides totais, atividade antioxidante, lignina e celulose de folha de mata natural (MN), de eritrina (CE) e de árvore de sombra (CC)

Cobertura	Polifenol	Flavonóide	Antioxidante	Lignina	Celulose
1	1,61a	53,31b	94,15a	24,68c	20,84c
2	1,23b	37,61c	75,13c	41,08a	25,12a
3	1,44a	57,80a	89,08b	36,40b	20,96b
CV %	5,64	2,56	2,14	0,34	0,03

1- folha de mata natural; 2- folha de eritrina (CE); 3- folha do cacau cabruca (CC). As letras iguais, na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 4A. Teores de polifenóis totais, flavonóides totais, atividade antioxidante, lignina e celulose de folha de eritrina (CE) e de cacau (CE)

Cobertura	Polifenol	Flavonóide	Antioxidante	Lignina	Celulose
1	1,23a	37,61b	75,13a	41,08a	25,12b
2	0,97b	58,76a	78,24a	29,52b	29,28a
CV %	6,83	3,17	4,68	0,04	0,06

1- folha de eritrina (CE) e 2- folha de cacau (CE). As letras iguais, na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 5A. Teores de polifenóis totais, flavonóides totais, atividade antioxidante, lignina e celulose de folha de árvore de sombra (CC) e de cacau (CC)

Cobertura	Polifenol	Flavonóide	Antioxidante	Lignina	Celulose
1	1,44a	57,80a	89,08a	36,40a	20,96b
2	0,88b	37,61b	88,76a	35,28b	23,48a
CV %	3,73	1,48	2,86	0,40	0,02

1- folha de árvores da mata (CC); 2- folha de cacau (CC). As letras iguais, na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.