PROJECTO n.º 4053

Caracterização da qualidade tecnológica das cortiças portuguesas

1995-1999

RELATÓRIO FINAL

Coordenador

Helena Pereira

Instituto Superior de Agronomia, Departamento de Engenharia Florestal

Participantes

Instituto Superior Técnico, Departamento de Engenharia de Materiais

Instituto de Investigação Científica Tropical, Centro de Estudos de Tecnologia Florestal

Junho 1999

Índice

Síntese Executiva **1**

Cap. 1. Introdução e objectivos **5**

Cap. 2. Resultados do projecto **8**

1. Caracterização da qualidade tecnológica das cortiças 9

1.1. Introdução 10
1.2. Amostragem 12
1.2.1. Localização dos pontos amostrados 12
1.2.2. Caracterização dos locais amostrados 13
1.2.3. Caracterização das árvores amostradas e do descortiçamento 16
1.3. Espessura em cru e calibre da cortiça 19
1.3.1. Espessura em crú em calibre da cortiça 19
1.3.2. Classes de calibre 20
1.3.3. Expansão da cortiçacom a cozedura 23
1.4. Porosidade 26
1.5. Classificação comercial da qualidade 33
1.6. Idade e crescimento da cortiça 38
1.6.1. Idade da cortiça 38
1.6.2. Calibre e idade da cortiça 39
1.6.3. Curvas de crescimento da cortiça 41
1.7. Densidade bruta das pranchas de cortiça 48
1.8. Produção de cortiça por unidade de área descortiçada 52
1.9. Composição química da cortiça 55
1.10. Comportamento mecânico em compressão 61
1.11. Fichas de caracterização da cortiça 67

2. Desenvolvimento de metodologias para análise de qualidade 71

2.1. Introdução 72
2.2. Técnicas de análise de imagem 75
2.2.1. Introdução 75
2.2.2. Metodologia 76
2.2.3. Resultados 79
2.3. Técnicas químicas (FTIR) 87
2.3.1. Introdução 87
2.3.2. Resultados 88
2.3.3. Metodologia experimental 94

2.4. Bibliografia 96

3. Conhecimento fundamental da cortiça 97

3.1. Introdução 98
3.2. Estrutura da parede celular 101
3.2.1. Introdução 101
3.2.2. Resultados 103
3.2.3. Metodologia experimental 109
3.3. Composição química fundamental 111
3.3.1. Extractivos lipófilos 111
3.3.1.1. Introdução 111
3.3.1.2. Resultados 113
3.3.1.3. Metodologia experimental 116
3.3.2. Suberina 123
3.3.2.1. Introdução 123
3.3.2.2. Resultados 125
3.3.2.3. Metodologia experimental 137
3.3.3. Lenhina e compostos aromáticos associados 139
3.3.3.1. Introdução 139
3.3.3.2. Resultados 140
3.3.3.3. Metodologia experimental 145
3.4. Propriedades mecânicas 147
3.4.1. Introdução 147
3.4.2. Resultados 148
3.4.2.1. Variabilidade do comportamento em compressão 149
3.4.2.2. Influência de outros parâmetros tecnológicos na compressão 159
3.4.3. Metodologia experimental 167
3.5. Bibliografia 169

Cap. 3. Considerações finais 172

1. Caracterização da qualidade tecnológicas das cortiças 173
2. Metodogia para a análise de qualidade 176
3. Conhecimento fundamental da cortiça 179

Cap. 4. Divulgação dos resultados 181

Síntese Executiva

Este projecto permitiu obter resultados originais em relação ao conhecimento das características e da variabilidade da produção de cortiça em Portugal, assim como em relação a metodologias de análise e ao conhecimento fundamental do material cortiça. Alguns dos resultados permitem também uma aplicação prática como instrumento de gestão da produção da cortiça e da respectiva comercialização. Por outro lado, os resultados permitiram apontar vários aspectos interessantes e importantes que necessitam de estudos mais detalhados, deste modo contribuindo para definir linhas de investigação relevantes nesta área.

Um dos resultados importantes é a própria amostragem efectuada em todo o país (37 locais), a colecção de amostras de cortiça preparadas (680 amostras), a base de dados constituída com as características determinadas (do local, da árvore e da cortiça) e a rede permanente de unidades de amostragem que possibilitará estudos futuros

A caracterização da qualidade tecnológicas das pranchas de cortiça foi feita com base na determinação de diferentes propriedades: o calibre das pranchas e a expansão verificada com a cozedura, a porosidade, a sua classe de qualidade como definida pela prática industrial actual, a densidade bruta, o crescimento médio anual de cortiça, a produção por unidade de área descortiçada, o comportamento mecânico em compressão e a composição química.

A caracterização da qualidade tecnológica das cortiças pode ser compilada em fichas caracterizadoras, quer individualmente por cada cortiça, quer como valor médio para uma produção de diferentes árvores, que permitem ao produtor avaliar a qualidade tecnológica da sua produção e, portanto, o seu valor como matéria-prima para a indústria. Para tal serão particularmente interessantes os seguintes parâmetros:

- o calibre, a porosidade e a classificação comercial, para o estabelecimento da qualidade tecnológica que é utilizada na comercialização
- o crescimento médio anual em 8 anos, como instrumento de gestão para optimizar os ciclos de produção
- a produção por unidade de área descortiçada para prever a produção, em peso da cortiça

A amostragem efectuada permite caracterizar genericamente a produção de cortiça em Portugal tendo como base as 680 amostras recolhidas, assim como a exploração das árvores para produção de cortiça. Verificou-se que na maioria dos casos se tratava de povoamentos de regeneração natural e que 30% das árvores possuíam um perímetro à altura do peito inferior a 120 cm, em princípio indicativo de uma fase jovem de produção. O coeficiente de descortiçamento médio para o total das árvores foi 2,2 o que é bastante inferior ao valor 3 permitido por lei. Verificou-se a existência de cortiças com diferentes idades de criação, correspondendo 50,9% a 9 anos e 31,4% a 10 anos.

Verificou-se que 55% da produção total corresponde a cortiças com a melhor adequação para o fabrico de rolhas (27-40 mm) e que 27% possuem já um calibre demasiado elevado (> 40 mm). As cortiças de boa qualidade (1ª - 3ª) correspondem a 18%, as cortiças de qualidade média (4ª - 5ª) a 37%, as cortiças de qualidade fraca (6ª classe) a 33% e o refugo a 12% do total.

Para grande parte dos parâmetros analisados nas cortiças verificou-se uma grande variabilidade entre árvores do mesmo local, variabilidade essa que se sobrepõe à variabilidade encontrada entre locais. A maior variabilidade encontrada foi em relação à porosidade das cortiças e portanto à sua classe de qualidade comercial, onde coeficientes de variação da média em cada local são frequentemente perto de 40%

Também a composição química e o comportamento mecânico em compressão mostram uma variabilidade entre árvores acentuada, com coeficientes de variação da média na zona dos 20%.

Já a variação da densidade bruta da cortiça entre árvores da mesma herdade não é muito elevada e os coeficientes de variação da média são, em geral, aproximadamente 10%. Também o crescimento da cortiça mostra que a variação existente dentro do local de amostragem, resultante da diferença entre árvores, não é muito elevada e corresponde, em geral, a um coeficiente de variação da média de 6%.

Verificou-se haver uma diferença estatisticamente significativa entre o crescimento da cortiça para os diferentes locais. Este facto aponta para que no crescimento da cortiça intervenham factores ambientais e de técnica suberícola.

Verificou-se, em média, para todos os casos estudados, uma diminuição da produção em peso da cortiça por área descortiçada e por ano com o número de anos do ciclo: 0,96 kg/m^2.ano para um ciclo de 9 anos, 0,87 kg/m^2.ano para um ciclo de 10 anos e 0,80 kg/m^2.ano para um ciclo de 11 anos.

Algumas das afirmações empíricas correntes no mundo suberícola não se confirmaram quando se fez a quantificação e análise estatística. Assim, por exemplo:

- expansão da cortiça com a cozedura não está significativamente correlacionada com a espessura em cru nem com a sua porosidade ou com a densidade bruta da cortiça

- a porosidade não se mostrou significativamente correlacionada com o calibre

- a porosidade não influencia significativamente a densidade bruta das cortiças

De referir que, com base na amostragem realizada, a tradicional divisão de Portugal e das áreas do montado em diferentes zonas de qualidade não parece fazer sentido qualquer que seja o parâmetro utilizado para a sua definição.

A classificação qualitativa da cortiça é uma das operações importantes de todo o processo de transformação industrial e o valor comercial, tanto da cortiça como dos produtos corticeiros é determinado pela sua qualidade. O facto de não se terem estabelecido padrões de qualidade definidos e quantificados constitui um factor de desvantagem da cortiça face a outros produtos concorrentes e propicia uma menor confiança por parte dos utilizadores.

Neste projecto mostrou-se a possibilidade de fazer a quantificação da qualidade na cortiça utilizando duas técnicas diferentes: a análise de imagem e a análise química por espectroscopia de infra-vermelho.

As técnicas de análise de imagem permitem caracterizar e quantificar os objectos presentes na massa de cortiça e que dela se distinguem visualmente (em geral designados poros) através de diferentes parâmetros, sendo possível utilizar os resultados para estabelecer uma separação das cortiças em diferentes classes de qualidade ou para estabelecer classes de qualidade para a classificação de cortiça. Mostrou-se, por exemplo, que o coeficiente de porosidade, por si só, permite distinguir em geral as cortiças de diferentes classes industriais.

Por outro lado, a qualidade industrial de uma cortiça é, em grande parte, determinada pela proporção entre a massa suberosa propriamente dita, o tecido lenticular dos poros e o tecido floémico presente (prego). Como a composição química destes três materiais é diferente, pode-se encarar que uma análise química permita distinguir diferentes proporções entre eles e, portanto, diferentes qualidades para a cortiça.

Mostrou-se neste trabalho que a absorção no infravermelho dos diferentes constituintes da cortiça os permite distinguir claramente, utilizando para o efeito picos característicos dos respectivos espectros. Demonstrou-se a possibilidade de reconhecer claramente por técnicas espectroscópicas no infra-vermelho (FTIR) três grupos de qualidade de cortiça, cuja utilização pode ser aplicada à análise qualitativa de pó de cortiça. Nestes estudos, a análise por FTIR permitiu distinguir as cortiças de qualidade boa, as cortiças de qualidade média/fraca e as cortiças de qualidade muito fraca.

No âmbito do conhecimento fundamental da cortiça fizeram-se também alguns avanços significativos neste projecto PAMAF em áreas importantes, nomeadamente da estrutura e composição química.

A nível da composição química da cortiça foi obtida pela primeira vez evidência directa da natureza glicerídica da estrutura da suberina o que permitiu novas hipóteses sobre a estrutura do polímero, substituindo modelos anteriores. Também a natureza de parte dos compostos aromáticos poliméricos associados à suberina foi pela primeira vez conclusivamente provada ser uma lenhina gaiacílica típica. Novas pistas foram abertas sobre a natureza da parte dos poli-aromáticos com teor baixo de grupos metoxilo. Foi descoberto que o ácido ferúlico poderá desempenhar um papel importante na ligação entre a suberina e os poli-aromáticos. Também se aumentou o conhecimento sobre os componentes extractivos “gordos” e “cerosos” da cortiça.

No entanto, restam ainda lacunas importantes no conhecimento fundamental da cortiça e a compreensão das razões das propriedades e comportamentos do tecido suberoso da cortiça é ainda muito limitada. Sabe-se que essas propriedades da cortiça decorrem necessariamente das suas células suberificadas, da sua forma e dimensão, arranjo tridimensional, estrutura das paredes celulares, e dos compostos químicos que as integram, particularmente a suberina, mas não se sabe, no entanto, qual a relação que existe entre os vários componentes e as propriedades do material. As hipóteses estudadas no âmbito do projecto sobre a relação entre parâmetros mostraram que não se trata de relações directas e que o sistema se comporta de uma maneira complexa.

Para o aprofundamento do conhecimento fundamental da cortiça, nomeadamente nas suas vertentes da composição química, estrutura e propriedades fisico-mecânicas, as bases estão lançadas. São conhecidas e estão disponíveis hoje as técnicas analíticas, que depois de devidamente aplicadas ao caso da cortiça, podem dar resposta a muitas das lacunas existentes no seu conhecimento fundamental.

Cap. 1. Introdução e objectivos

O projecto desenvolvido tem como objectivo principal contribuir para o acréscimo da vantagem competitiva de Portugal no sector internacional da cortiça, nomeadamente através da intervenção a nível do conhecimento fundamental da cortiça e da caracterização da sua qualidade tecnológica.

A importância para Portugal da cortiça e do sobreiro é bem conhecida, tanto em termos económicos e sociais como ambientais.

A área do sobreiro em Portugal é de 720 000 ha, constituindo a 2ª espécie florestal em termos de ocupação de solos. A produção anual de cortiça é de 160 000 toneladas aproximadamente, que abastece um sector industrial importante e cujo produto se destina maioritariamente para exportação. No quadro da exportação de produtos florestais, a cortiça representa cerca de um terço do valor total. Uma parte importante dos povoamentos de sobreiro está localizada em zonas do interior em grande medida sob o risco de subocupação humana e desertificação ambiental. O tipo de exploração destes povoamentos, que frequentemente se baseiam num sistema agro-silvo-pastoril de uso múltiplo, constitui para essas zonas a melhor opção social e ecológica e nele a produção de cortiça desempenha um papel fundamental como suporte económico.

Em termos mundiais, Portugal detém a maior área de sobreiros, a maior produção de cortiça e a maior parte da sua transformação industrial.

Está-se, portanto, em presença de um sector que constitui um caso excepcional no quadro da economia nacional e no seu posicionamento em termos internacionais. No entanto, este papel de liderança real de Portugal no sector da produção e da transformação da cortiça não é frequentemente traduzido pela sua afirmação inequívoca nos meios internacionais. Verifica-se, por exemplo, que a Espanha, o 2º produtor e transformador de cortiça, mas apenas com cerca de 15 % da cota mundial de produtos acabados, se apresenta com uma agressividade bem superior à de Portugal. Tal é especialmente notório no meio florestal e no da promoção e divulgação da cortiça, onde a posição portuguesa em termos internacionais é demasiado tímida.

A afirmação da posição de liderança de Portugal neste sector passa também, necessariamente, pelo aprofundamento do conhecimento do sistema e da matéria-prima através de uma continuada investigação e experimentação nestas áreas, feita pelos diferentes grupos do sistema de I&D nacional.

É nesta vertente que este projecto se insere, pretendendo contribuir para um maior conhecimento da cortiça a dois níveis:

- a caracterização da qualidade tecnológica da cortiça e o desenvolvimento das respectivas metodologias de análise
- o conhecimento fundamental da cortiça em alguns aspectos da sua constituição e propriedades

Desde os trabalhos clássicos de Natividade, compilados na sua Subericultura (1950), que a investigação se desenvolveu apreciavelmente, quer em relação à estrutura, composição química e propriedades mecânicas da cortiça, quer quanto à modelação da sua produção e análise do sistema produtivo. Tecnologias de desenvolvimento recente permitem aprofundar o estudo do material, nomeadamente quanto à qualidade e, por exemplo, uma quantificação da porosidade é agora possível utilizando técnicas de análise de imagem.

Neste projecto, e tendo em conta este enquadramento, foram objectivos específicos:

1. Melhorar o conhecimento fundamental da cortiça, nomeadamente em aspectos químicos, estruturais assim como de algumas propriedades físicas
2. Desenvolver metodologia para a classificação de qualidade, utilizando técnicas de análise de imagem, ou outras, e seleccionar parâmetros que possam ser integrados num sistema de apreciação de qualidade tecnológica
3. Caracterizar as cortiças das principais procedências portuguesas

O presente relatório dá conta dos trabalhos realizados. Os resultados obtidos estão organizados em três partes, que podem ser utilizadas autonomamente, e que incluem:

1. Caracterização da qualidade tecnológica das cortiças portuguesas
2. Desenvolvimento de metodologias para a análise da qualidade da cortiça
3. Conhecimento fundamental sobre a cortiça

Após a análise dos resultados, algumas considerações finais são necessárias no que respeita às linhas de investigação que ainda se afiguram incompletas ou que os trabalhos realizados vieram abrir. Entretanto, os resultados foram sendo divulgados ao longo do projecto, e tal é também referido na parte final deste relatório.

Finalmente, importa dizer que os trabalhos realizados só foram possíveis financeiramente com as contribuições de outros projectos e que permitiram aprofundar alguns dos aspectos em estudo. São eles o financiamento de base atribuído ao Centro de Estudos Florestais (CEF) e o projecto europeu CORKASSESS (FAIR3-CT96-1438 "Field assessment and modelling of cork production and quality").

Cap. 2. Resultados do projecto

1. Caracterização da qualidade tecnológica das cortiças

1.1. Introdução

A qualidade tecnológica da cortiça tem que ser definida tendo em conta a sua utilização. De facto, não existe uma definição abstracta da qualidade de um material e esta está ligada aos produtos que dele se obtêm e ao respectivo modo de processamento.

Para o caso da cortiça, o produto que actualmente determina a rentabilidade da fileira é a rolha da cortiça natural, pelo que esta constitui a finalidade primeira da produção de cortiça como matéria-prima.

Um primeiro parâmetro a considerar para a adequação da cortiça à fabricação deste produto é o calibre das pranchas, pois é necessário que elas possuam uma espessura mínima que exceda o diâmetro das rolhas que delas são brocadas.

A porosidade da prancha constitui outro parâmetro que intervém para o estabelecimento da qualidade da cortiça pois ela influencia o rendimento em rolhas e, muito principalmente, o perfil da qualidade das rolhas obtidas.

Só recentemente os sistemas de análise de imagem permitem quantificar a porosidade da cortiça, pelo que esta é tradicionalmente apreciada visualmente por um operador que atribui uma classe de qualidade às pranchas de cortiça. Nesta classificação são incluídas as observações relativas à incidência da porosidade propriamente dita, derivada da presença dos canais lenticulares, assim como de defeitos, por exemplo, galerias de insectos, descontinuidades do material e também a incidência do prego, ou seja, de inclusões lenhosas na massa da cortiça.

A espessura e a classe de qualidade constituem tradicionalmente os factores principais de valorização da cortiça e são os determinantes para estabelecer o preço das pranchas de cortiça.

Estes dois parâmetros constituem, portanto, uma base indispensável para a caracterização da qualidade tecnológica da cortiça e, como tal, foram analisados neste trabalho.

De referir que o calibre das pranchas de cortiça para a brocagem das rolhas se refere à cortiça após uma operação de cozedura com água. Durante esta cozedura verifica-se uma expansão da cortiça, de que resulta um aumento da sua espessura. Essa expansão foi também analisada, pois permite comparar a produção bruta com a da matéria-prima preparada para a brocagem (prancha de cortiça cozida).

Por outro lado, a produção de cortiça é comercializada em peso, ou seja, a produção por unidade de área de descortiçamento constitui um elemento de avaliação da

produtividade das árvores para o produtor. Este será também, do ponto de vista do produtor, um parâmetro para a avaliação da qualidade da sua produção.

É evidente que a comparação entre diferentes produções só poderá ser feita se o ciclo de produção, ou seja, a idade de criação de cortiça, for a mesma. Tal requer, portanto, a consideração deste parâmetro na caracterização efectuada.

Para além dos parâmetros indicados há outras características que influenciam o desempenho dos produtos de cortiça, nomeadamente em relação à sua função de vedante em garrafas: a densidade, o comportamento mecânico em compressão e a composição química. O seu efeito é mais complexo e eles não são independentes, quer entre si, quer com os parâmetros já anteriormente mencionados, desconhecendo-se ainda alguns aspectos da sua actuação. Refere-se, por exemplo, o que diz respeito à composição química da cortiça.

Assim, a caracterização da qualidade tecnológica da cortiça foi feita com base nos seguintes parâmetros:

- a espessura em cru, o calibre e a expansão com a cozedura
- a porosidade
- a classificação comercial
- a idade e o crescimento
- a produção por unidade de área de descortiçamento
- a densidade
- a composição química
- o comportamento em compressão

Analisaram-se também algumas das relações entre propriedades com aplicação directa para uma caracterização das cortiças e que, muitas vezes, são alegadas por produtores e utilizadores como factores de valorização. Referem-se, por exemplo, o eventual efeito da espessura da cortiça na sua expansão com a cozedura, ou da porosidade na densidade.

A caracterização da qualidade tecnológica das cortiças pode ser compilada numa ficha caracterizadora, quer individualmente por cada amostra de cortiça, quer com valor médio para uma produção de diferentes árvores, como unidade de amostragem para uma herdade, por exemplo. Tais fichas são apresentadas no final deste capítulo.

A variabilidade para a qualidade tecnológica de cortiças constitui um dos pontos importantes em estudo neste projecto, pelo que a metodologia em análise foi aplicada a cortiças recolhidas em diferentes locais de amostragem (herdades) em todo o país, localizados em todas as zonas de produção de cortiça, num total de 34 pontos de amostragem, onde em cada um foi analisada a cortiça de 20 árvores.

1.2. Caracterização da amostragem

1.2.1. Localização dos pontos amostrados

A caracterização tecnológica das cortiças portuguesas foi feita com base numa amostragem que cobriu o país, nas diferentes zonas de produção de cortiça. O total dos locais amostrados foi 34, situados geograficamente como indicado na Figura 1.1.

O número de locais amostrados por cada zona de produção foi determinado com base na importância relativa de cada zona de produção em termos de área ocupada com sobreiro (Figura 1.2). O código respectivo é composto por um número indicativo da respectiva zona de produção e por uma letra que caracteriza a localização dentro da zona.

Figura 1.1. Localização geográfica das herdades amostradas. A verde, a distribuição do sobreiro no país.

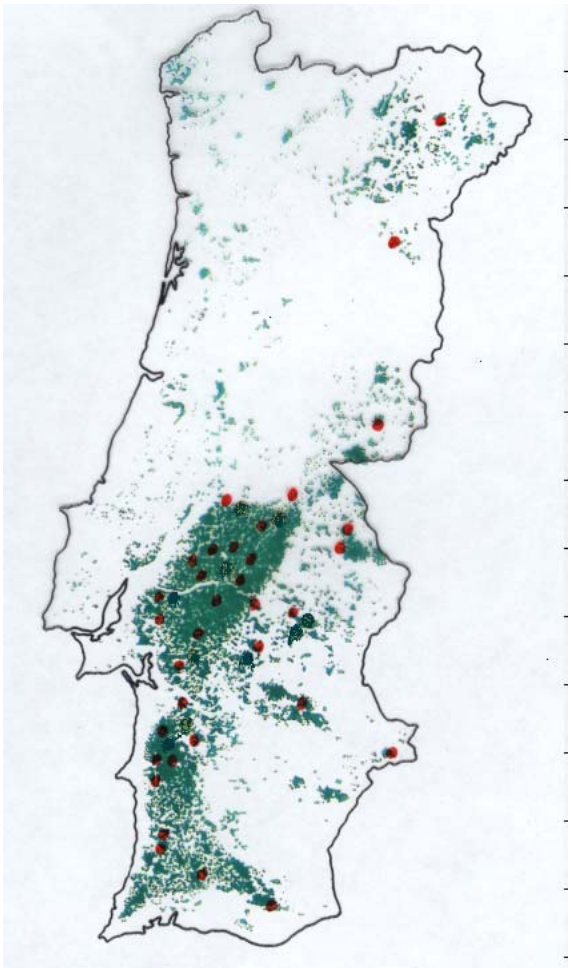


Figura 1.2. Localização das diferentes zonas de produção de cortiça e respectiva área ocupada com sobreiro

Zona	Área de sobreiro	
	Ha	%
1	14 144	2,2
2	21 287	3,3
3	11 433	1,8
4	7 451	1,1
5	68 560	10,8
6	66 791	10,2
7	125 848	19,2
8	74 408	11,4
9	37 822	5,8
10	86 467	13,2
11	83 279	12,7
12	17 295	2,6
13	27 758	4,2
14	12 096	1,8
Total	654 639	100,0

Fonte: Distribuição da floresta em Portugal continental. Áreas florestais por concelho.
DGF 1985.

1.2.2. Caracterização dos locais amostrados

A identificação das herdades onde se localizaram os pontos amostrados, a sua localização por localidade mais próxima e concelho, assim como as características climáticas gerais estão indicadas no Quadro 1.1. As herdades foram descortiçadas no período 1996-1998 e o ano de descortiçamento e de recolha das amostras em cada uma das herdades também se encontra registado no Quadro 1.1.

A caracterização das herdades em relação a composição, estrutura, densidade, presença de vegetação no subcoberto, situação em relação a regeneração natural e ciclo de produção de cortiça praticado encontra-se sumarizada no Quadro 1.2.

Quadro 1.1. Identificação das herdades onde foi feita a amostragem, respectiva localização (localidade mais próxima/concelho), ano do descortiçamento, precipitação e temperatura média anual (1951-1980 para a estação meteorológica mais próxima)

Código	Herdade	Localização	Ano do descortiçamento	Precipitação mm	Temperatura ºC
1A	Monte de Morais	Morais/Macedo de Cavaleiros	1997	741	11,9
2A	Granja de São Pedro	Alcafozes/Idanha-a-Nova	1997	821	15,6
4A	Vale da Manta	Longrovia/Mêda	1997	591	12,3
5A	Foros do Carregal	Alvega/Abrantes	1996	688	15,5
5B	Casal Velho e Arrancada	Pinheiro/Chamusca	1996	813	15,6
5C	Companhia das Lezírias	Samora Correia/Benavente	1996	610	16,4
6A	Mata de Valverde	Foros Albergaria/Alcácer Sal	1997	575	16,3
6B	Herdade da Palma	Palma/Alcácer do Sal	1996	575	16,3
6C	Herdade de Rio Frio	Rio Frio/Palmela	1996	610	16,4
7A	Vale Côvo	Montargil/Ponte de Sôr	1996	618	16,0
7B	Margem	Cabeção/Avis	1996	618	16,0
7C	Onzenas	Santana do Mato/Coruche	1996	618	16,0
7D	Torre das Águias	Brotas/Mora	1997	618	16,0
7E	Machuqueira do Grou	Camarosa/Coruche	1997	618	16,0
7F	Vale da Quinta	Vale da Bica/Ponte de Sôr	1998	618	16,0
7G	Vale Mouro	Azervadinha/Coruche	1998	618	16,0
8A	Lobeira	Lavre/Montemor-o-Novo	1997	618	16,0
8B	Passareiro	Giesteira/Évora	1997	665	15,4
8C	Fazendas	Represa/Montemor-o-Novo	1997	643	15,6
8D	Castelos	Baldios/Montemor-o-Novo	1998	665	15,4
9A	Azinhal	Canal Caveira/Grândola	1996	557	15,8
9B	Brejo Seco	Aldeia do Pico/Grândola	1997	575	16,3
10A	Paço de Camões	Azaruja/Évora	1996	643	15,6
10B	Açorinho	Portel/Portel	1997	706	15,9
10C	Vale Mouro	Besteiros/Portalegre	1997	908	15,1
10D	Torre	Urra/Portalegre	1997	908	15,1
11A	Bêbeda	Sines/Sines	1997	736	15,6
11B	Relvas	S.Bart. Serra/Santiago Cacém	1996	736	15,6
11C	Vale de Enxerto	Luzíanes/Odemira	1996	614	15,0
11D	Chaparral	São Teotónio/Odemira	1996	614	15,0
11E	Loureiro	Chãos/Santiago do Cacém	1998	736	15,6
12A	Donas Marias	St.Aleixo Restauração/Moura	1998	730	15,9
13A	Cova da Muda	Bicas/S.Brás de Alportel	1996	511	17,3
14A	Vale da Vila	São Marcos da Serra/Silves	1996	1 138	15,2

Quadro 1.2. Caracterização das herdades onde foi feita a amostragem, incluindo tipo de instalação, composição, estrutura e densidade do povoamento, exposição, densidade de vegetação e estado da regeneração natural

	Tipo de instalação	Composição	Estrutura	Densidade	Exposição	Vegetação		Reg. Natural
						Herb	Arbust	
1A	Reg. natural	Misto Az	Irregular	Média 40%	NNW/SSE	Bx	Bx (10%)	Baixa
2A	Reg. natural	Misto Az	Regular	Média 40%		El	Bx	Média
4A	Reg. natural	Puro	Regular	Dispersa	SE			Média
5A	Reg. natural	Misto Pb	Irregular	Baixa 30%	S	Bx	Bx (30%)	Média
5B	Reg. natural	Puro	Regular	Média 40%	SW	Bx	Bx (15%)	Baixa
5C	Sementeira	Puro	Regular	Média 40%		El	Bx (2%)	Baixa
6A	Reg. natural	Misto Pb, Pm	Regular	Elevada 50%		Md	El (60%)	Elevada
6B	Reg. natural	Puro	Irregular	Elevada 50%	E	El	Md (35%)	Baixa
6C	Reg. natural	Puro	Regular	Baixa 30%	NE	El	Bx (5%)	Baixa
7A	Reg. natural	Misto Pb	Irregular	Média 35%	E	Md	Bx (5%)	Baixa
7B	Reg. natural	Puro	Regular	Média 40%	SE	El	El (50%)	Baixa
7C	Reg. natural	Puro	Regular	Média 45%	NE	El	Md (40%)	Baixa
7D	Reg. natural	Misto Az	Regular	Média 35%	NNE	Md	Bx	Média
7E	Reg. natural	Puro	Irregular	Média 30%	E	Md	Md (20%)	Média
7F	Reg. natural	Puro	Irregular	Média 35%	SW	El	El (50%)	Média
7G	Reg. natural	Misto Pb, Pm	Regular			El	Md	Baixa
8A	Reg. natural	Puro	Regular	Baixa 10%	ESE	El	Bx	Baixa
8B	Reg. natural	Puro	Regular	Baixa 30%	SW	El	Bx	Baixa
8C	Reg. natural	Misto Az	Regular	Elevada 55%		El	Bx (1%)	Baixa
8D	Reg. natural	Misto Az	Regular	Média 45%	WSW	El	Bx	Baixa
9A	Reg. natural	Puro	Regular	Baixa 25%	NW	El	Bx (2%)	Baixa
9B	Reg. natural	Misto Pb, Pm	Irregular	Média 45%		Md	El (50%)	Elevada
10A	Reg. natural	Puro	Regular	Média 35%	NNE	El	Bx (5%)	Baixa
10B	Reg. natural	Puro	Regular	Média 35%		Bx	Bx (5%)	Média
10C	Reg. natural	Puro	Regular	Média 35%	WSW	Md	El	Média
10D	Reg. natural	Misto Az	Regular	Baixa 25%	NNE/SSW	El	Bx (3%)	Baixa
11A	Sementeira	Puro	Regular	Média 40%		Md	Bx (15%)	Baixa
11B	Reg. natural	Puro	Regular	Baixa 20%	NE/SW	Md	Bx	Baixa
11C	Reg. natural	Puro	Regular	Baixa 20%	NE/SE	Bx	El	Baixa
11D	Reg. natural	Puro	Regular	Elevada 50%	NE	El	Bx	Baixa
11E	Reg. natural	Puro	Regular	Elevada 60%	W	Bx	Bx	Baixa
12A	Reg. natural	Misto Az	Regular	Baixa 30%	NE/SE	Bx	Bx	Baixa
13A	Reg. natural	Puro	Regular	Elevada 60%	NE	Md	El	Média
14A	Reg. natural	Puro	Irregular	Baixa 10%	SSW	Md	Md (40%)	Baixa

A maioria das herdades encontra-se em zonas de precipitação média anual compreendida entre 600 e 800 mm. Só para 6 herdades a precipitação anual é inferior a 600 mm (4A, 6A, 6B, 9A, 9B e 13A), enquanto que em 4 herdades a precipitação anual é superior a 800 mm (2A, 10C, 10D e 14A). Em relação às temperaturas, verifica-se que todos os locais amostrados se encontram em zonas com temperaturas médias anuais entre 15,0 e 17,3ºC, com excepção dos locais 1A e 2A com temperaturas de respectivamente 11,9 e 12,3ºC.

Em quase todos os locais, o tipo de instalação foi por regeneração natural, verificando-se sementeira apenas em dois casos (5C e 11A, correspondendo a 6% do total). A estrutura dos povoamentos é maioritariamente regular (76% dos locais). A composição é principalmente de sobreiro puro (64% do total), representando os povoamentos mistos com azinheira 21 %, com pinheiro bravo 6% e com pinheiro bravo e manso 9%. Em relação à densidade dos povoamentos, ela é em geral média ou baixa (respectivamente 49% e 30% do total). A existência de regeneração natural é baixa em 67% dos locais.

1.2.3. Caracterização das árvores amostradas e do respectivo descortiçamento

Em cada ponto de amostragem seleccionaram-se 20 árvores vizinhas que estivessem em descortiçamento e que não apresentassem sinais de decrepitude, pragas ou doenças. A caracterização biométrica das árvores e do descortiçamento estão indicadas no Quadro 1.3.

A informação recolhida permitiu caracterizar genericamente as árvores que constituem as unidades de amostragem e, como tal, dar indicação para este universo, da biometria dos sobreiros em produção e das características do respectivo descortiçamento.

A altura média dos sobreiros nos diferentes locais variou de 5,9 m (local 12A) até um máximo de 13,0 m (local 4A), com uma altura de copa entre 3,0 m (local 1A) e 6,9 m (local 7A).

A distribuição dos perímetos à altura do peito (PAP) sobre cortiça variou, em média nas 34 herdades, de 98,5 cm (herdade 1A) até 269,9 cm (herdade 10D). A distribuição dos perímetros à altura do peito por classes, que pode ser considerada como indicativa da idade média das árvores, mostra que no total 30% das árvores possuem um perímetro < 120 cm o que corresponde em termos gerais a árvores numa fase jovem de produção, 47% possuem perímetros entre 120 e 180 cm, correspondendo a árvores em plena produção, e 23% são árvores com perímetro >180 cm e, portanto, em fase avançada no ciclo de produção (Quadro 1.4).

A distribuição das árvores por classe de perímetro não foi uniforme entre os locais, encontrando-se casos em que 50% ou mais das árvores amostradas possuem perímetros < 120 cm (1A, 5C, 7B, 7C ,8B, 8D, 9B, 10B, 12A, 13A) e casos em que 70% ou mais das árvores possuem perímetros > 180 cm (4A, 8C, 10C, 10D)

Verifica-se que em quase todas as árvores houve descortiçamento em pau batido; o descortiçamento em meças foi praticado apenas em 22 árvores (3% do total das árvores). Tal ocorreu apenas em 5 locais de amostragem (6B, 9A, 11B e 11D).

Em alguns casos só houve descortiçamento no fuste dos sobreiros, mas na maioria das árvores o descortiçamento foi feito também nos ramos, Para o total das árvores descortiçadas, a média do número de ramos descortiçados por árvore foi 1,5

Quadro 1.3. Caracterização das árvores amostradas nos diferentes locais de amostragem. Média de 20 árvores por local e desvio padrão.

Local	Perímetro sobre cortiça (cm)	Perímetro sob cortiça (cm)	Altura total (m)	Altura da copa (m)	Nº de ramos descortiçados	Altura descortiçada total (m)	Altura descortiçada no fuste (m)
1A	98.5 (11.3)	80.1 (11.2)	6.6 (0.6)	3.0 (0.4)	0.7 (0.9)	1.9 (0.3)	1.9 (0.3)
2A	170.2 (57.8)	152.1 (55.8)	8.9 (1.4)	4.1 (0.6)	2.2 (1.4)	3.6 (0.7)	2.5 (0.4)
4A	202.7 (38.2)	183.2 (36.9)	13.0 (3.0)	6.4 (2.3)	2.4 (1.7)	6.5 (2.6)	3.3 (1.2)
5A	150.0 (39.9)	132.8 (39.5)	9.3 (1.6)	5.0 (0.9)	1.3 (1.4)	2.6 (1.1)	1.9 (0.7)
5B	144.2 (23.7)	126.7 (22.8)	10.1 (0.6)	6.6 (0.9)	1.4 (1.5)	2.6 (0.7)	2.2 (0.4)
5C	122.4 (27.6)	106.3 (25.3)	9.7 (1.5)	5.1 (1.1)	1.2 (1.3)	2.4 (0.7)	1.9 (0.4)
6A	126.9 (23.6)	108.0 (21.3)	9.6 (1.5)	4.8 (0.7)	1.0 (1.0)	2.6 (1.1)	2.1 (0.6)
6B	153. 5 (34.8)	136.6 (36.1)	9.7 (1.6)	4.7 (0.9)	1.9 (1.4)	3.7 (1.2)	2.4 (0.6)
6C	172.5 (23.3)	155.5 (22.7)	10.1 (1.3)	5.4 (1.0)	3.2 (1.4)	4.4 (1.0)	2.6 (0.7)
7A	136.2 (34.8)	116.8 (33.1)	9.6 (1.8)	6.9 (9.6)	1.9 (2.0)	2.8 (0.9)	2.3 (0.6)
7B	120.3 (19.2)	106.6 (19.2)	11.4 (2.0)	6.6 (1.2)	1.0 (1.7)	3.2 (1.0)	2.7 (0.4)
7C	123.2 (19.1)	106.7 (19.2)	9.2 (1.1)	5.3 (0.7)	1.1 (1.4)	3.1 (1.0)	2.6 (0.5)
7D	132. 5 (30.4)	117.0 (29.7)	8.4 (0.9)	4.2 (0.6)	1.7 (1.2)	3.1 (0.9)	2.1 (0.5)
7E	151.9 (20.9)	133.8 (29.5)	10.1 (1.1)	4.9 (0.5)	1.4 (1.0)	2.9 (0.7)	2.2 (0.3)
7F	208.7 (68.9)	192.4 (69.4)	11.7 (2.9)	4.9 (0.9)	2.6 (0.7)	4.2 (1.3)	2.4 (0.5)
7G	139.9 (30.3)	120.2 (27.4)	9.5 (1.2)	5.0 (0.7)	1.7 (1.2)	3.1 (0.8)	2.2 (0.5)
8A	163.8 (44.7)	142.9 (44.9)	8.5 (1.0)	3.8 (0.5)	1.4 (1.4)	2.8 (1.4)	2.1 (0.4)
8B	125.3 (24.3)	107.1 (23.4)	9.0 (0.7)	4.2 (0.4)	0.9 (1.2)	2.3 (0.9)	1.9 (0.3)
8C	241.0 (59.7)	200.7 (73.9)	11.3 (1.6)	5.8 (0.9)	2.7 (0.9)	5.8 (1.2)	2.5 (0.5)
8D	126.7 (21.6)	109.5 (20.6)	9.2 (1.4)	4.6 (0.6)	1.5 (1.4)	3.1 (1.1)	2.3 (0.5)
9A	150.2 (37.8)	127.9 (35.0)	8.2 (1.9)	4.6 (1.2)	2.3 (2.0)	3.5 (1.6)	2.2 (0.5)
9B	119.2 (16.9)	97.5 (17.3)	11.0 (1.1)	4.5 (0.8)	0.2 (0.6)	2.3 (0.6)	2.1 (0.5)
10A	141.3 (24.3)	128.7 (27.6)	8.8 (1.3)	4.3 (0.8)	2.1 (1.4)	3.0 (1.1)	2.0 (0.5)
10B	111.3 (19.4)	89.1 (17.4)	7.0 (0.7)	3.7 (0.5)	0.3 (0.7)	2.3 (0.5)	2.2 (0.5)
10C	220.9 (30.9)	200.3 (31.9)	11.5 (0.9)	4.6 (1.1)	2.5 (0.8)	6.4 (1.0)	2.8 (0.7)
10D	269.9 (54.8)	246.9 (52.4)	9.4 (1.2)	4.1 (0.6)	2.4 (0.9)	4.6 (1.1)	2.9 (0.7)
11A	129.2 (29.6)	105.9 (28.8)	7.4 (1.0)	3.3 (0.6)	1.8 (1.0)	2.9 (0.7)	1.8 (0.4)
11B	155.1 (49.8)	133.5 (47.4)	7.5 (2.3)	3.6 (0.8)	0.7 (1.0)	2.6 (0.7)	1.8 (0.4)
11C	135.6 (52.6)	n.d.	n.d	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
11D	155.3 (35.4)	133.2 (33.2)	12.0 (2.1)	6.5 (0.9)	0.8 (1.3)	3.7 (1.2)	2.8 (1.1)
11E	168.7 (37.2)	145.1 (33.8)	11.5 (1.5)	6.2 (1.9)	0.7 (1.2)	3.6 (1.1)	2.8 (1.0)
12A	103.7 (16.7)	89.6 (15.0)	5.9 (1.1)	3.2 (0.7)	0.1 (0.4)	1.8 (0.5)	1.8 (0.5)
13A	121.7 (28.2)	104.0 (25.1)	9.0 (1.1)	5.3 (1.1)	1.4 (1.4)	3.4 (1.2)	2.6 (0.6)
14A	148.9 (38.0)	131.1 (34.7)	9.3 (1.7)	4.4 (1.1)	3.1 (2.2)	3.4 (1.3)	2.7 (0.8)

n.d. não determinado

Quadro 1.4. Distribuição das árvores em cada local por classes de perímetro a 1,3 m do solo sobre cortiça (% do total)

Código	Classes de perímetro a 1,3 m sobre cortiça, % do total das árvores					
	< 100 cm	100-120 cm	120-140 cm	140-160 cm	160-180 cm	> 180 cm
1A	60	35	5	-	-	-
2A	-	-	15	30	20	35
4A	-	-	5	-	25	70
5A	20	5	5	20	30	20
5B	5	15	20	30	25	5
5C	15	45	25	5	5	5
6A	10	35	25	20	10	-
6B	5	15	20	10	40	10
6C	-	-	15	10	30	45
7A	10	35	10	20	10	15
7B	20	30	30	20	-	-
7C	5	50	25	15	5	-
7D	5	35	35	10	10	5
7E	-	5	20	50	15	10
7F	-	10	10	5	10	65
7G	5	25	35	15	10	10
8A	5	10	25	15	15	30
8B	15	45	15	10	10	5
8C	-	-	-	5	10	85
8D	-	50	35	5	5	5
9A	5	20	20	20	10	25
9B	10	50	30	10	-	-
10A	-	25	15	40	20	-
10B	30	45	20	-	5	-
10C	-	-	-	-	10	90
10D	-	-	-	5	5	90
11A	10	35	25	10	15	5
11B	10	20	20	5	20	25
11D	5	5	40	10	25	15
11E	-	5	10	45	10	30
12A	40	40	20	-	0	-
13A	20	40	10	20	5	5
14A	10	25	5	30	10	20
Média	8	23	18	15	13	23

O coeficiente de descortiçamento foi calculado como o quociente entre o perímetro à altura do peito sobre cortiça e a altura total de descortiçamento. Quando existem braças e ramos descortiçados, a altura de descortiçamento foi calculada como a soma da altura de descortiçamento no fuste mais a média da altura descortiçada dos ramos (soma da altura de descortiçamento em todos os ramos dividido pelo seu número).

O coeficiente de descortiçamento médio do total das árvores estudadas (excluindo as árvores com descortiçamento em meças) foi 2,2 o que constitui um valor inferior ao coeficiente 3 permitido legalmente. Em termos de valores médios por herdade, verificou-se uma variação do coeficiente de descortiçamento entre 1,7 e 3,1.

1.3. Espessura em cru e calibre da cortiça

1.3.1. Espessura em cru e calibre da cortiça

A espessura da cortiça foi medida em cru e após cozedura, correspondendo esta última determinação ao calibre da cortiça em prancha. Todas as medidas foram efectuadas com cortiça seca ao ar (com uma humidade média de 7%). O valor indicado para cada amostra corresponde à média das 4 medições efectuadas em cada uma das faces, em local previamente marcado com caneta fina.

A Figura 1.3 mostra os valores médios da espessura em cru e do calibre das cortiças para cada local amostrado e para o total.

A espessura em cru do total das cortiças amostradas foi, em média, de 31,4 mm, tendo-se registado um valor mínimo de 13,3 mm (uma amostra no local 7B) e um valor máximo de 67,4 mm (uma amostra no local 8C). Para cada local, a média das espessuras em cru das cortiças variou entre 22,6 mm (local 7B) e 44,2 mm (local 8C).

A cortiça cozida apresenta uma maior espessura devido à expansão radial que se verifica geralmente com a cozedura. O calibre médio das cortiças para o total das amostras recolhidas foi 35,0 mm, com um valor mínimo de 14,6 mm (uma amostra no local 7B) e um valor máximo de 73,6 mm (uma amostra no local 8C). Para cada local, a média dos calibres das cortiças produzidas situou-se entre 25,7 mm (local 7B) e 48,3 mm (local 8C).

Dentro de cada local amostrado existe variabilidade entre a cortiça produzida pelas diferentes árvores amostradas, como se pode observar na Figura 1.3 pelo desvio padrão de cada valor médio. No entanto, esta variabilidade não é muito elevada e os coeficientes de variação da média são, com poucas excepções, inferiores a 20%, quer para a espessura em cru, quer para o calibre.

No entanto, a comparação da produção entre locais para fins de análise de produtividade ou de qualidade da estação não pode ser feita directamente com base nestes valores de calibre, visto que a idade de criação das cortiças não foi igual em todas elas. A idade de criação da cortiça foi maioritariamente de 9 anos embora também em muitos casos a idade de criação da cortiça tenha sido de 10 anos. Uma idade superior verificou-se em menor número de casos. Encontram-se também, em alguns casos, cortiças com diferentes idades de criação dentro do mesmo local de amostragem. Tal será discutido mais adiante, em 6. "Idade e crescimento" das cortiças".

Os resultados obtidos para o calibre das cortiças dos diferentes locais podem ser também analisados globalmente a fim de avaliar a adequação geral da cortiça produzida como matéria-prima para a indústria da cortiça.

1.3.2. Classes de calibre

O primeiro objectivo para a matéria-prima na indústria corticeira é a sua utilização para a brocagem de rolhas para vinho, o que exige um calibre mínimo que tem a ver com o diâmetro das rolhas brocadas. Nas condições actuais, considera-se este calibre mínimo 27 mm. As cortiças são classificadas comercialmente por calibre tendo em atenção este objectivo e as classes encontram-se definidas em norma portuguesa (NP 298, 1993) e internacional (ISO 1216, 1990) (Quadro 1.5). As duas classes 27-32 mm e 32-40 mm, respectivamente meia-marca e marca, são as mais valorizadas, pois correspondem aos requisitos da espessura para a brocagem e dão o maior rendimento na produção de rolhas.

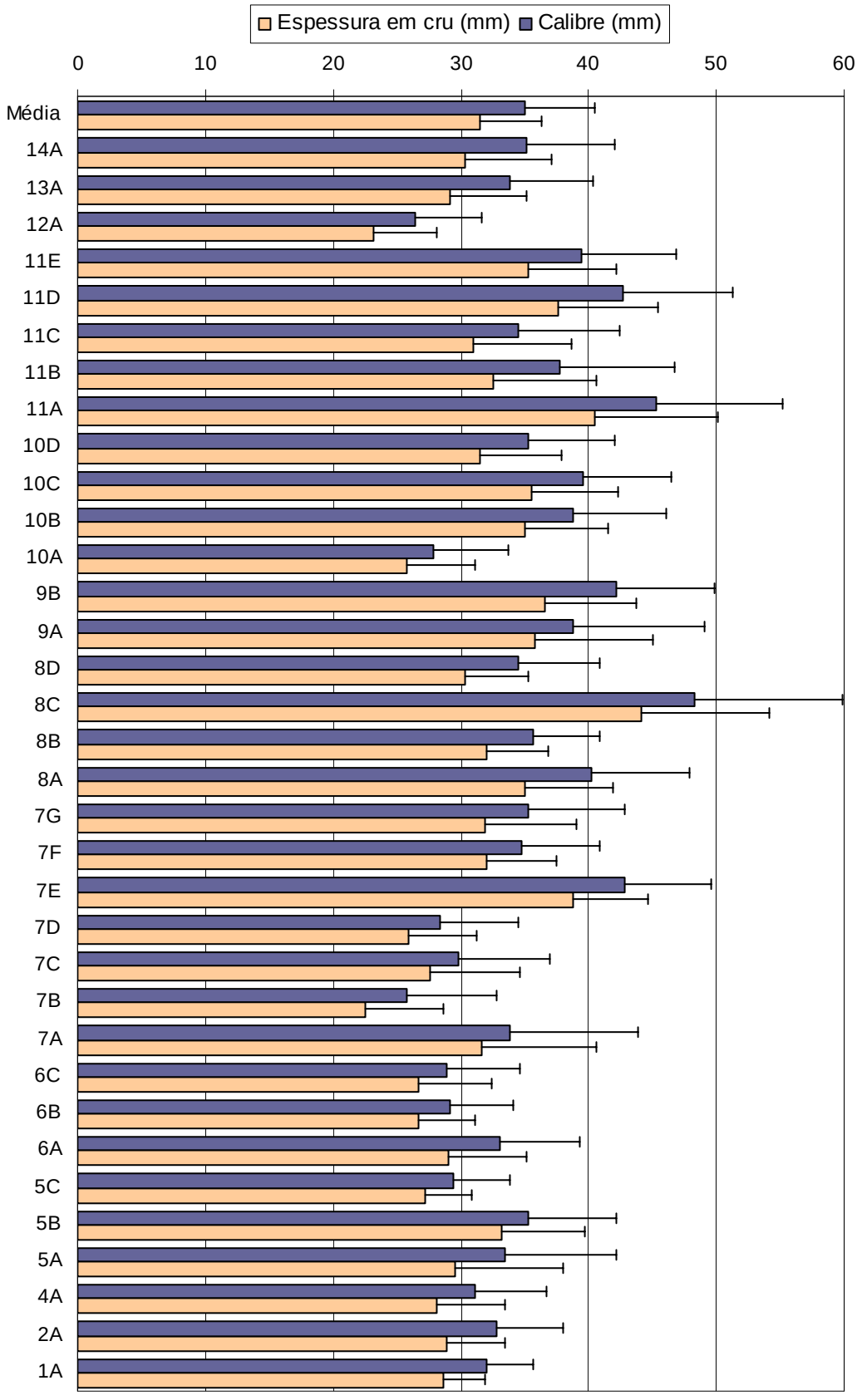
O Quadro 3.2 mostra a distribuição das cortiças das diferentes herdades por 3 grupos de calibres: < 27 mm; 27-40 mm e > 40 mm. Estes grupos correspondem, portanto, e em relação à brocagem de rolhas para vinho, a cortiças demasiado delgadas, a cortiças com a espessura adequada e a cortiças demasiado espessas.

Verifica-se que 55% da produção total corresponde a cortiças com a melhor adequação para o fabrico de rolhas (27-40 mm) e que 27% possuem já um calibre demasiado elevado (> 40 mm). No total, 18% das cortiças são delgadas (<27 mm)

A análise comparativa entre herdades mostra diferenças importantes em relação ao seu perfil de produção por classes de calibre, que permitem classificar as herdades como:

- herdades em que a produção é maioritariamente de cortiças com os calibres pretendidos (27 - 40 mm): por exemplo, nas herdades 1A, 4A, 6A, 8B, 8D e 14A, 75% ou mais das cortiças correspondem aos calibres pretendidos;
- herdades que produzem uma percentagem elevada de cortiças demasiadamente grossas (> 40 mm): por exemplo, as herdades 7E, 8A, 8C, 9B, 11A e 11D produzem mais de 50% das cortiças com calibres espessos;
- herdades que produzem uma percentagem importante de cortiças delgadas (< 27 mm): por exemplo, as herdades 6C, 7B, 7C, 7D, 10A, 12A produzem mais de 40% das cortiças com calibre delgado.

Figura 1.3. Espessura em cru e calibre (mm) após cozedura das cortiças amostradas nos 34 locais e respectivo total. Média de 20 amostras por herdade; a barra indica o respectivo desvio padrão.



Quadro 1.5. Classificação comercial das cortiças em prancha segundo o seu calibre (NP 298, 1993)

Designação	Espessura, linhas	Espessura, mm
Delgadinha	6' – 8'	9 - 22
Delgada	8'- 10'	22 - 27
Meia-marca	11' – 13'	27 - 32
Marca	13' – 18'	32 - 40
Grossa	18' – 24'	40 - 54
Triângulo	> 24'	> 54

Quadro 1.6. Distribuição (% de total) das cortiças produzidas por 3 grupos de calibre: <27 mm (delgada e delgadinha), 27-40 mm (meia-marca e marca) e > 40 mm (grossas)

Local	Grupos de calibres, % do total		
	< 27 mm	27 – 40 mm	> 40 mm
1A	10	85	5
2A	30	60	10
4A	20	75	5
5A	20	60	20
5B	10	60	30
5C	30	70	-
6A	10	75	15
6B	30	70	-
6C	45	45	10
7A	30	45	25
7B	55	40	5
7C	40	50	10
7D	45	50	5
7E	-	25	75
7F	10	60	30
7G	20	50	30
8A	-	50	50
8B	5	75	20
8C	5	15	80
8D	10	75	15
9A	10	50	40
9B	5	40	55
10A	45	55	-
10B	-	60	40
10C	-	55	45
10D	10	65	25
11A	-	30	70
11B	15	45	40
11C	15	60	25
11D	5	35	60
11E	-	55	45
12A	55	45	-
13A	15	70	15
14A	10	75	15
Média	18	55	27

1.3.3. Expansão da cortiça com a cozedura

A expansão da cortiça na direcção radial que ocorre com a cozedura da cortiça corresponde, em termos práticos, a um aumento do calibre. Esta expansão foi calculada para todas as amostras, em % da espessura em cru da cortiça.

A Figura 1.4 mostra a expansão média verificada nas cortiças de cada herdade e para o total. Verificou-se uma expansão média para o total das cortiças de 11,7%. Nos diferentes locais amostrados, a expansão média variou de um mínimo de 6,2% (local 5B) até um máximo de 16,6% (local 11B).

Existiu uma variabilidade importante de comportamento das diferentes cortiças na expansão com a cozedura, registando-se valores para a expansão em amostras individuais desde 0% até 38%. Também se verificou uma variabilidade importante entre as cortiças das árvores do mesmo local, com os coeficientes de variação da média da expansão para as 20 cortiças de cada herdade situando-se, em geral, em 30-40% da média.

A análise estatística dos valores da expansão radial com a cozedura para os diferentes locais de amostragem mostrou que a distribuição de valores não obedeceu aos critérios de normalidade, pelo que a respectiva análise comparativa foi feita segundo uma análise de variância segundo Kruskal-Wallis. Verificou-se existir diferenças significativas ($P<0,001$) entre a expansão em alguns dos locais de amostragem, como indicado na Figura 1.4. No entanto, não foi possível explicar a origem destas diferenças pois as variações da expansão não se encontravam associadas a diferenças de, por exemplo, espessura da cortiça, da sua porosidade ou densidade.

De facto, a expansão da cortiça com a cozedura não está significativamente correlacionada com a espessura em cru da cortiça. Como se vê na Figura 1.5, que mostra a expansão com a cozedura em função da espessura em cru para todas as amostras de cortiça, existe uma grande dispersão de pontos, encontrando-se por exemplo, pequenas expansões para todos os valores de espessuras. Apesar de também se verificarem expansões elevadas com diferentes espessuras, em geral, as expansões superiores a 20% ocorreram em cortiças com as menores espessuras Verifica-se, portanto, apenas uma muito pequena tendência para uma menor expansão para espessuras maiores.

A expansão da cortiça também não se amostrou significativamente correlacionada com a sua porosidade (Figura 1.6), encontrando-se grandes e pequenas expansões, tanto para cortiças pouco porosas como muito porosas. A expansão da cortiça também não se mostrou correlacionada com a densidade bruta da cortiça, como mostra a dispersão de pontos na Figura 1.7, verificando-se apenas uma muito pequena tendência para uma menor expansão para as cortiças mais densas.

Figura 3.2. Expansão da cortiça (% da espessura em cru). Média de 20 amostras por local e desvio padrão (barra). A expansão dos locais ligados por uma linha não é significativamente diferente (P<0,05)

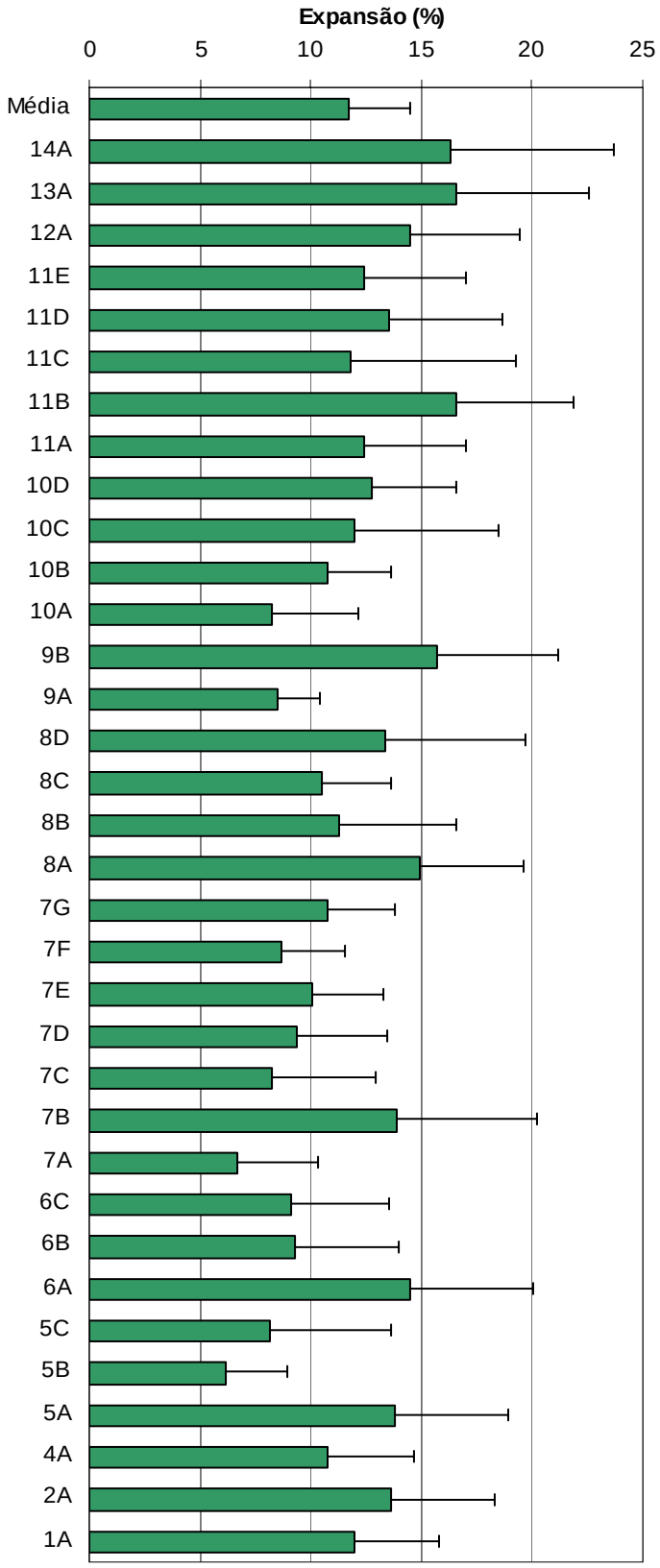


Figura 1.5. Expansão radial da cortiça com a cozedura (% da espessura em cru) com a espessura em cru da cortiça. Total de 680 amostras (R^2 = 0,021, Y = - 0,215 X + 33,957)

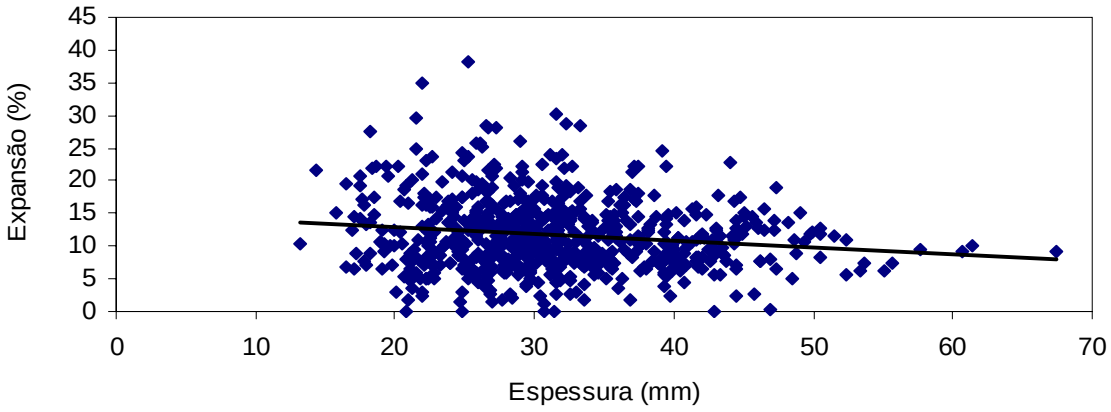


Figura 1.6 - Expansão radial da cortiça com a cozedura (% da espessura em cru) com a porosidade da cortiça (coeficiente de porosidade total, CP%)

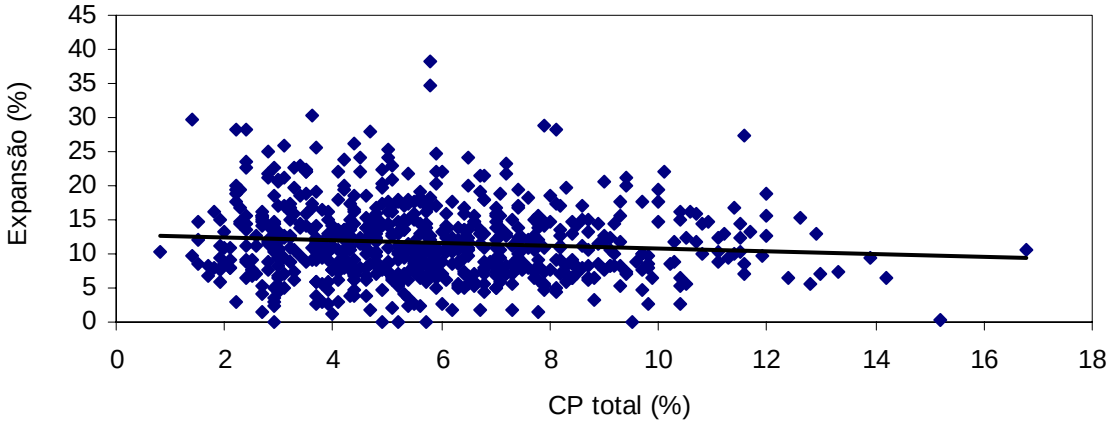
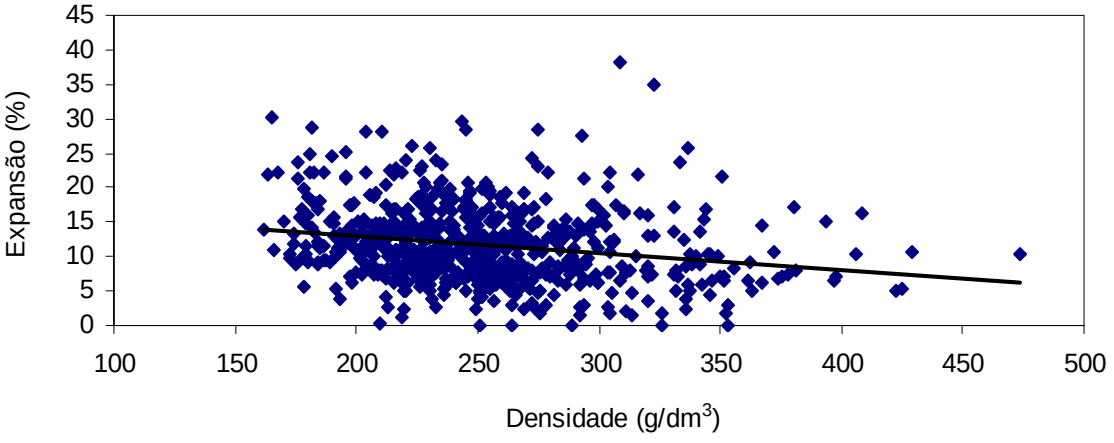


Figura 1.7 - Expansão radial da cortiça com a cozedura (% da espessura em cru) com a densidade bruta da cortiça (kg/m^3). Total de 680 amostras.



1.4. Porosidade

A porosidade foi medida com um sistema de análise de imagem, nas secções transversais e radiais de cada amostra de cortiça. Os valores apresentados são a média das determinações nestas 4 secções.

No sistema de análise de imagem, os objectos (poros) são distinguidos da massa da cortiça por diferença de cor ou, nos sistemas a preto e branco, por diferenças de cinzento. Assim, estabelecendo um limite do nível de cinzento podem isolar-se os poros do resto da massa de cortiça. A imagem é digitalizada e o software do sistema permite determinar automaticamente diversos parâmetros dimensionais e de forma para cada um dos objectos reconhecidos na imagem. Nestas imagens, a costa da cortiça é retirada por manipulação da imagem, de modo a que não seja considerada objecto.

A Figura 1.8 mostra, para três casos diferentes de porosidade (uma cortiça muito porosa, uma cortiça medianamente porosa e uma cortiça pouco porosa), a imagem de uma secção trasnsversal de cortiça e a sua transformação após selecção de um limite cromático adequado para a definição dos poros.

Os objectos seleccionados correspondem principalmente aos canais lenticulares que atravessam radialmente as pranchas de cortiça. Estes canais constituem o que se designa geralmente por poros, ou porosidade da cortiça, e que correspondem a um dos factores mais importantes para estabelecer a qualidade da cortiça para fins rolheiros. Pretende-se que a cortiça tenha a menor porosidade possível. Na porosidade incluem-se também descontinuidades acidentais (galerias de insectos e formiga), colapso radial (bofe) ou fracturas. As inclusões lenhosas designadas prego são também incluídas como objectos na imagem e, portanto, lidos como porosidade.

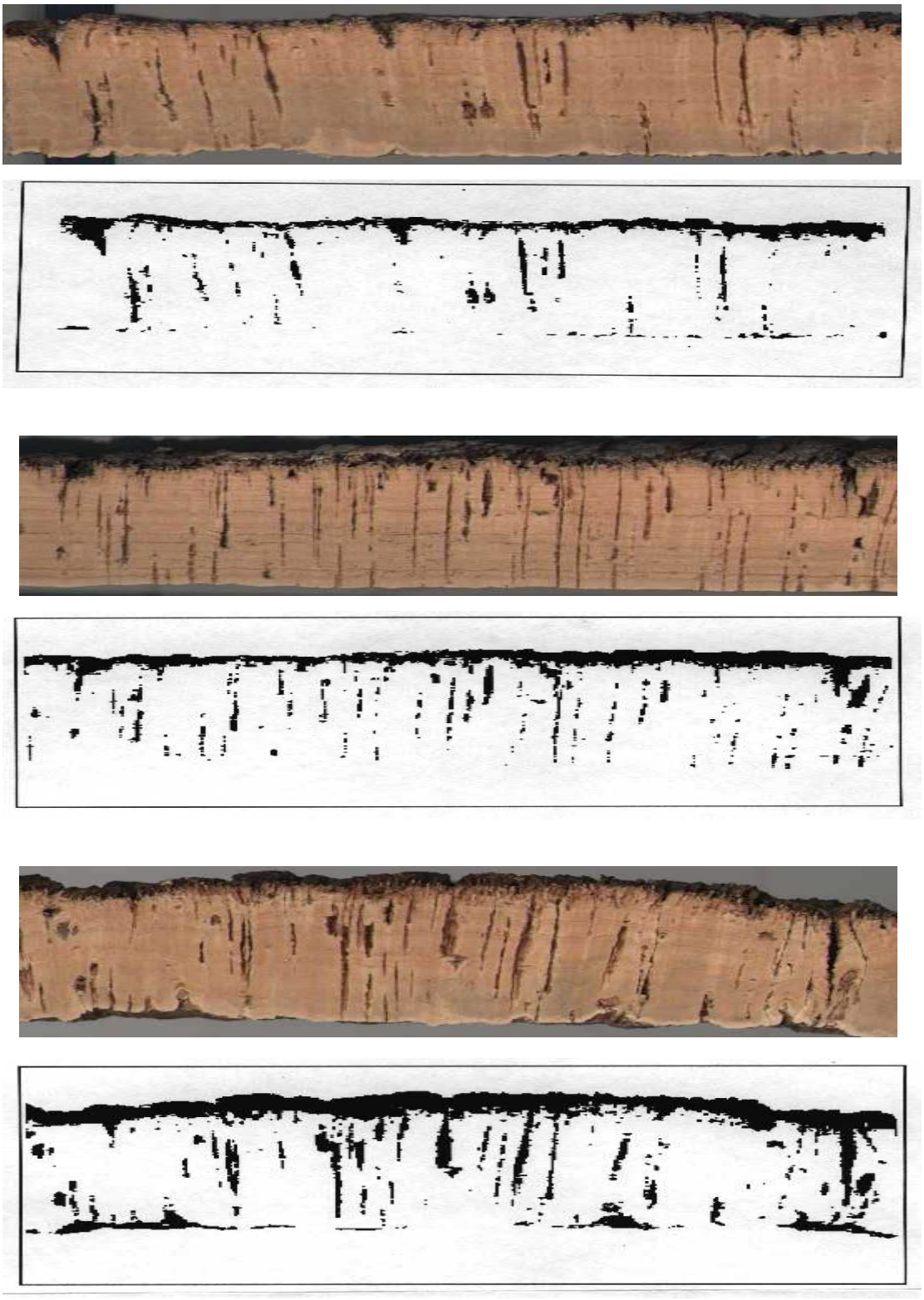
A porosidade das amostras de cortiça foi caracterizada por :

- CP (%): o um coeficiente de porosidade total, que corresponde à área total de poros em relação à área total medida.

- $CP_{>2mm^2}$ (%): o coeficiente de porosidade dos poros com área superior a 2 mm^2, que corresponde à área total dos poros com dimensões individuais superiores a 2 mm^2 em relação à área total medida.

Dado que existe nas amostras um grande número de pequenos poros que não detêm importância significativa para o estabelecimento da qualidade da cortiça, a sua eliminação permite calcular o parâmetro ($CP_{>2mm^2}$), porventura com maior importância prática que o CP .

Figura 1.8. Imagem de uma secção transversal da cortiça e imagem da área assinalada após selecção de um nível de cinzento para distinção dos poros, para três casos de cortiças com porosidades diferentes.



A Figura 1.9 mostra, para cada herdade e para o total, os coeficientes de porosidade total (CP, %) e dos poros >2mm^2 ($CP_{>2mm^2}$, %) como média de vinte amostras por local de amostragem.

A porosidade total foi, em média, 5,8% para o total das amostras analisadas. Verifica-se que existe uma grande variação entre a porosidade das diferentes cortiças, desde um valor mínimo de 0,5% (uma amostra do local 7D) até um máximo de 14,6% (uma amostra do local 4A). Por local, a média da porosidade da cortiça variou entre um mínimo de 3,2% (local 7D) e um máximo de 8,8% (local 8C). A variabilidade entre árvores de um mesmo local é muito grande e foi, de todos os parâmetros analisados nas amostras de cortiça, o que apresentou maior variação entre árvores da mesma herdade. Os coeficientes de variação de média foram, em todos os casos, superiores a 20% e frequentemente na ordem de 40%.

A caracterização da porosidade excluindo os poros muito pequenos, ou seja, utilizando $CP_{>2mm}{}^2$ para a análise, mostra resultados semelhantes.

Como os poros $CP_{>2mm}{}^2$ representam em média cerca de 81% da porosidade total, o valor do $CP_{>2mm}{}^2$ para as amostras será correspondentemente menor. As variações encontradas são, no entanto, semelhantes às verificadas quando se analisou a porosidade total, com as cortiças mais porosas correspondendo, em média, à herdade 8C (7,5%) e as menos porosas à herdade 7D (2,3%).

A variabilidade entre árvores no mesmo local manteve-se também elevada. Os coeficientes da variações da média situaram-se em 43%.

Uma análise de variância mostra que a distribuição da porosidade tanto para o CP como para o $CP_{>2mm^2}$ não obedeceu aos critérios de normalidade, pelo que a respectiva análise comparativa foi feita segundo uma análise de variância segundo Kruskal-Wallis. Verificou-se que existiam diferenças significativas entre os locais de amostragem, como mostra a Figura 1.10. Nesta figura os locais estão ordenados por ordem decrescente de porosidade, e os que não são significativamente diferentes entre si ($P<0,05$) estão unidos pela mesma linha vertical, como resultado do respectivo teste de comparação de Dunn.

Verifica-se, como consequência da grande variabilidade existente entre as árvores do mesmo local, que são poucos os locais em que a porosidade média das suas cortiças difere significativamente umas das outras.

Figura 1.9. Coeficiente de porosidade total (CP, %) e coeficiente de porosidade de poros > 2mm^2 ($CP_{>2mm2}$, %) para os diferentes locais de amostragem. Média de 20 amostras por local e desvio padrão.

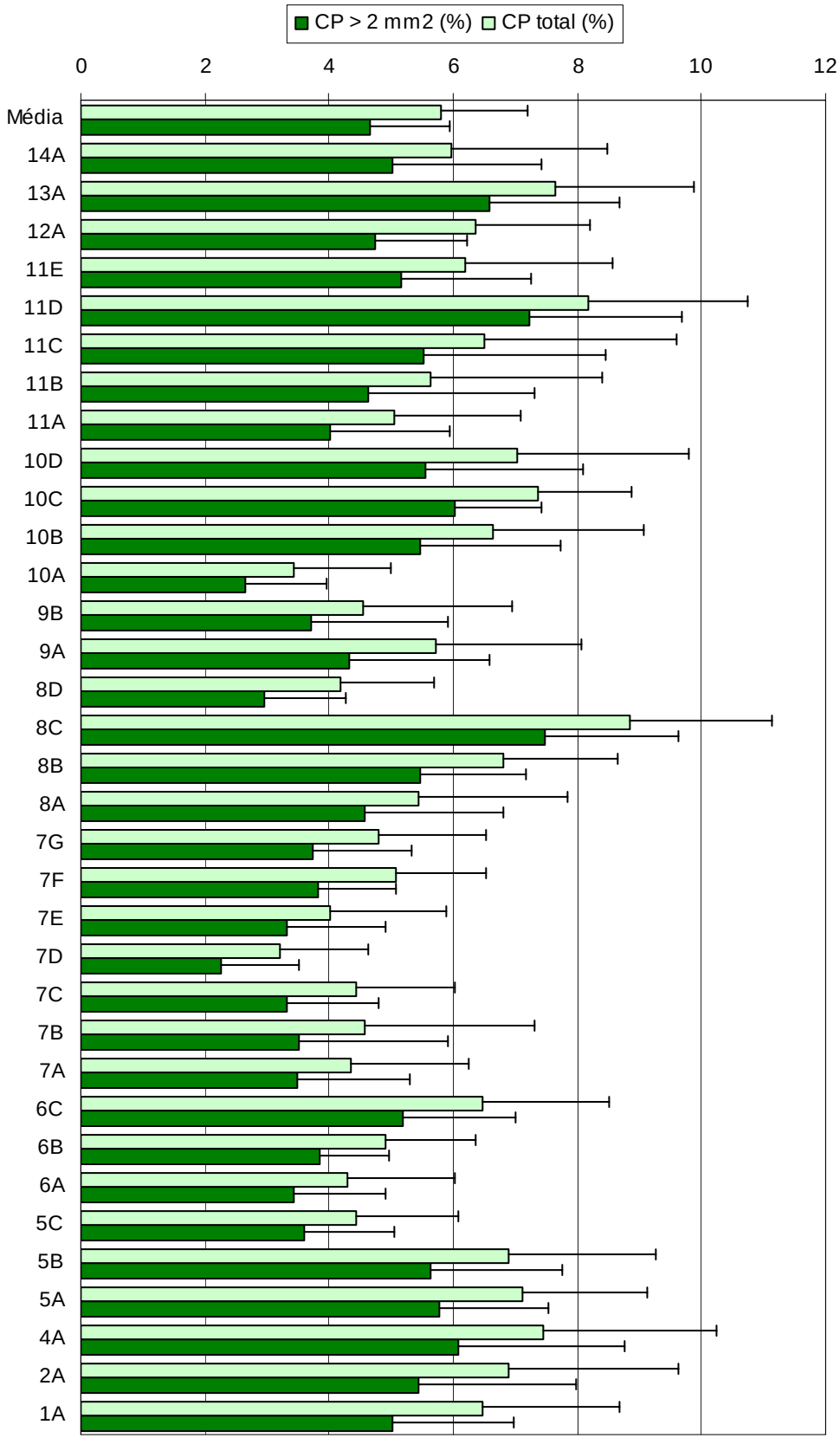
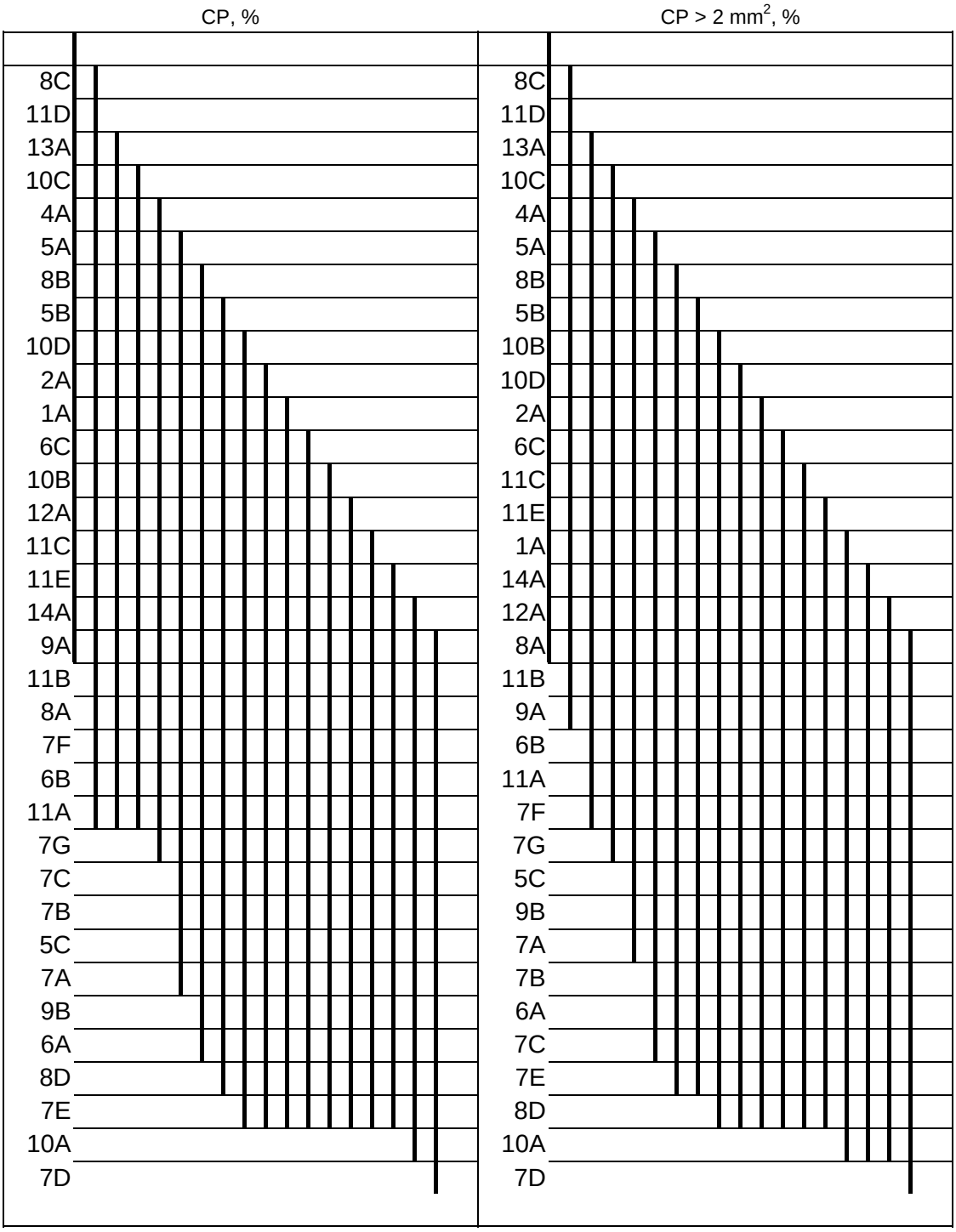
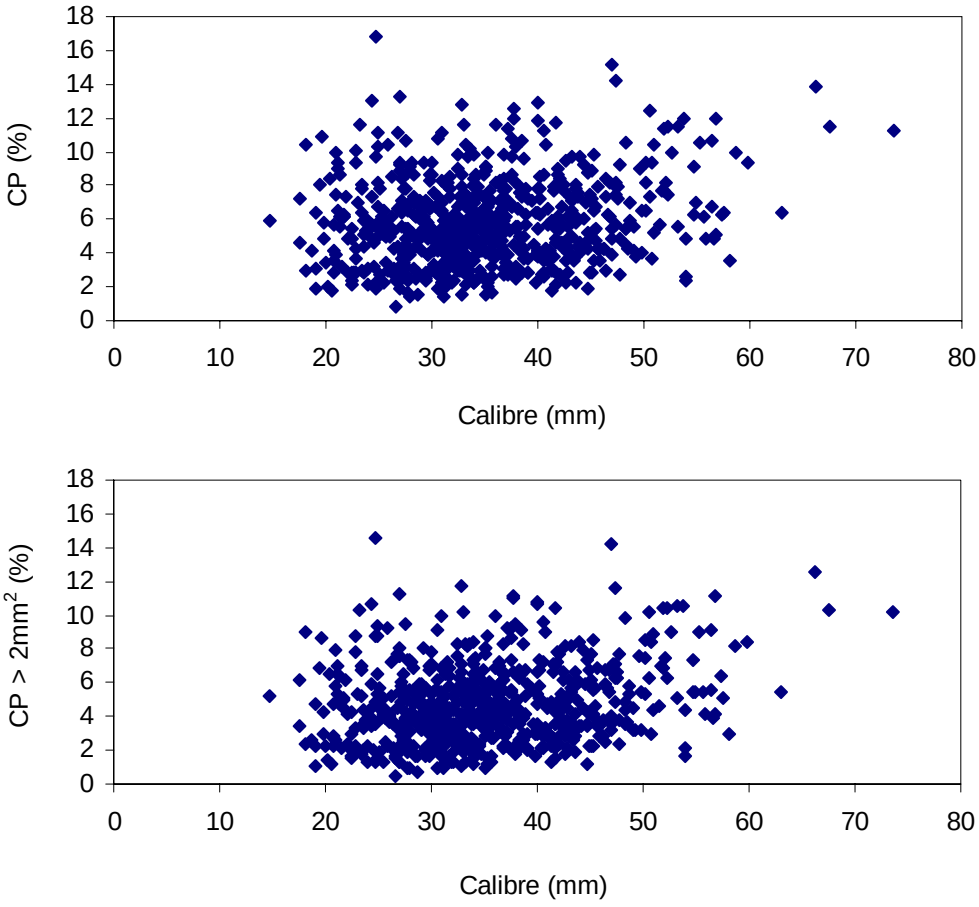


Figura 1.10. Ordenação por ordem decrescente de porosidade (CP e $CP_{>2mm2}$, %) para os diferentes locais de amostragem. Os locais unidos pela mesma linha vertical não são significativamente diferentes entre si (P<0,05).



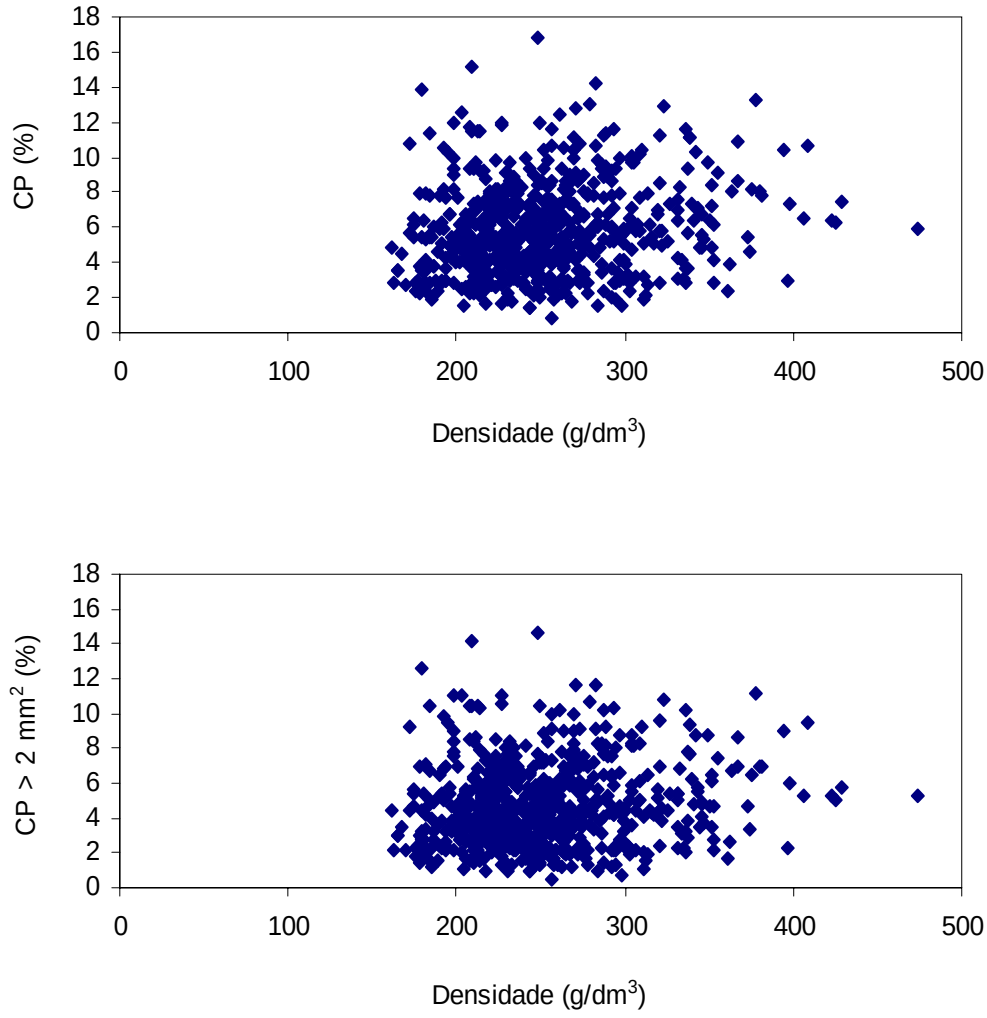
Analisaram-se alguns factores possíveis para a variação de porosidade. A porosidade não se mostrou significativamente correlacionada com o calibre da cortiça (Figura 1.11), encontrando-se em todas as classes de calibre cortiças com baixa porosidade e cortiças com alta porosidade. Tal verificou-se quer considerando a porosidade total quer a porosidade resultante apenas de poros > 2 mm^2. Existe, no entanto, uma ligeira tendência para que os maiores calibres possuam uma maior porosidade e tal tendência parece mais nítida quando se considera a porosidade correspondente apenas aos poros > 2 mm^2

Figura 1.11. Variação da porosidade da cortiça (CP% e $CP_{>2mm2}$, %) com o respectivo calibre (mm)



Por outro lado verificou-se que a porosidade também não parece influenciar significativamente a densidade bruta das cortiças (Figura 1.12), quer considerando a porosidade total quer a porosidade correspondendo a poros >2mm^2. Assim, encontram-se cortiças com densidade elevada e porosidade também elevada, tal como cortiças com densidade e porosidade baixas.

Figura 1.12. Variação da densidade bruta da prancha de cortiça (kg/m^3) com o respectiva porosidade (CP e $CP_{>2mm2}$, %)



1.5. Classificação comercial da qualidade

As pranchas de cortiça são classificadas industrialmente por um operador que, por observação das faces e da barriga (e, em menor grau, da costa), as separa em classes de qualidade, de acordo com a sua aptidão para a produção de rolhas de boa qualidade. São apreciados principalmente os aspectos da porosidade derivado dos canais lenticulares (sendo a sua dimensão o factor mais importante, seguido pela frequência) e as outras descontinuidades (bofe, galerias, etc), a presença de fracturas na prancha, assim como a presença de prego.

Trata-se de uma avaliação integradora das amostras e prospectiva em termos de rendimento e de perfil de qualidade das rolhas que se poderão obter a partir dessa prancha. A classificação pode ser feita em seis classes, de 1ª a 6ª, ou em classes agrupadas de 1ª-3ª, 4ª-5ª e 6ª ou ainda agrupada em 1ª-5ª e 6ª (Quadro 1.7). A cortiça sem aptidão para o fabrico de rolhas é considerada o refugo.

Actualmente, os tipos de classificação mais habituais na comercialização da prancha de cortiça são os que utilizam classes de qualidade agrupadas, quer em 3 classes (1ª-3ª, 4ª-5ª e 6ª), quer em apenas duas (1ª-5ª e 6ª). É pouco frequente a separação da prancha em 6 classes, sendo utilizada normalmente apenas para fins comerciais específicos. A classe mista 1ª a 3ª representa um lote de cortiça de boa qualidade, a classe 4ª-5ª um lote de qualidade média e a classe 6ª uma qualidade inferior. Por outro lado, a classe mista 1ª-5ª corresponde a um lote destinado à produção de rolhas com uma qualidade geralmente média.

Quadro 1.7. Classificação da qualidade comercial de pranchas de cortiça, segundo diferentes agrupamentos em classes.

Classes de qualidade comercial					
6 classes		3 classes		2 classes	
1ª	Muito boa	1ª - 3ª	Boa	1ª - 5ª	Brocável com qualidade média
2ª	Boa	4ª - 5ª	Média	6ª	Qualidade inferior
3ª	Média superior	6ª	Inferior		
4ª	Média				
5ª	Média inferior				
6ª	Inferior				
Refugo		Refugo		Refugo	

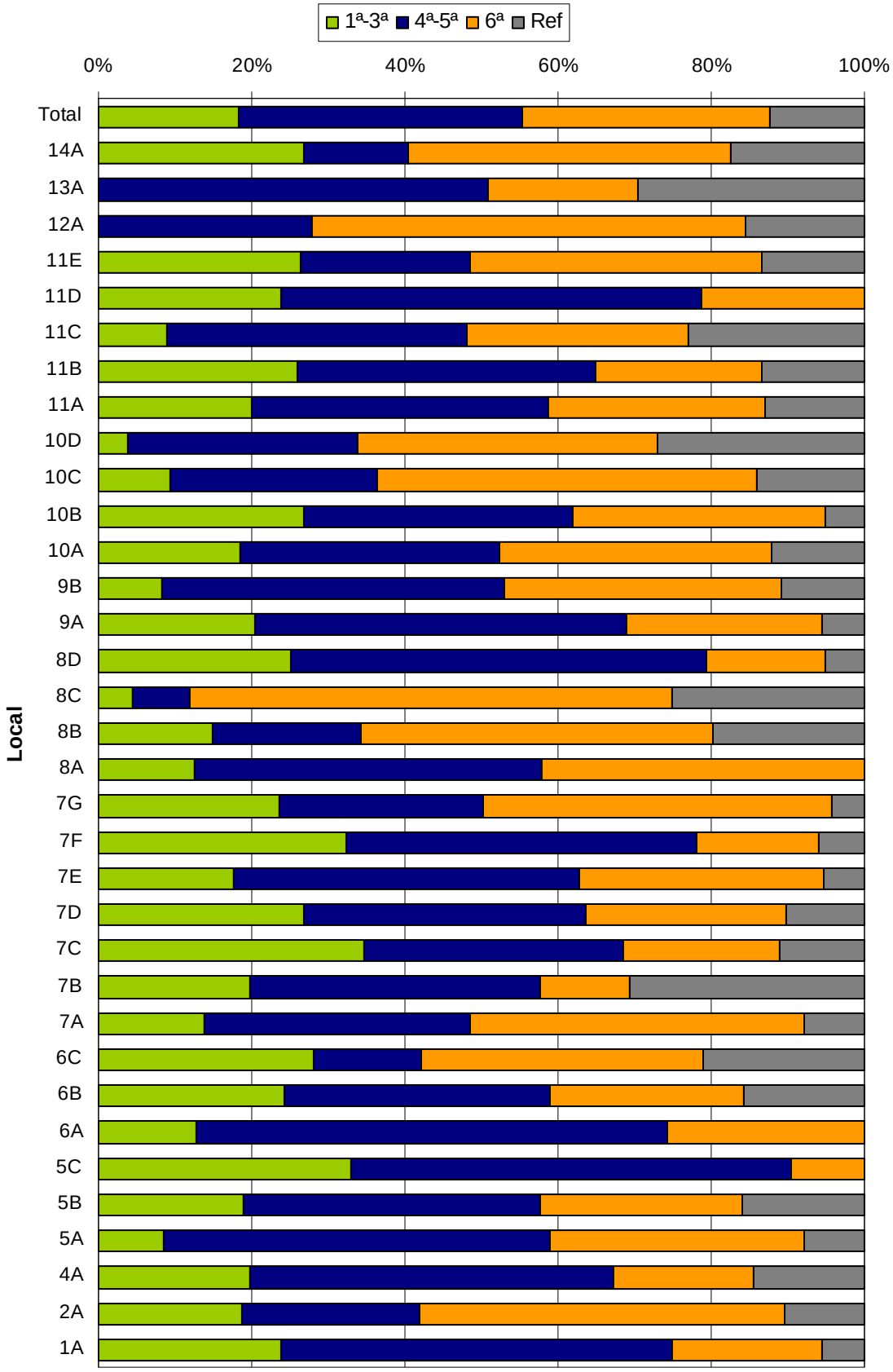
A classificação das amostras de cortiça por classes de qualidade por local de amostragem e para o total está indicada no Quadro 1.8 nas 6 classes de qualidade e refugo e na Figura 1.13 nas classes 1ª-3ª, 4ª-5ª, 6ª e refugo.

Existem diferenças significativas entre o perfil de qualidade produzido nos diferentes locais amostrados. As cortiças de refugo variam desde 0% (locais 5C, 6A, 8A e 11D) até 30% (local 7B). Por outro lado, as cortiças de muito boa qualidade (1ª) só aparecem em 15 locais e nunca em proporção superior a 10% (5B, 5C, 6A, 6B, 7A, 7B, 7C, 7D, 8D, 9A, 9B, 11A, 11C, 11D, 11E). Em 7 locais houve 20% de cortiças de refugo (6C, 7B, 8B, 8C, 10D, 11C, 13A).

Quadro 1.8. Distribuição das cortiças dos diferentes locais por 6 classes de qualidade e refugo

Local	classes de qualidade comercial, % do total						
	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	Refugo
1A	0	15	10	15	35	20	5
2A	0	5	15	10	15	45	10
4A	0	5	15	15	30	20	15
5A	0	5	5	20	30	30	10
5B	5	5	10	15	25	25	15
5C	10	10	15	15	40	10	0
6A	5	0	10	35	25	25	0
6B	5	0	20	15	20	25	15
6C	0	0	30	10	5	35	20
7A	5	0	10	10	25	40	10
7B	10	5	5	25	15	10	30
7C	11	11	16	21	10	21	11
7D	10	15	5	30	5	25	10
7E	0	5	15	20	25	30	5
7F	0	5	30	20	25	15	5
7G	0	5	20	10	15	45	5
8A	0	5	10	20	25	40	0
8B	0	10	5	10	10	45	20
8C	0	0	5	0	10	60	25
8D	5	10	10	20	35	15	5
9A	5	10	5	15	35	25	5
9B	5	0	5	25	20	35	10
10A	0	5	15	15	20	35	10
10B	0	5	20	20	20	30	5
10C	0	0	10	5	20	50	15
10D	0	0	5	10	20	40	25
11A	10	5	10	15	25	25	10
11B	0	10	15	20	20	20	15
11C	5	0	5	20	20	30	20
11D	10	5	10	35	20	20	0
11E	5	20	10	5	15	35	10
12A	0	0	0	5	25	55	15
13A	0	0	0	30	20	20	30
14A	0	15	15	5	10	40	15
Média	3	6	11	17	21	30	12

Figura 1.13. Distribuição da produção da cortiça por classes de qualidade (1ª - 3ª, 4ª - 5ª, 6ª e refugo) nos diferentes locais amostrados (% das amostras).



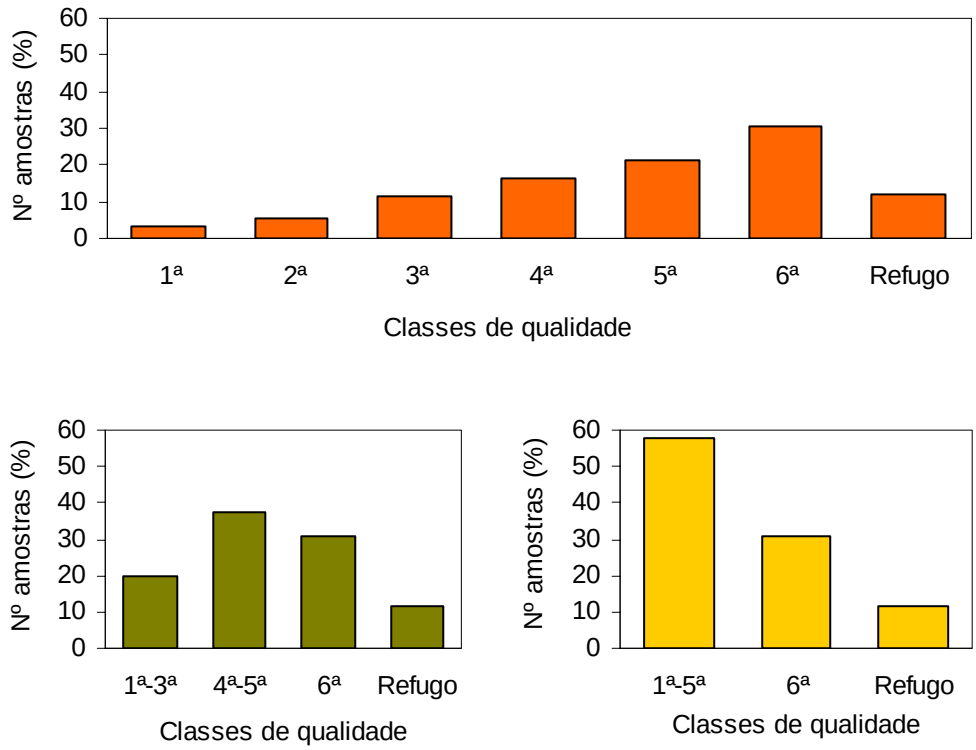
As cortiças de 1ª-3ª representam 25% ou mais da produção em apenas 15 locais e em nenhum caso estas cortiças representaram 40% da produção.

Analisando o total das amostras, como correspondente a uma possível oferta nacional de matéria-prima para a indústria (Figura 1.14), as cortiças de 1ª qualidade correspondem apenas a 2,7% e as de 2ª qualidade a 5,0% total. A maior parte das cortiças corresponde a qualidade médias e inferiores, respectivamente 15,7%, 21,3% e 32,4% para a 4ª, 5ª e 6ª classes. O refugo representa 12,2 % do total.

Considerando as classes mistas, vê-se que para o total das cortiças produzidas nas diferentes regiões do país, 18,3% correspondem a cortiças de boa qualidade (1ª - 3ª) e 37,0% a cortiças de qualidade média (4ª - 5ª).

Segundo a classificação actualmente corrente na comercialização de prancha entre indústrias preparadoras e rolheira, 55,3% do total corresponde a cortiças "brocáveis" com qualidade média (1ª - 5ª).

Figura 1.14. Distribuição por classes de qualidade comercial, segundo 3 tipos de comercialização, do total de cortiças colhidas em todas as herdades.



Considerando as 14 zonas de produção suberícola, observa-se que as zonas com maior produção de cortiças de 6ª e de refugo foram as 2, 8, 10, 12, 13 e 14, que tiverem uma produção deste tipo de cortiças correspondendo a > 50% do total (Quadro 1.9). Zonas onde a produção de cortiças de boa qualidade (1ª-3ª) foi elevada, correspondendo a mais de 25% do total, foram as zonas 1, 7, 11 e 14. De referir que a zona 2 está incluída nestas duas categorias. Em duas das zonas de produção (12 e 13), nos locais amostrados, não houve nenhuma cortiça de boa qualidade (1ª a 3ª).

No entanto, é de referir que a amostragem nas zonas com menos área do sobreiro correspondeu a apenas um local, pelo que este resultado deve ser considerado apenas indicativo, tanto mais que a variabilidade entre locais na mesma zona é elevada, como já referido.

Quadro 1.9. Distribuição das cortiças por 6 classes de qualidade e refugo para as diferentes zonas de produção

Zona de	Classes de qualidade comercial, % do total						
produção	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	Refugo
1	-	15,0	10,0	15,0	35,0	20,0	5,0
2	-	5,0	15,0	10,0	15,0	45,0	10,0
4	-	5,0	15,0	15,0	30,0	20,0	15,0
5	5,0	6,7	10,0	16,7	31,7	21,7	8,3
6	3,3	-	20,0	20,0	16,7	28,3	11,7
7	5,0	6,5	14,4	19,4	17,3	26,6	10,8
8	1,3	6,3	7,5	12,5	20,0	40,0	12,5
9	5,0	5,0	5,0	20,0	27,5	30,0	7,5
10	-	2,5	12,5	12,5	20,0	38,8	13,8
11	6,0	8,0	10,0	19,0	20,0	26,0	11,0
12	-	-	-	5,0	25,0	55,0	15,0
13	-	-	-	30,0	20,0	20,0	30,0
14	-	15,0	15,0	5,0	10,0	40,0	15,0
Média	3,1	5,6	11,3	16,5	21,1	30,6	11,8

1.6. Idade e crescimento da cortiça

1.6.1. Idade da cortiça

A idade da cortiça foi determinada com base na marcação dos anéis anuais de crescimento que correspondem a anos completos de crescimento, ou seja, excluindo os anos de extracção de cortiça (e que correspondem aos "meios-anos").

Os anéis de crescimento anual da cortiça são distinguíveis pela diferença de cor que as células de fim de estação apresentam, pois, estas células mostram um tom castanho mais escuro devido a uma maior espessura da parede e a uma menor dimensão radial. O fim do período de crescimento anual é assim marcado por uma banda mais escura, à semelhança do que acontece nos anéis anuais da madeira.

Em muitas amostras, estas diferenças são nítidas e os anéis de crescimento claramente marcados (Figura 1.15). No entanto, em diversos casos, não é possível marcar inequivocamente os limites dos anéis, quer pela ocorrência de bandas de corrugação mais escuras, no interior do anel de crescimento quer pela presença de falsos anéis (Figura 1.15).

Figura 1.15. Amostra da cortiça na qual os anéis anuais de crescimento se apresentam nítidos com a marcação efectuada para a posterior medição da largura dos anéis (fotografia superior) e amostra de cortiça na qual os anéis anuais de crescimento não aparecem nitidamente marcados (amostra inferior).

A marcação dos anéis de crescimento permite também calcular de modo exacto a idade de criação da cortiça, ou seja, o seu ciclo de produção, que corresponde ao número de anos de crescimento completo adicionado de um ano, correspondente aos dois "meios-anos" aquando da extracção da cortiça. Assim, uma cortiça com 8 anéis de crescimento completo terá uma idade de criação de 9 anos.

Os anéis foram marcados na secção transversal da cortiça, após lixagem fina, com um marcador de ponta extrafina, em três posições aproximadamente equidistantes e a sua espessura foi medida por análise de imagem. O valor indicado para o crescimento em cada ano é a média das três determinações feitas.

Para a determinação exacta da idade das cortiças e para o estudo das curvas de crescimento só se incluíram os casos em que se considerou haver certeza na marcação dos anéis anuais de crescimento. O número total de amostras em que tal aconteceu foi 283, representando 42% das 680 amostras existentes.

Verificou-se a existência de cortiças com 5 idades de criação diferentes, desde 9 anos até 16 anos (respectivamente, 8 anos a 15 anos de crescimento anuais completos). A maior parte das amostras recolhidas correspondia às idades de produção de 9 e 10 anos, respectivamente 50,9% e 31,4% do total (Quadro 1.10). Esta corresponde, de facto, à duração mais frequente do ciclo de produção de cortiça em Portugal.

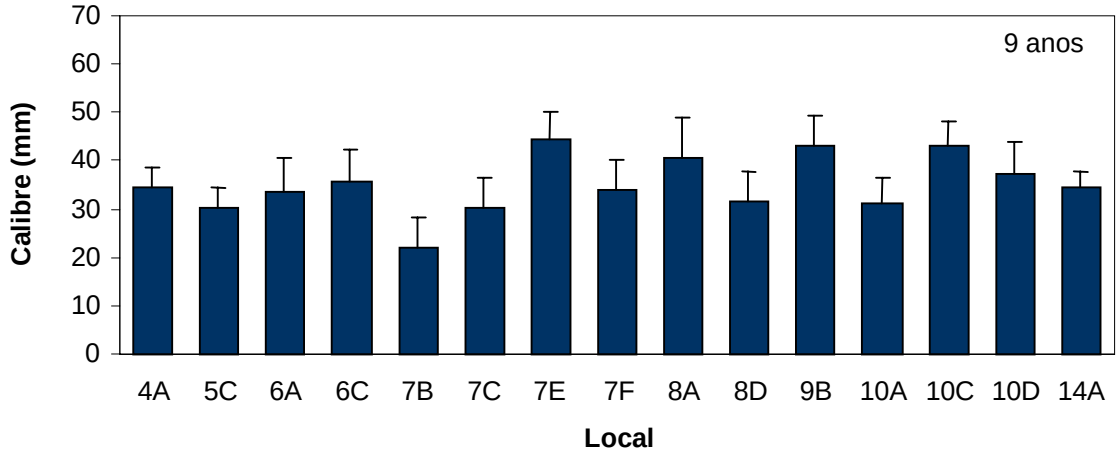
Quadro 1.10. Distribuição das pranchas de cortiça por idade de criação, em % do total das amostras nas quais foi possível medir os anéis de crescimento

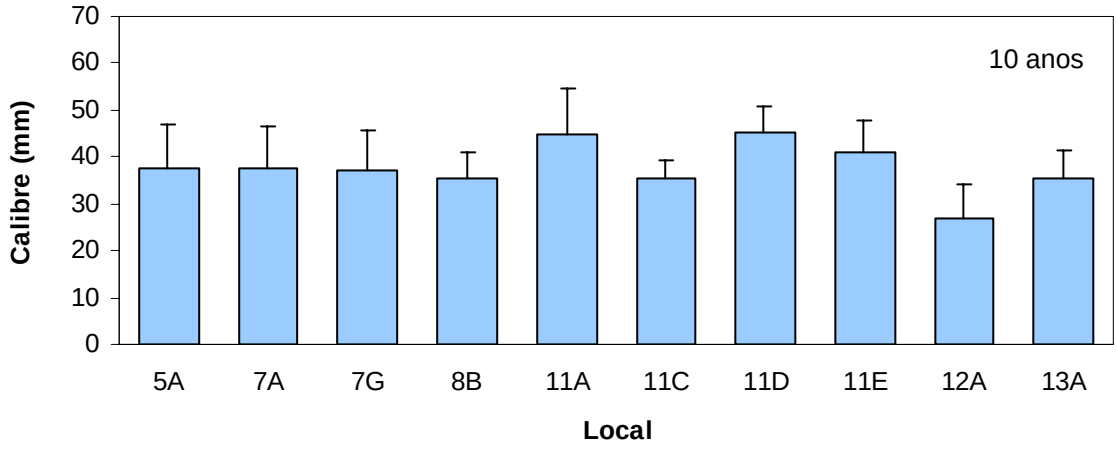
Idade de criação	% do total
9 anos	50,9
10 anos	31,4
11 anos	9,5
13 anos	4,2
14 anos	3,2
16 anos	0,8

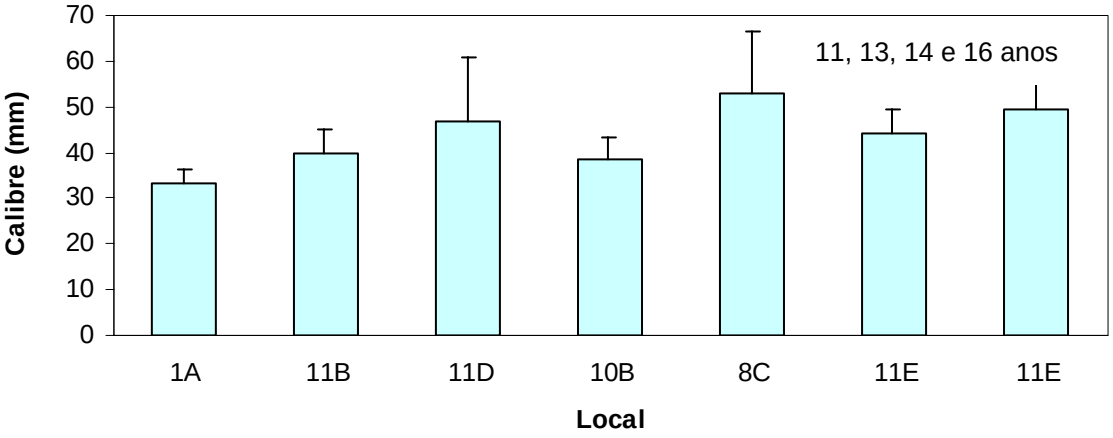
1.6.2. Calibre e idade da cortiça

Os calibres das cortiças obtidas nos diferentes locais com a mesma idade podem ser comparados entre si. A Figura 1.16 mostra o calibre médio para os locais com cortiças com 9 anos, com 10 anos ou com mais anos de criação. Excluiram-se os locais onde havia menos de 3 amostras de cortiça com idade determinada.

Figura 1.16. Valor médio do calibre (mm) e respectivo desvio padrão para as cortiças com 9 anos, 10 anos e mais anos (11, 13, 14 e 16 anos) de criação nos diferentes locais de amostragem



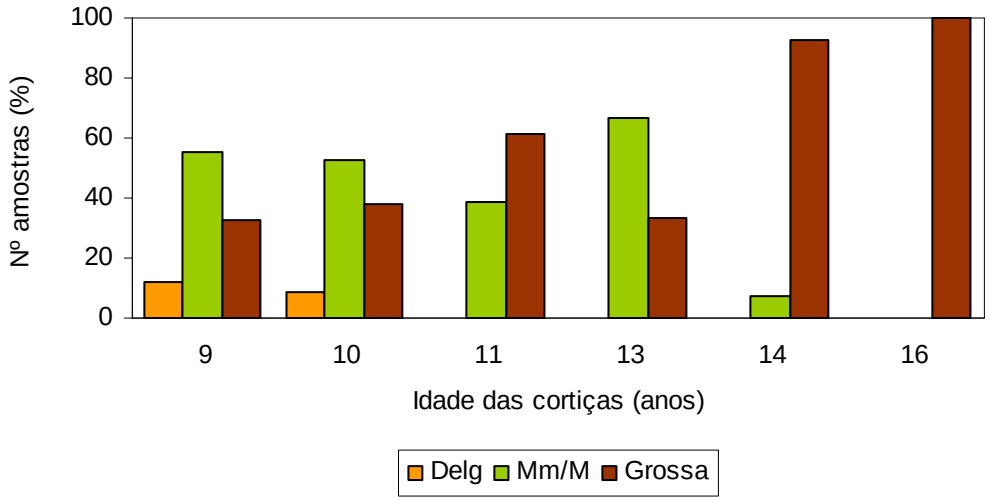




Verificou-se que o calibre das cortiças com 9 anos variou de 22 mm (local 7B) a 44 mm (local 7E). Existe uma diferença estatisticamente significativa entre os locais. Para as cortiças com 10 anos, o calibre variou de 27 mm (local 12A) até 45 mm (local 11A). Também existe uma diferença estatisticamente significativa entre os locais. As cortiças com 11 anos possuem calibres médios de 33 mm (local 1A) a 47 mm (local 11D).

Verifica-se não haver diferença entre a distribuição por classes de calibre entre as cortiças com 9 e 10 anos (Figura 1.17). Para idades superiores desaparecem as cortiças com calibre < 27 mm e aumentam as cortiças grossas (>40 mm).

Figura 1.17. Distribuição por classes de calibre (>27 mm, 27-40 mm e > 40 mm) para as cortiças com 9 anos, 10 anos e mais anos de criação nos diferentes locais de amostragem



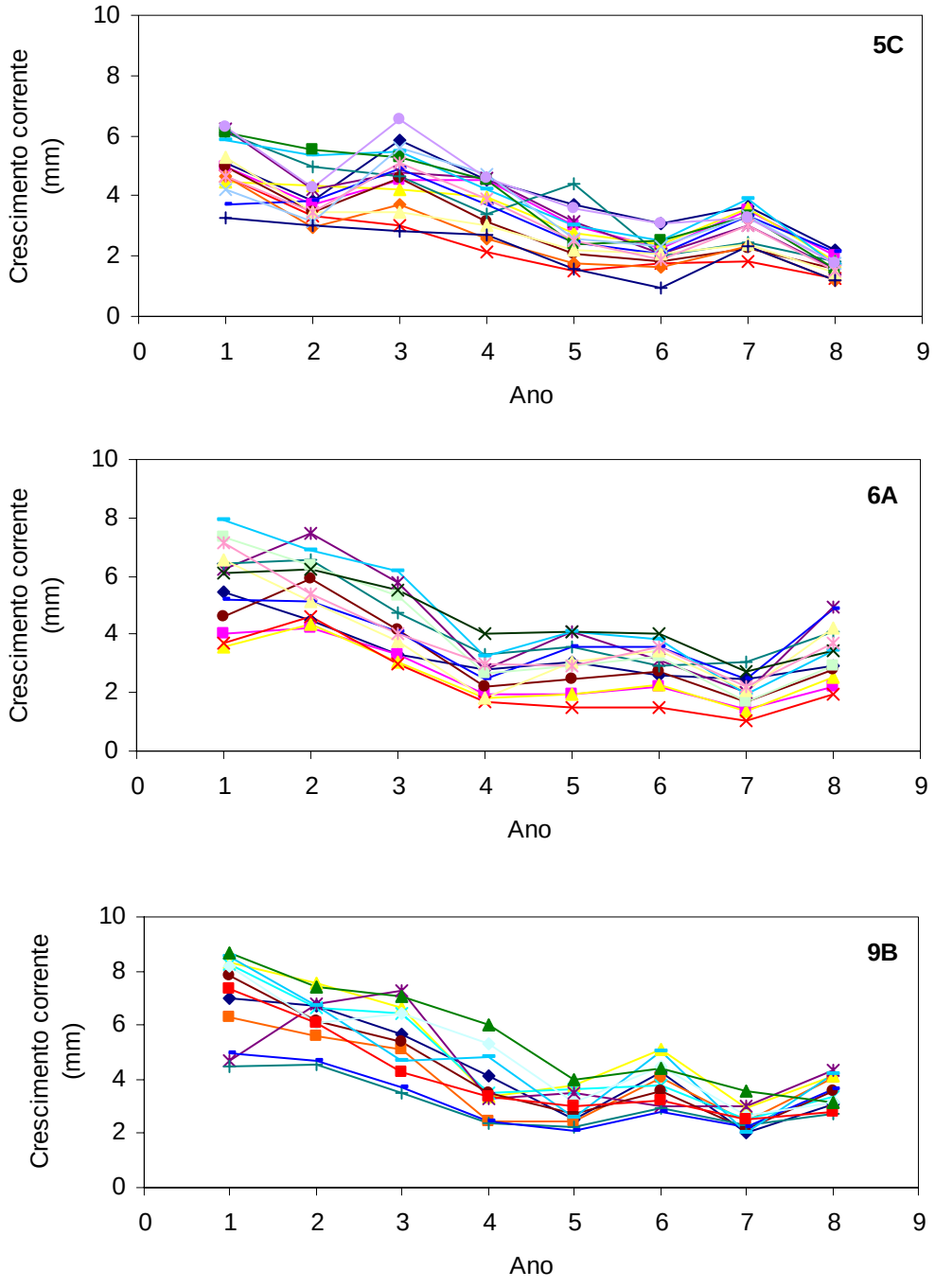
1.6.3. Curvas de crescimento da cortiça

O padrão de crescimento da cortiça apresentou-se semelhante para todos os casos. O descortiçamento e a reacção traumática da árvore dá origem a um maior crescimento da cortiça e uma maior espessura nos anos subsequentes à extracção. Em geral, o crescimento durante os três primeiros anos completos é maior do que nos anos subsequentes. À medida que aumenta o número de anos após a extracção, diminui o crescimento anual, que tende para uma relativa estabilização a partir aproximadamente de 5 anos após a extracção da cortiça.

É evidente que factores externos, por exemplo, climáticos ou resultantes de tratamentos silvícolas ou outros (pragas, doenças, etc.) podem exercer influência na árvore e alterar o padrão de crescimento da cortiça.

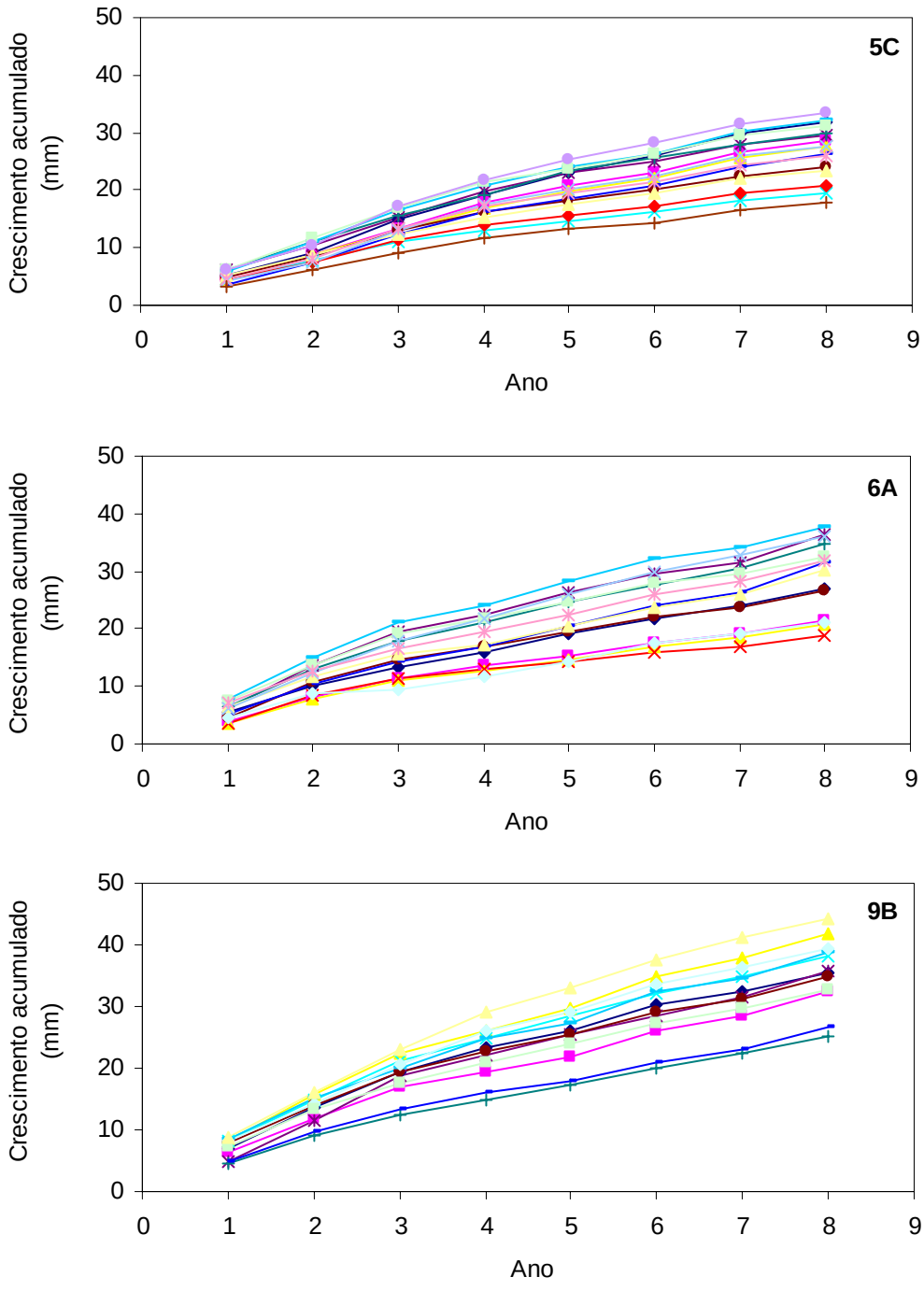
A Figura 1.18 mostra, a título exemplificativo, os crescimentos correntes anuais para as cortiças de 3 locais durante 8 anos de crescimento completo após a extracção de cortiça (locais 5C, 6A e 9B).

Figura 1.18. Crescimento corrente anual da cortiça para diferentes árvores de 3 herdades (5C, 6A, 9B) durante 8 anos de crescimento completo após o ano da extracção.



As curvas de crescimento acumulado apresentam, deste modo, um declive crescente e maior na sua primeira parte e um declive sensivelmente constante na sua parte final. Apresentam-se na Figura 1.19, como exemplos, as curvas de crescimento acumulada da cortiça para os três locais referidos.

Figura 1.19. Crescimento acumulado da cortiça para diferentes árvores de três loacis (5C, 6A, 9B) correspondendo a anos completos de crescimento após o ano de descortiçamento.



O crescimento num período de 8 anos completos foi, em média para todas as amostras, de 3,5 mm, variando os valores médios por local de 2,1 mm (local 12A) até 4,6 mm (local 11D) (Figura 1.20). O crescimento da cortiça nos primeiros 4 anos, ou seja, a meio ciclo, corresponde, em média, a 60% do total dos 8 anos de crescimento (Figura 1.20).

A variabilidade existente dentro do local de amostragem, resultante da diferença entre árvores, não é muito elevada e corresponde, em geral, a um coeficiente de variação da média de 6%.

Verifica-se haver uma diferença estatisticamente significativa entre o crescimento de 8 anos completos para os diferentes locais. O teste de comparação múltipla mostra que só há diferença entre os locais 7E, 11D, 8A, 9B com os locais 12A, 7B, 10A, 8B, 10B e 1A.

A comparação dos crescimentos médios (mm) nos 8 primeiros anos de crescimento para amostras que foram obtidas com diferentes ciclos de produção (idades de criação), como mostra a Figura 1.21, indica que o aumento do ciclo de produção de 9 para 10 anos, nos casos em que tal foi feito, não parece ter tido como base de justificação a existência de menores acréscimos médios da cortiça.

A distribuição geográfica para os crescimentos médios (mm) para os 8 anos de crescimento completo está indicada na Figura 1.22, agrupando os locais por grandes zonas do país: Interior Norte (locais 1A e 4A), Centro (locais 5A, 5B, 7A, 7B, 7C, 7E, 7F e 7G), Alentejo Norte (locais 8A, 8B, 8C, 8D), Alentejo Litoral (locais 6A, 6C, 9A, 9B, 11A, 11B, 11C, 11D e 11E), Alentejo Interior (locais 10A, 10B, 10C, 10D e 12 A) e Serra Algarvia (locais 13A e 14 A).

Apesar de algumas tendências, por exemplo, para maiores crescimentos no Alentejo Litoral e Centro e para menores crescimentos no Alentejo e Interior Norte, as diferenças entre zonas têm que ser encaradas com reserva dado o diferente número de herdades amostradas e os factores que nas diferentes herdades poderão afectar o crescimento (tratamentos culturais, uso da terra, idade das árvores, por exemplo) e que se podem sobrepor às influências edafoclimáticas. De referir que estes factores são de difícil controle e mesmo, muitas vezes, desconhecidos.

Uma maior intensidade de amostragem, aumentando o número de locais amostradas, contribuiria para reduzir a influência estatística deste factor e para um conhecimento mais exacto do crescimento da cortiça nas diferentes zonas do país.

Figura 1.20. Crescimento médio (mm) para 8 anos de crescimento completos após ano de extracção para cada um dos locais amostrados e % desse crescimento total que corresponde aos primeiros 4 anos (meio ciclo).

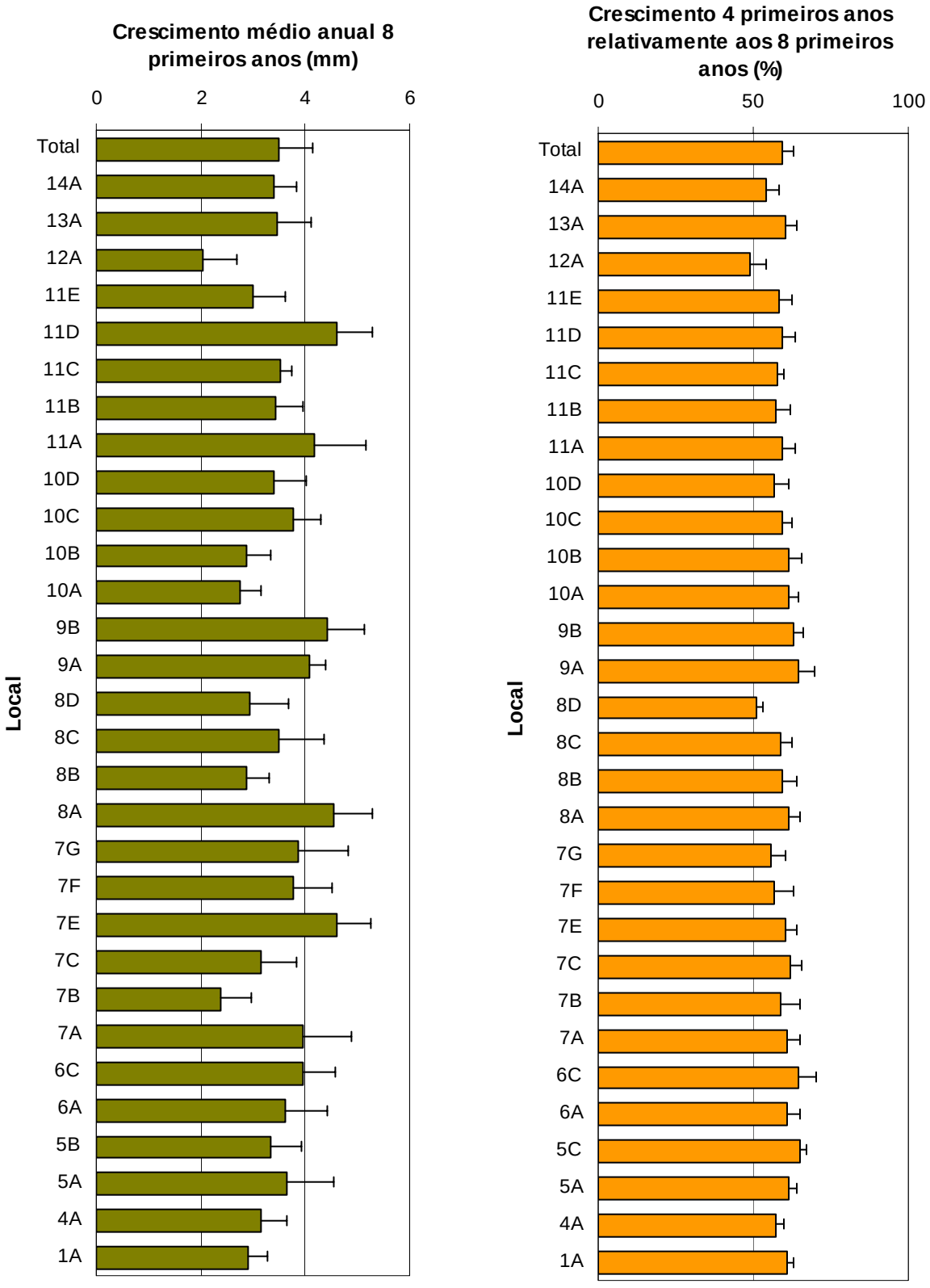


Figura 1.21. Crescimento médio (mm) nos 8 primeiros anos de crescimento completo após o ano de extracção, para cortiças com diferentes idades de criação. Média e desvio padrão, sendo o número de amostras de 144, 89, 27, 12, 9 e 2 respectivamente para 9, 10, 11, 13, 14 e 16 anos.

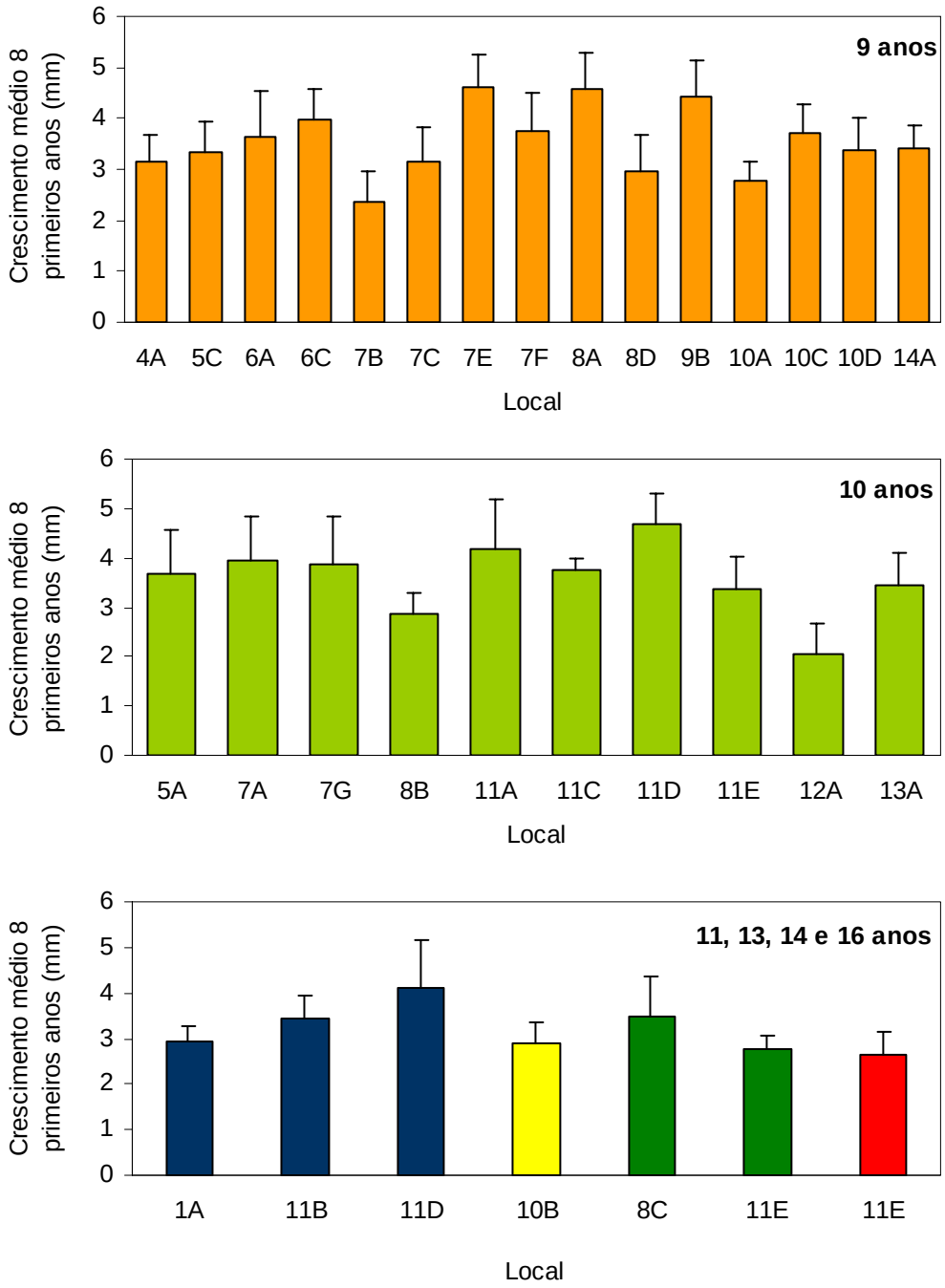
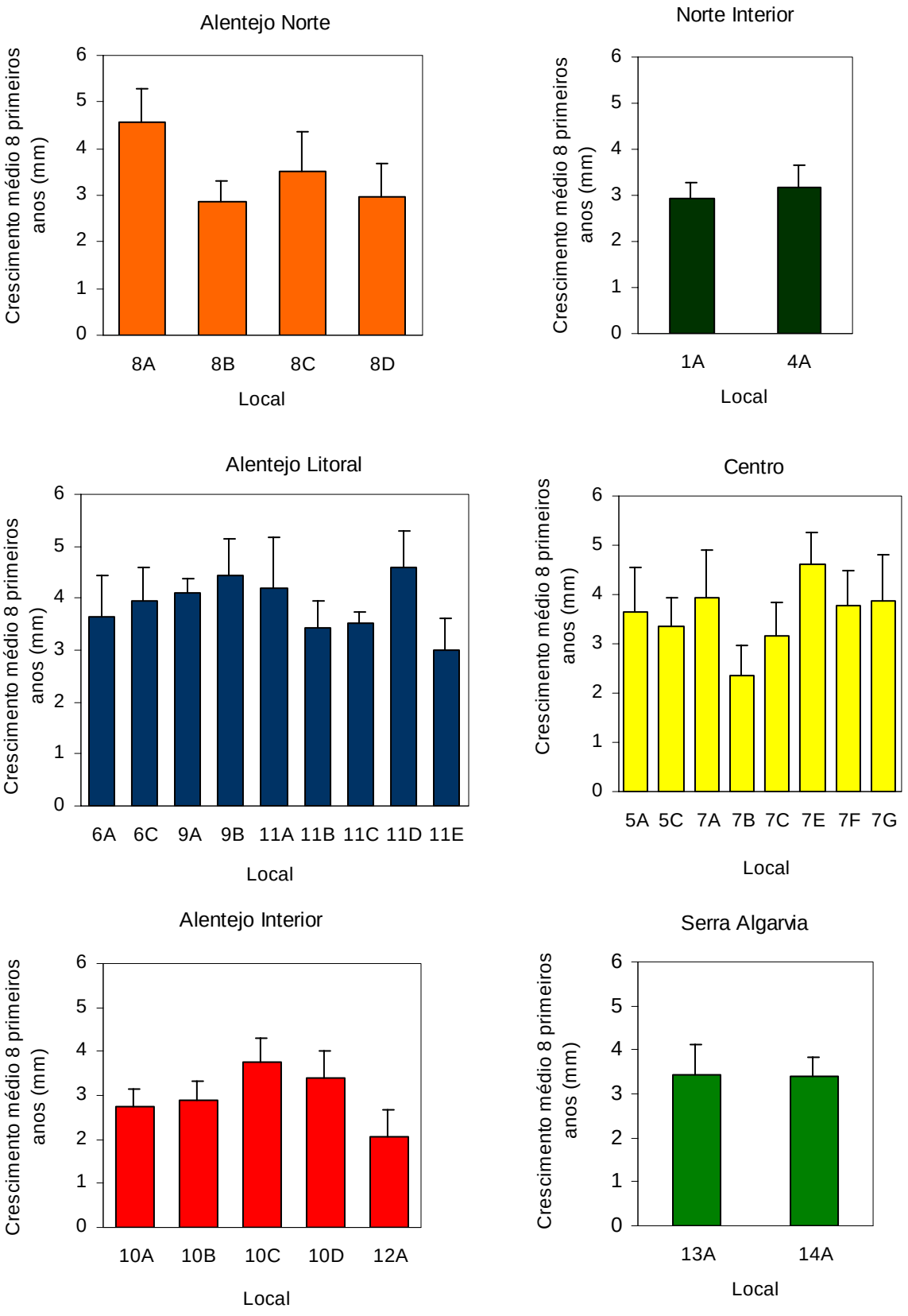


Figura 1.22. Crescimento médio (mm) dos 8 primeiros anos de crescimento completo após o ano da extracção para os diferentes locais agrupados por zonas do país.



1.7. Densidade bruta das pranchas de cortiça

A densidade bruta (kg/m^3) das amostras de cortiça foi determinada na cortiça cozida, seca ao ar (humidade média 7%), incluindo a costa. O volume foi determinado como um paralelipípedo com área de base medida por análise de imagem e sendo a altura o calibre médio previamente determinado.

A Figura 1.23 mostra os valores médios de densidade bruta da cortiça para cada local e para o total.

A densidade bruta média da cortiça foi de 251 kg/m^3, variando de um mínimo de 162 kg/m^3 (uma amostra no local 9B) até um máximo de 474 kg/m^3 (uma amostra no local 7B).

Em relação à densidade bruta média por local, verificou-se o valor mínimo de 196 kg/m^3 (local 9B) e o máximo de 307 kg/m^3 (local 7B).

A variação da densidade da cortiça entre árvores da mesma herdade não é muito elevada. Os coeficientes de variação da média são, em geral, baixos e de aproximadamente 10% e, em nenhum caso, ultrapassam 20%.

Verifica-se uma correlação significativa entre a densidade e o calibre da cortiça, correspondendo as menores densidades aos maiores calibres (Figura 1.24). A correlação da densidade e o crescimento de 8 anos completos da cortiça é também significativo, com as menores densidades a corresponder aos maiores crescimentos (Figura 1.25).

Faz-se notar mais uma vez que a idade das cortiças não é igual para todas as amostras, pelo que, em rigor, não devem ser comparadas as densidades de cortiças com diferentes idades. De facto, a relação entre a costa e a cortiça e o número dos anéis de crescimento não são uniformes nas amostras o que introduz factores de variação em relação à densidade.

Fazendo a correlação apenas considerando cortiças com a mesma idade, e apenas para os casos em que o número de amostras foi considerado significativo, o que correspondeu a 9 anos, 10 anos e 11 anos (Figura 1.26), verifica-se que a correlação melhora, mostrando tendência mais clara para que as cortiças com menos calibre possuam maior densidade bruta.

Figura 1.23. Densidade bruta da cortiça (kg/m^3) para os diferentes locais e para o total. Média de 20 árvores por local e respectivo desvio padrão.

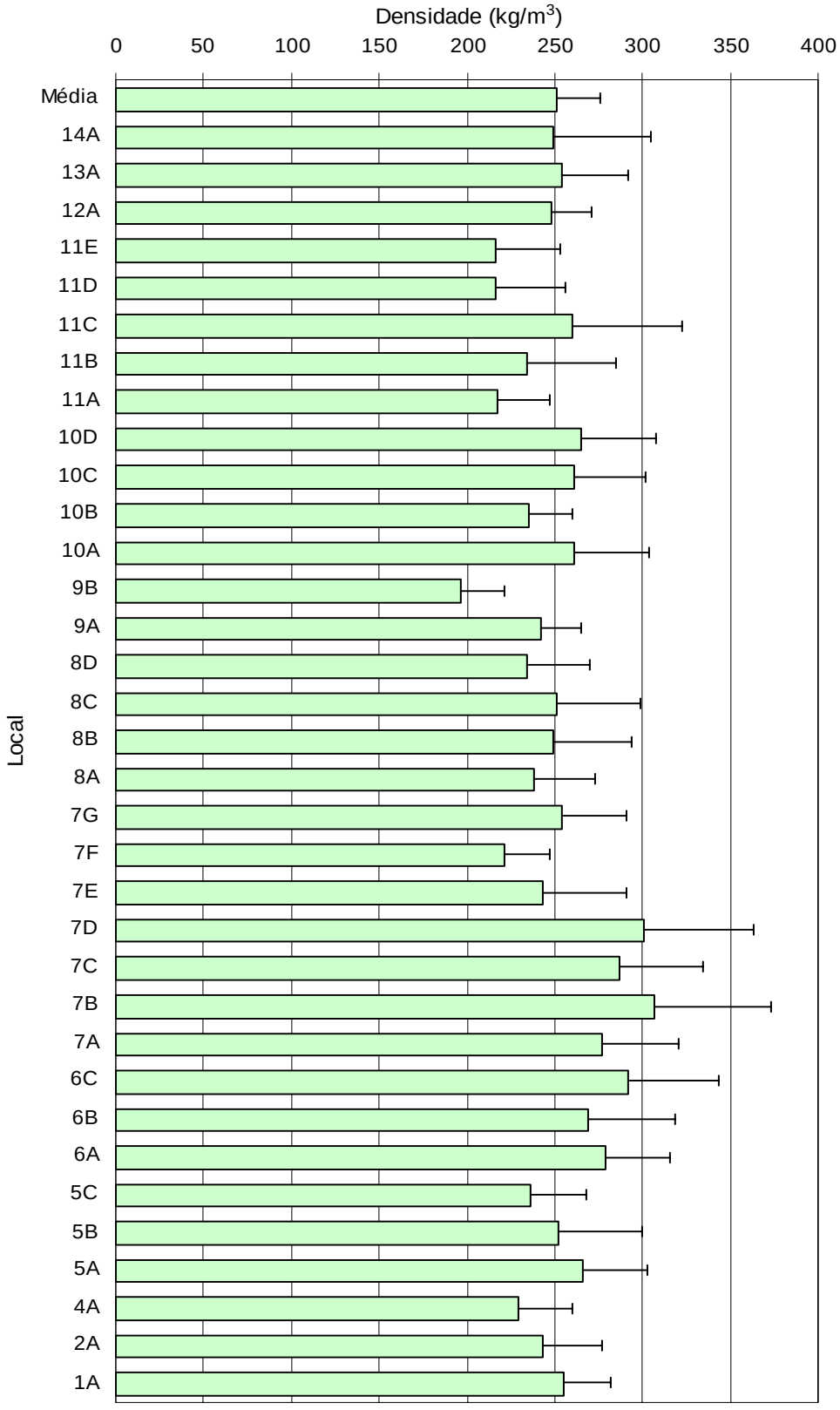


Figura 1.24. Densidade bruta da cortiça (kg/m^3) e calibre (mm) das cortiças, para o total de amostras analisadas. Número de amostras 680.

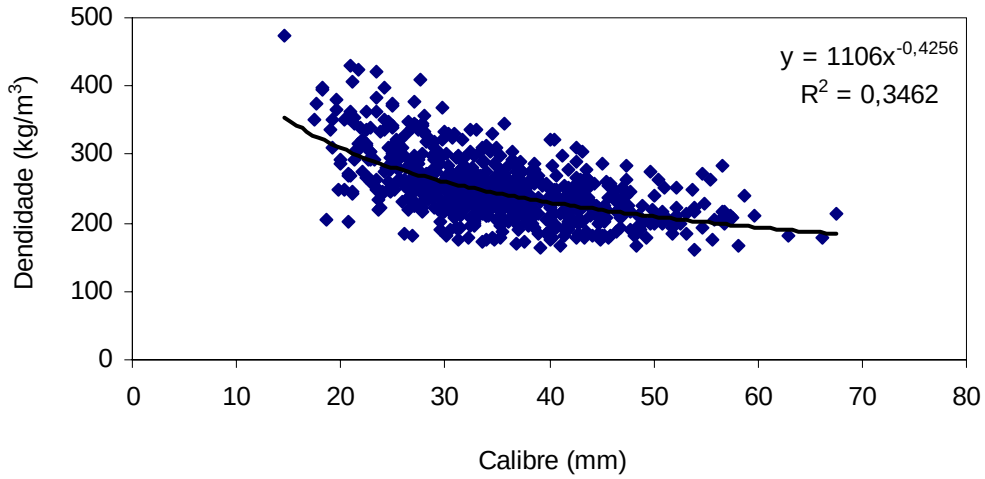


Figura 1.25. Densidade bruta da cortiça (kg/m^3) e crescimento durante 8 anos completos (mm) das cortiças, para o total de amostras analisadas. Número de amostras 283.

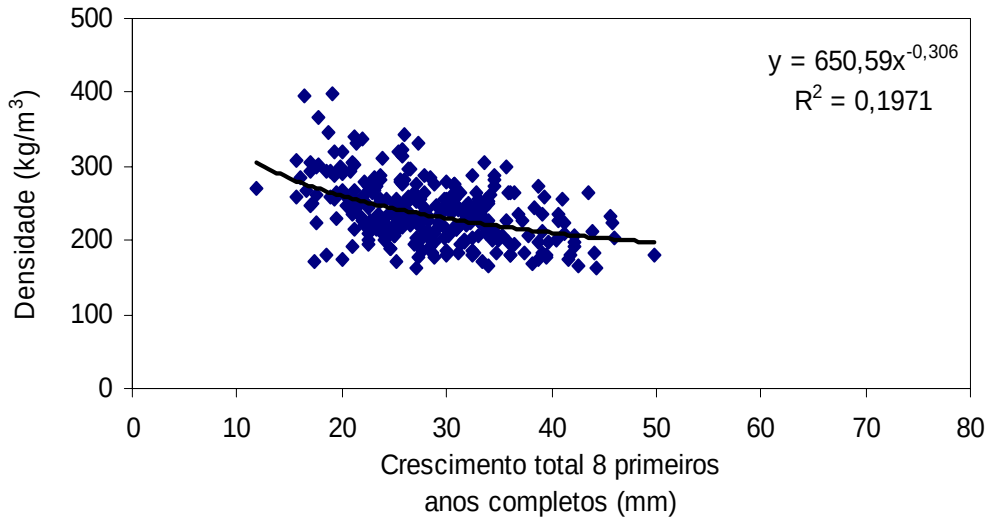
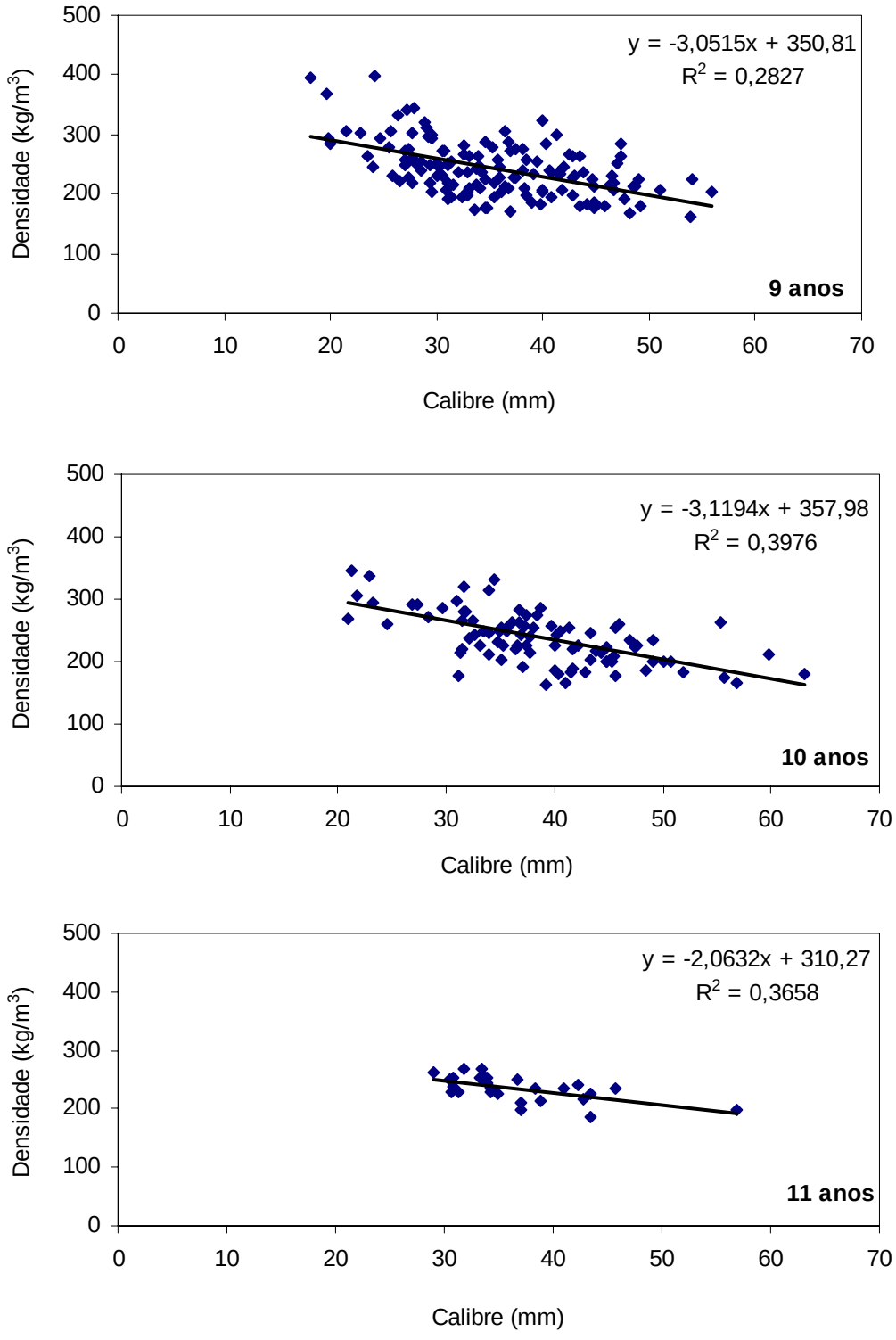


Figura 1.26. Densidade bruta da cortiça (kg/m^3) e calibre (mm) das cortiças com 9, 10 e 11 anos.



1.8. Produção de cortiça por unidade de área descortiçada

A produção de cortiça por unidade de área de descortiçamento (kg/m^2) foi calculada com base no peso das amostras de cortiça cozidas e secas ao ar (humidade média 7%) e na área de barriga correspondente, considerada como a respectiva área de descortiçada.

A Figura 1.27 mostra o valor médio desta produção (kg/m^2) por cada local e para o total. A média geral foi de 8,6 kg/m^2, com um valor mínimo de 3,8 kg/m^2 (uma amostra no local 12A) e um máximo de 15 kgm^2 (uma amostra no local 8C).

Em relação à média para os diferentes locais, a produção variou entre 7,0 kg/m^2 para o local 5C e 11,2 kg/m^2 para o local 8C. As diferenças entre árvores no mesmo local de amostragem são relativamente pequenas, com coeficientes de variação da média inferiores a 20 % em muitos casos.

Mas também para este parâmetro não é possível uma comparação directa entre os locais, dado haver diferença de idades de criação nas cortiças. Considerando apenas os casos das cortiças com a mesma idade, já é possível a comparação. Esta comparação foi feita para as cortiças com 9 anos, 10 anos e 11 anos (Figura 1.28)

Assim, para um ciclo de produção de 9 anos (15 locais no total) a produção de cortiça foi em média de 8,6 kg/m^2, com um mínimo de 6,5 kg/m^2 (local 7B) e um máximo de 10,5 kg/m^2 (local 10D). Para esta duração de ciclo de produção de cortiça a produtividade anual foi, portanto, em média de 0,96 kg/m^2.ano. A variabilidade entre árvores no mesmo local é, em geral de, 16 % da média.

Para um ciclo de produção de 10 anos (12 locais no total), a produção de cortiça foi em média de 8,7 kg/m^2, com um mínimo de 6,7 kg/m^2 (local 12A) e um máximo de 9,6 kg/m^2 (local 11A). Para esta duração do ciclo de produção de cortiça a produtividade anual foi, portanto, de 0,87 kg/m^2.ano. A variabilidade entre árvores do mesmo local foi semelhante ao caso anterior, com coeficiente de variação da média de 10%.

Para um ciclo de produção de 11 anos (4 locais no total), a produção de cortiça foi em média de 8,8 kg/m^2, com um mínimo de 8,2 kg/m^2 (local 1A) e um máximo de 9,3 kg/m^2 (local 11D). Para esta duração do ciclo de produção de cortiça a produtividade anual foi, portanto, de 0,80 kg/m^2.ano. A variabilidade entre árvores do mesmo local foi semelhante aos casos anteriores, com coeficiente de variação da média de 18%.

Verificou-se, portanto, em média para todos os casos estudados, uma diminuição da produção em peso da cortiça por área descortiçada e por ano com o número de anos do ciclo: 0,96 kg/m^2.ano para um ciclo de 9 anos, 0,87 kg/m^2.ano para um ciclo de 10 anos e 0,80 kg/m^2.ano para um ciclo de 11 anos.

Figura 1.27. Produção de cortiça por unidade de área descortiçada (kg/m^2) para os diferentes locais e total. Média de 20 amostras por local e desvio padrão.

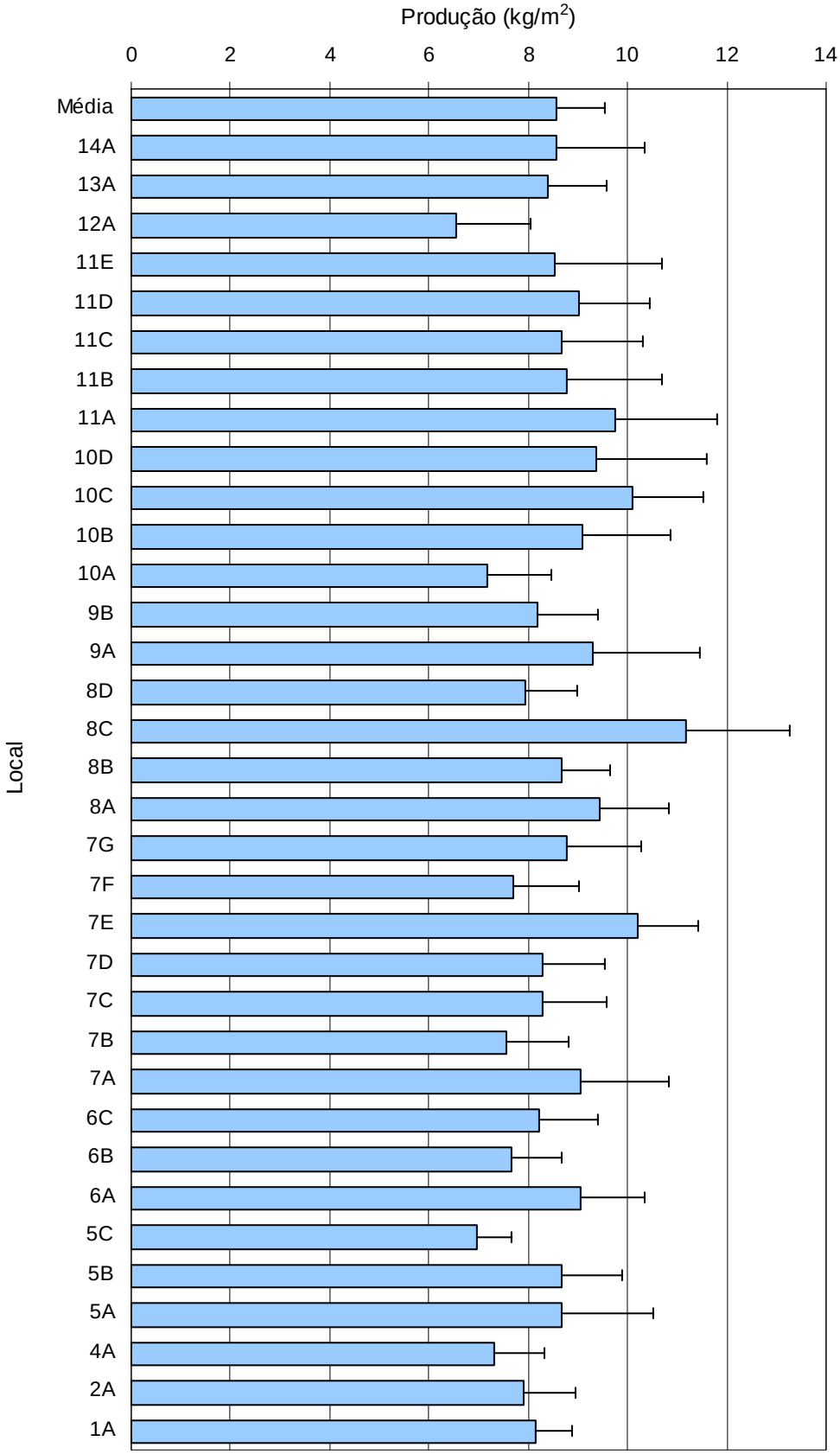
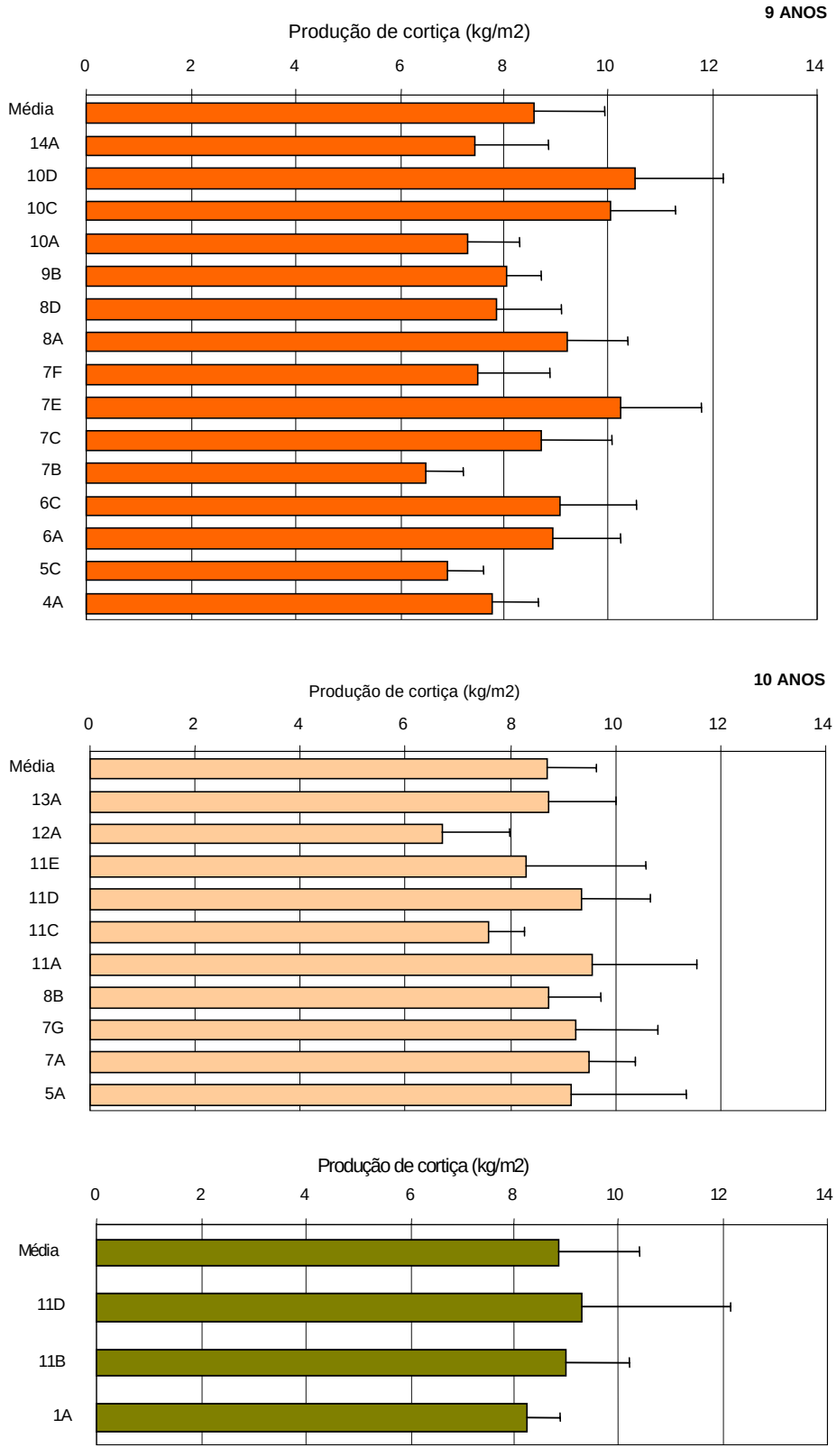


Figura 1.28. Produção de cortiça por unidade de área descortiçada (kg/m^2) para os locais com 9, 10 e 11 anos de idade de cortiça.



1.9. Composição química da cortiça

A composição química das cortiças foi determinada sobre as amostras incluindo apenas a massa de cortiça, após remoção da costa das pranchas. As amostras foram trituradas e para análise foi utilizada uma fracção granulométrica homogénea (40-60 mesh) obtida por crivagem do material moído.

A análise química incluiu a determinação dos componentes extractivos, da suberina e da lenhina. Os extractivos foram determinados por extracção sequencial com 3 solventes de polaridade crescente: diclorometano etanol e água. Os extractivos determinados com diclorometano correspondem a compostos não polares do tipo lipídico e ceroso. Os extractivos obtidos com etanol e água correspondem a compostos polares, constituidos principalmente por taninos e outros polifenois. A suberina total foi calculada após despolimerização do material livre de extractivos por metanólise e recuperação em solvente orgânico, correspondendo portanto aos componentes alifáticos. A lenhina foi determinada no material após dessuberinização por hidrólise total ácida, sendo aqui apresentada a lenhina insolúvel em ácido (klason). Todos os resultados apresentados correspondem à média de duas determinações por amostra.

Em cada local foram analisadas as cortiças de duas árvores, escolhidas aleatoriamente. As Figuras 1.29 e 1.30 mostram essa composição. Considerando a média total das amostras analisadas, a sua composição química, em % do peso inicial da amostra, foi de 15,9 % de extractivos, 41,2 % de suberina e 20,4 % de lenhina. Os extractivos correspondem a extractivos em diclorometano (5,8 %), em etanol (5,7 %) e em água (4,3 %), representando respectivamente 36,5 %, 35,9 % e 27,6 % do total dos extractivos.

Verifica-se um intervalo de variação grande para a composição química destas 68 amostras de cortiça analisadas. Assim, os extractivos totais variaram entre um valor mínimo de 10,7% (cortiça 10B15) até um máximo de 29,7% (cortiça 8C5). O teor de suberina variou de 22,1% (cortiça 6C5) a 51,7% (cortiça 11D15) e a lenhina de 15,6% (cortiça 6C15) a 27,6% (5B15).

No entanto, a distribuição dos valores faz-se mais perto dos valores médios pelo que os coeficientes de variação da média não são muito elevados em comparação com a variabilidade existente em outros parâmetros caracterizadores da cortiça: 23% para os extractivos totais, 15% para a suberina e 12% para a lenhina. Os maiores coeficientes de variação da média foram encontrados para os extractivos, não só para o seu total, como também, e principalmente, para os extractivos solubilizados com os diferentes solventes. De referir que a variabilidade encontrada se deve tanto à diferença entre cortiças obtidas num mesmo local como entre locais.

Figura 1.29. Composição química (extractivos, suberina, lenhina) da cortiça de duas árvores em cada um dos locais amostrados e respectiva média geral e desvio padrão, em % do material seco

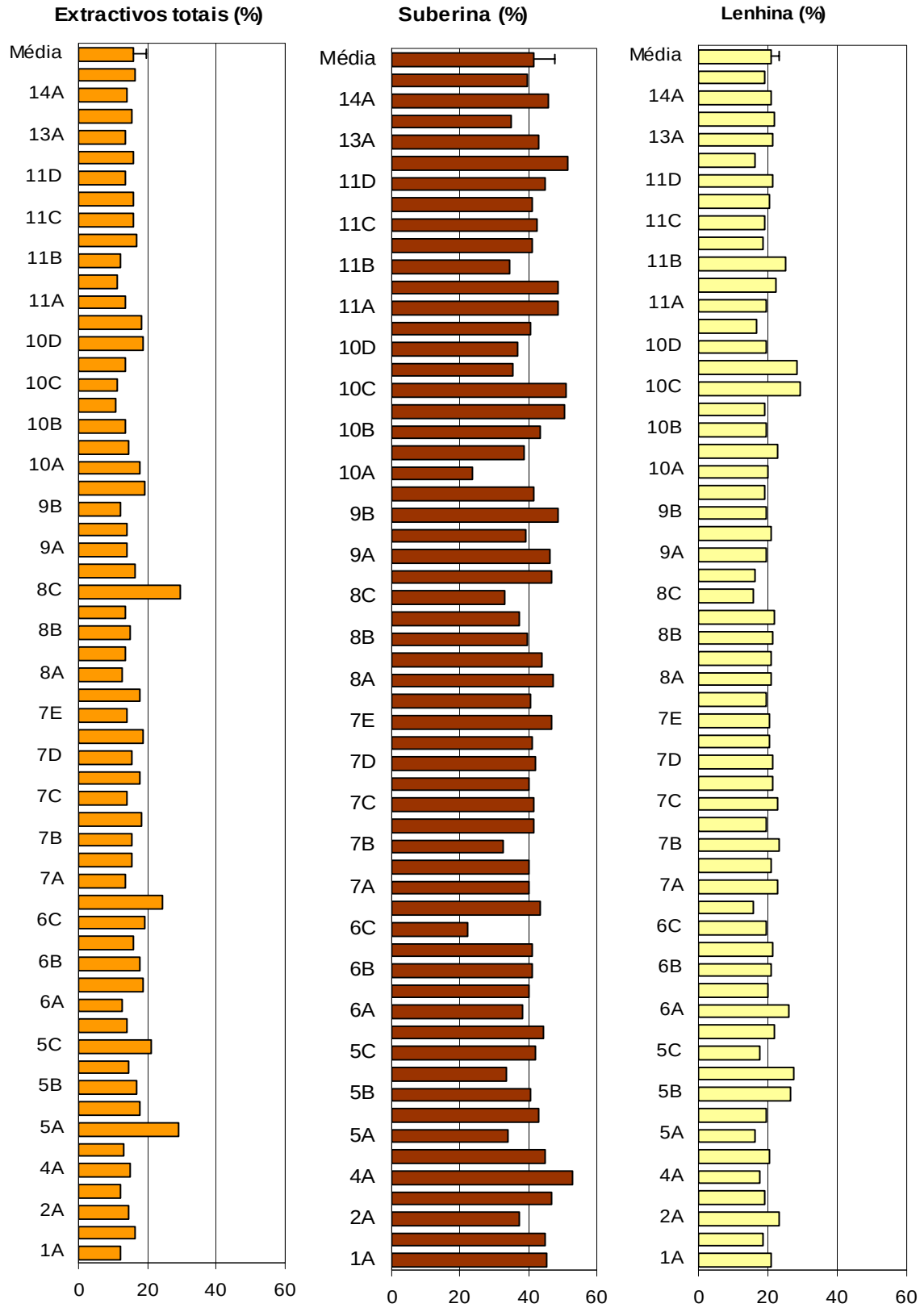
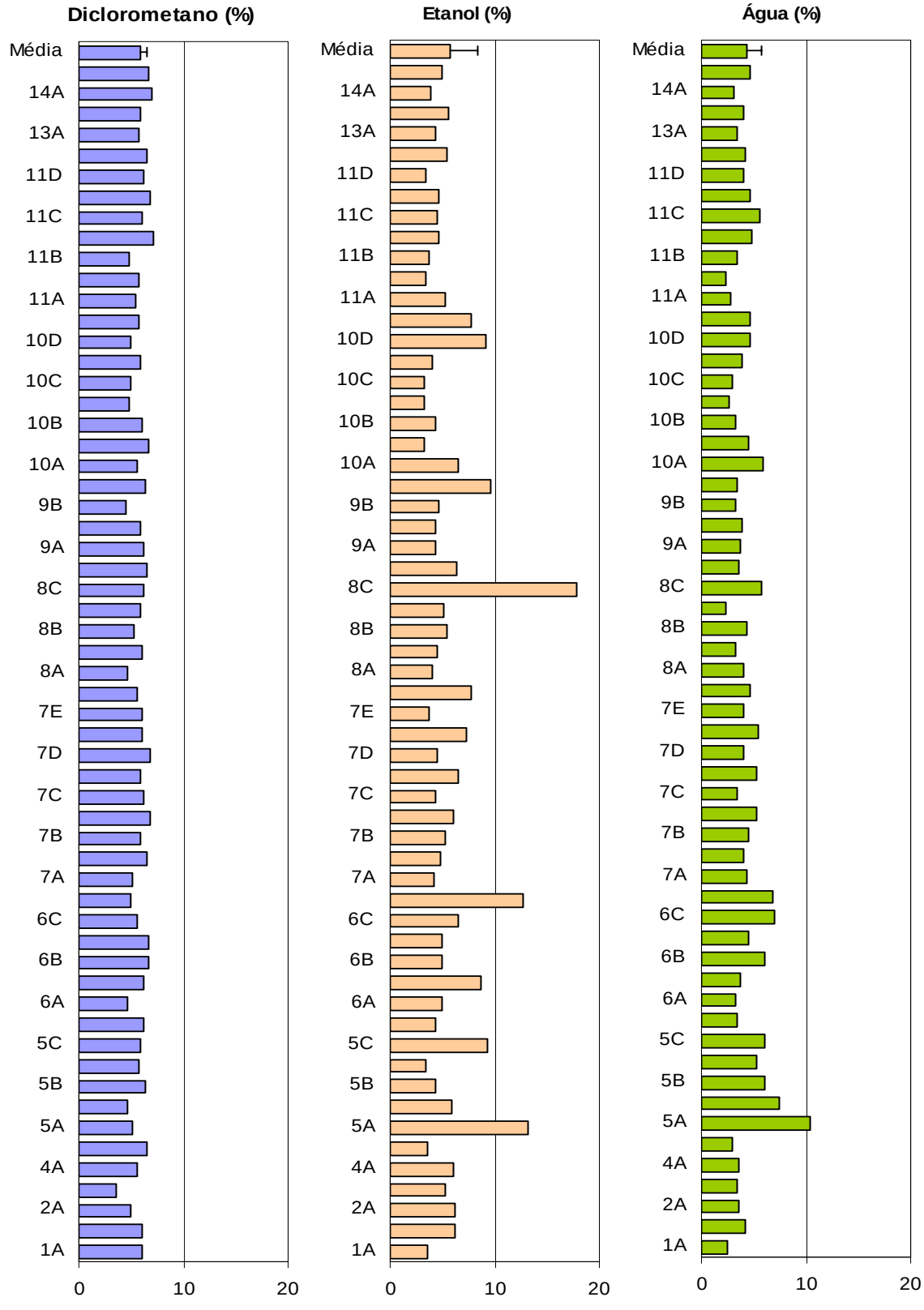


Figura 1.30. Extractivos retirados da cortiça com diclorometano, etanol e água para a cortiça de duas árvores em cada um dos locais amostrados e respectiva média geral e desvio padrão, em % do material seco.



A variabilidade entre as cortiças das árvores dentro do mesmo local foram analisadas de um modo mais detalhado para os locais de amostragem 5A e 8C, onde foi determinada a composição química para a totalidade das cortiças recolhidas, ou seja, 20 amostras de cortiça por cada local. Os respectivos resultados médios apresentam-se no Quadro 1.11 e a representação dos valores individuais está feita nas Figuras 1.31 e 1.32.

Verifica-se que a composição média para cada local é semelhante à determinada anteriormente para todos os locais de amostragem. No entanto a variabilidade encontrada nas cortiças aumentou ligeiramente. Assim, por exemplo, os coeficientes de variação da média são mais elevados para os extractivos (24% e 33%) e menores para a suberina (9% e 17%) e lenhina (13%).

A distribuição dos valores individuais para a composição química da cortiça das 20 árvores (Figuras 1.31. e 1.32) mostra claramente que a variação encontrada entre árvores é grande e que se sobrepõe a um efeito de local. É de referir que a maior variabilidade se encontra no grupo dos compostos não estruturais da cortiça, os extractivos.

Quadro 1.11. Composição química da cortiça (extractivos, suberina e lenhina) de 20 árvores em dois locais de amostragem (5A e 8C), em % de material seco

	Extractivos				Suberina	Lenhina
	Diclorometh.	Etanol	Água	Totais		
Local 5A						
Média	5,73	5,59	5,38	16,70	42,12	20,77
Desvio padrão	0,73	2,57	2,26	4,04	3,79	2,69
Coeficiente de variação	12,7	50,0	42,0	24,2	9,0	13,0
Máximo	7,39	13,24	11,19	28,86	48,84	26,59
Mínimo	4,67	2,48	2,97	12,27	33,86	16,10
Local 8C						
Média	5,80	7,68	4,26	17,73	38,35	n.d.
Desvio padrão	0,84	4,85	1,76	5,77	6,57	n.d.
Coeficiente de variação	14,5	63,2	41,3	32,5	17,1	n.d.
Máximo	6,70	22,03	8,47	32,89	46,85	n.d.
Mínimo	2,64	1,69	0,95	8,58	22,95	n.d.

Figura 1.31. Composição química (extractivos totais, suberina e lenhina) da cortiça de 20 árvores em dois locais amostrados (5A a azul claro, 8C a azul escuro), em % do material seco.

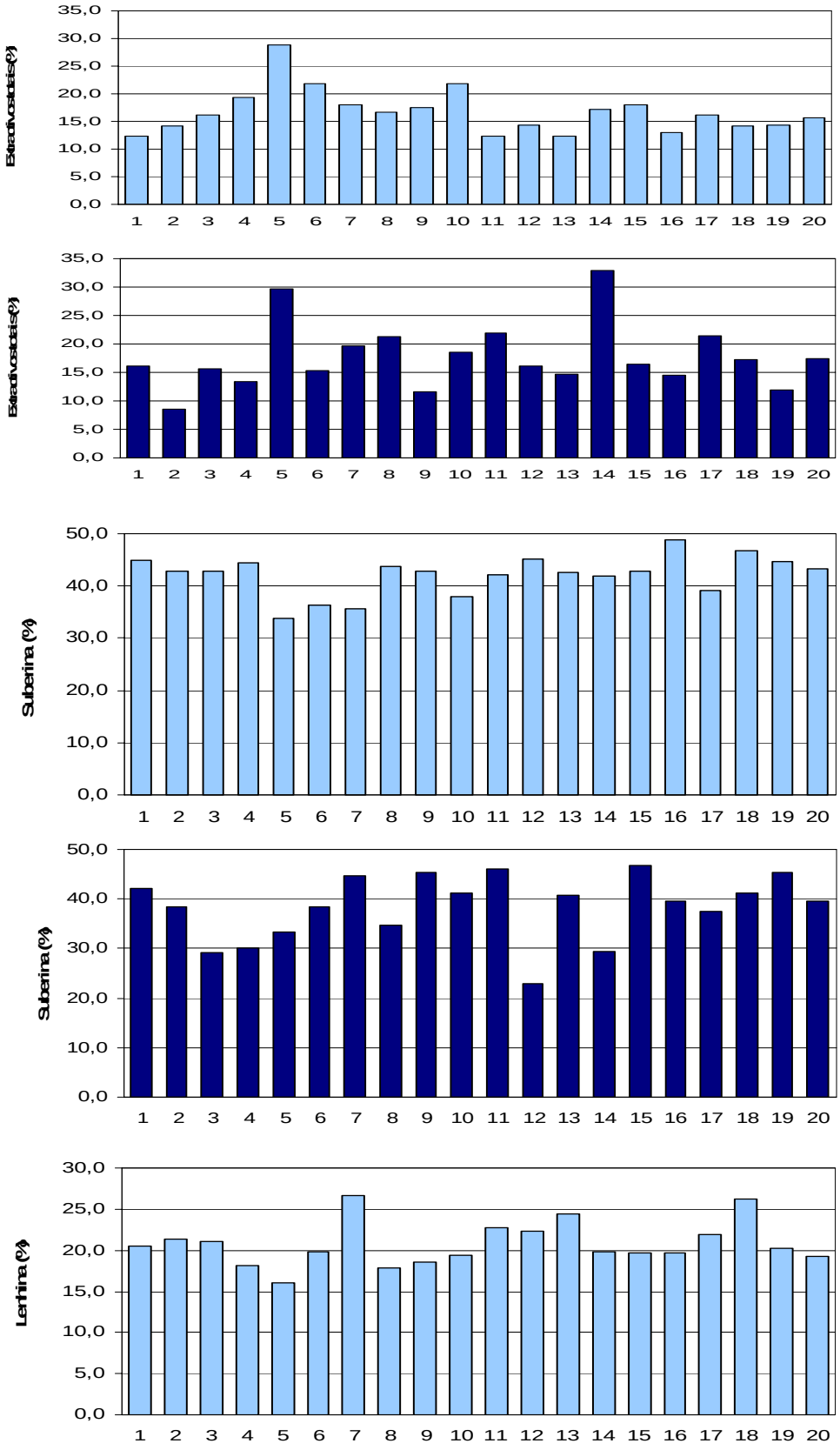
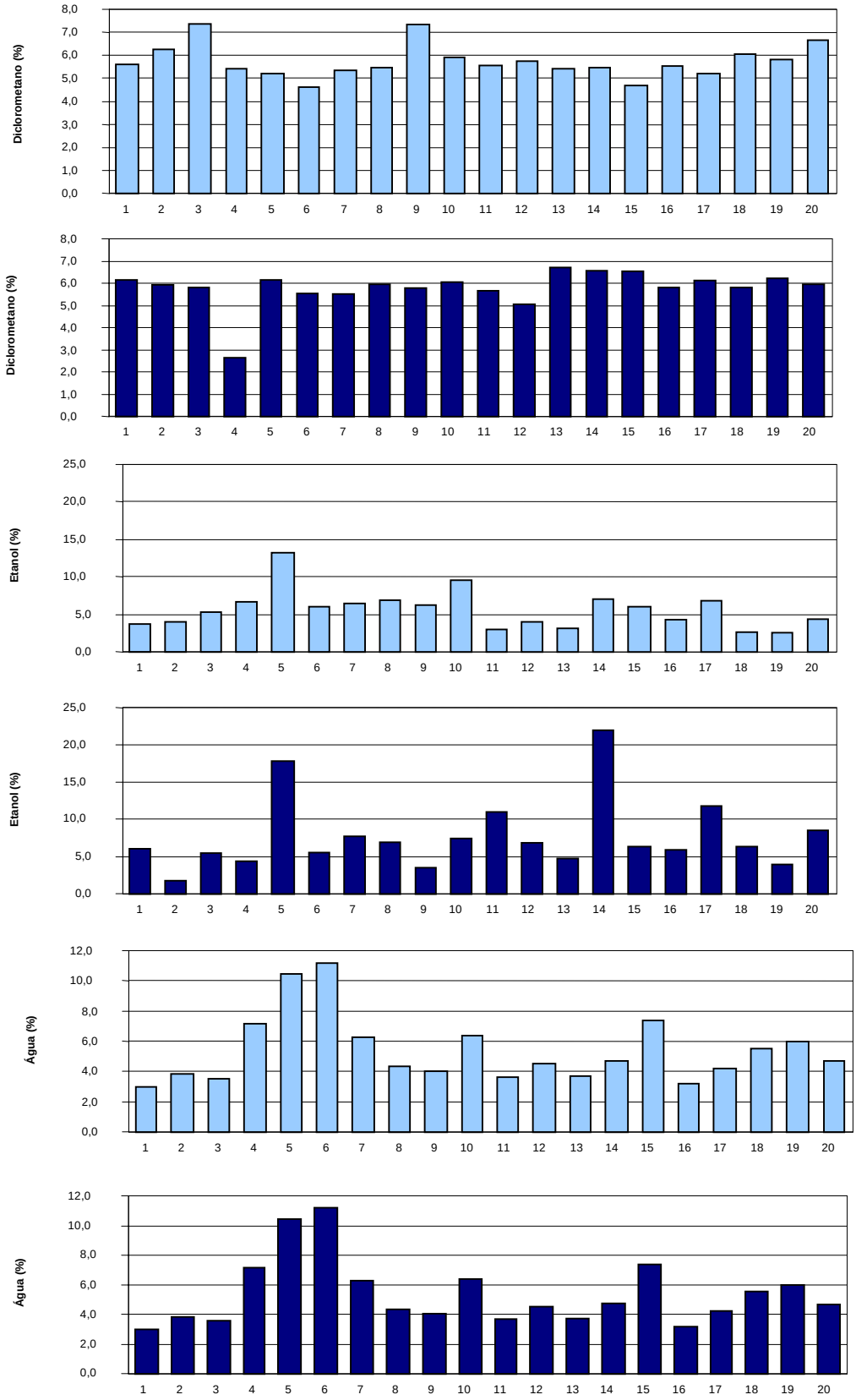


Figura 1.32. Extractivos retirados da cortiça com diclorometano, etanol e água da cortiça de 20 árvores em dois locais amostrados (5A a azul claro, 8C a azul escuro), em % do material seco.



1.10. Comportamento mecânico em compressão

O comportamento em compressão foi estudado em cubos de cortiça cortados das pranchas de cortiça de modo a não conterem a zona da barriga nem da costa. Os ensaios foram portanto efectuados com cortiça cozida e seca ao ar (humidade média 7%). As dimensões dos cubos eram, em média, 18 x 18 x 18 cm^3,

Os cubos foram comprimidos segundo a direcção radial e segundo uma direcção não radial numa máquina universal de ensaios mecânicos até uma carga final de 5 000 N. Foram ensaiados 3 cubos para cada caso, sendo o resultado apresentado a média dos resultados para os 3 ensaios.

A curva de compressão foi traçada para cada caso como a pressão aplicada (tensão σ, N/mm^2) em função da deformação do cubo de cortiça (extensão, ε, % de redução de dimensão em relação à dimensão inicial). A Figura 1.33 mostra um exemplo de duas curvas de compressão, uma correspondendo à compressão na direcção radial e a outra à compressão na direcção não radial. Nestas curvas, a primeira parte até deformações de aproximadamente 4%, corresponde à deformação elástica da cortiça e é caracterizada pelo respectivo módulo de Young (E, N/mm^2), que foi calculado para cada caso. Determinou-se também a deformação atingida quando se aplicou a carga máxima (ε_{max}, %), assim como a energia total consumida com esta deformação (M, J/cm^3).

Determinou-se também a carga necessária (N/mm^2) para obter deformações de 20% e 30% ($\sigma_{20\%}$ e $\sigma_{30\%}$) que se situam na zona da deformação na utilização da cortiça para rolha, nomeadamente na deformação dentro da garrafa e no aperto nas maxilas de engarrafamento.

Os resultados da compressão permitem, nomeadamente, estimar o comportamento das rolhas obtidas das diferentes pranchas de cortiça e estudar a sua variabilidade.

A Figura 1.34 mostra o módulo de Young (E, N/mm^2) para a compressão na direcção radial e na direcção não radial como média para as cortiças dos diferentes locais ensaiados e os respectivos desvios padrão.

O módulo de Young médio para todos os ensaios realizados foi para a compressão na direcção radial de 10,40 N/mm^2 e para a direcção não radial de 9,29 N/mm^2. Para os 10 locais ensaiados, o valor do módulo de Young variou na direcção radial de 9,34 N/mm^2 (local 5C) até 12,26 N/mm^2 (local 7C) e na direcção não radial de 7,99 N/mm^2 (local 5C) a 10,52 N/mm^2 (local 7C).

Figura 1.33. Curvas de compressão de cubos de cortiça mostrando a pressão aplicada (tensão σ, N/mm^2) em função da deformação do cubo segundo a direcção da compressão (extensão, ε, % de redução de dimensão em relação à inicial), para a compressão na direcção radial (….) e não radial (——)

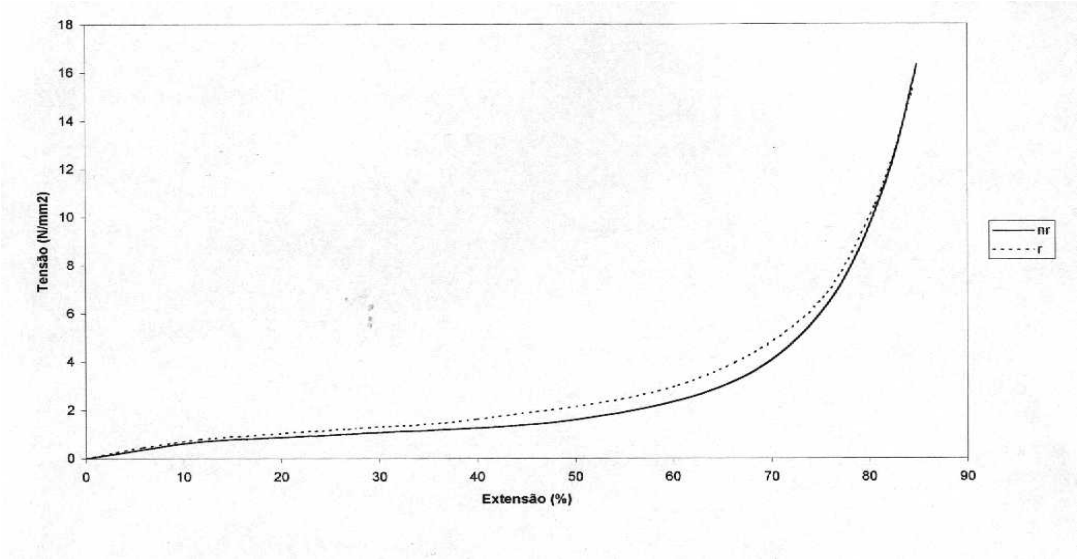
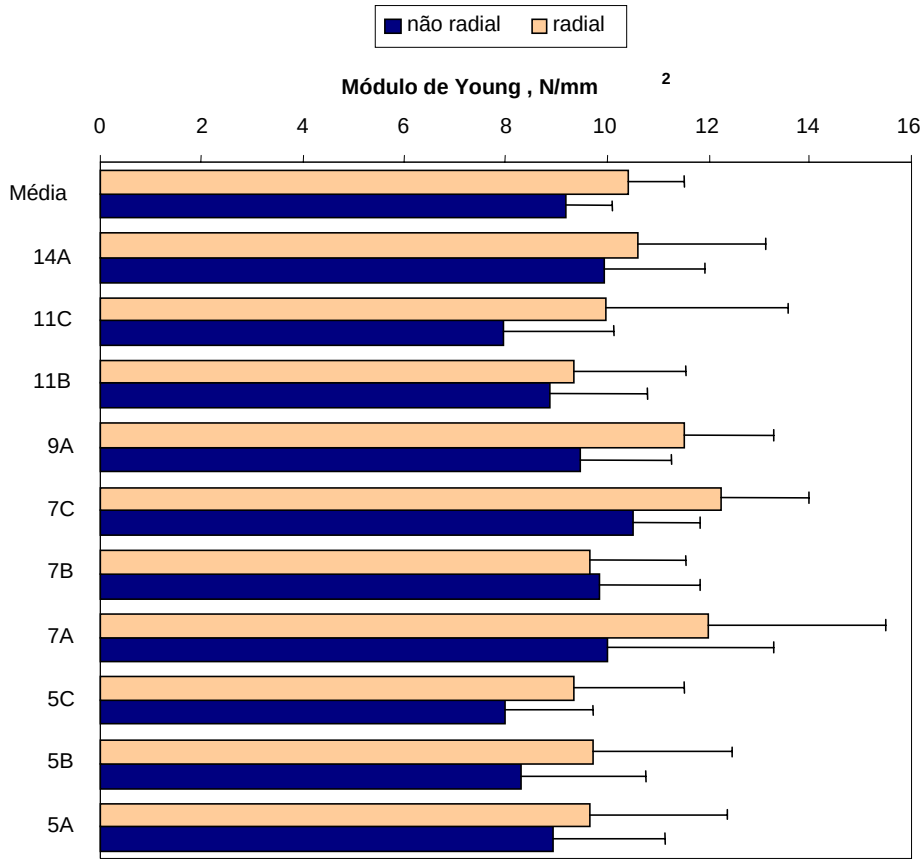


Figura 1.34. Valores médios e respectivos desvios padrão para o módulo de Young (E, N/mm^2) para a compressão na direcção radial e na direcção não radial das cortiças dos locais ensaiados.



Verifica-se que existe uma variabilidade do módulo de Young entre as cortiças das árvores do mesmo local. Os coeficientes de variação da média são, em geral, superiores a 20%.

Entre os locais, verifica-se existir diferenças significativas entre os módulos de Young em compressão radial e não radial para os seguintes locais: 7C em relação a 5C, 11C e 5B (não radial) e 7C em relação a 11B, 5C e 5A (radial).

O Quadro 1.12 apresenta os valores médios e respectivos desvios padrão para a deformação máxima atingida para a carga máxima aplicada (ε_{max}, %) e a energia necessária para a deformação (M, J/cm^3) para as cortiças dos locais ensaiados.

Em média para todos os ensaios realizados, a energia necessária para a compressão na direcção radial foi de 2,37 J/cm^3 e na direcção não radial de 2,19 J/cm^3, variando entre 2,08 J/cm^3 (local 11B) e 3,01 J/cm^3 (local 5A) para a direcção radial e entre 1,82 J/cm^3 (local 9A) a 2,82 J/cm^3 (local 5A). para a direcção não radial. A deformação máxima foi em média de 83,4 % e 83,9 %, respectivamente para a direcção radial e não radial, com os valores mínimo e máximo de 81,8 % (local 5A) e 87,7% (local 5C) para a direcção radial e 82,6% (local 5A) e 88,0% (local 5C) para a direcção não radial.

Quadro 1.12. Valores médios e respectivos desvios padrão para a deformação máxima atingida para a carga máxima aplicada (ε_{max}, %) e a energia necessária para a deformação (M, J/cm^3) para a compressão na direcção radial e na direcção não radial das cortiças dos locais ensaiados

Local	M, J/cm^3		ε_{max}, %	
	Radial	Não radial	Radial	Não radial
5A	3,01 (2,23)	2,89 (2,22)	81,82 (3,25)	82,55 (2,95)
5B	2,19 (0,59)	2,04 (0,75)	83,52 (3,53)	83,47 (4,99)
5C	2,24 (0,23)	2,02 (0,31)	87,71 (2,58)	87,96 (2,49)
7A	2,43 (0,73)	2,18 (0,66)	82,77 (4,07)	83,42 (3,30)
7B	2,74 (1,09)	2,76 (1,40)	83,64 (3,32)	83,94 (3,15)
7C	2,44 (0,54)	2,28 (0,69)	81,83 (3,74)	83,24 (3,11)
9A	2,03 (0,25)	1,82 (0,23)	82,24 (2,97)	82,20 (2,83)
11B	2,08 (0,33)	1,84 (0,34)	84,92 (2,30)	85,66 (2,18)
11C	2,32 (1,07)	2,03 (1,08)	83,89 (3,38)	83,74 (3,49)
14A	2,28 (1,05)	2,07 (0,68)	81,82 (3,99)	87,06 (2,49)
Média	3,37 (0,30)	2,19 (0,36)	83,42 (1,84)	83,86 (1,74)

A variabilidade entre as cortiças do mesmo local é pequena para o caso da deformação máxima atingida, para a qual os coeficientes de variação da média se situam abaixo de 5%. Para o caso da energia dispendida, a variabilidade foi maior e, em alguns casos, os coeficientes de variação da média atingiram 50%.

Em relação à carga necessária (N/mm^2) para obter deformações de 20% e 30% ($\sigma_{20\%}$ e $\sigma_{30\%}$) foram feitos os cálculos para as cortiças das 20 árvores dos locais 5A, 5B e 5C. Os resultados apresentam-se no Quadro 1.13. Verifica-se que a variabilidade entre cortiças produzidas no mesmo local é elevada, existindo também diferenças entre locais. As cargas necessárias para a deformação nas direcções não radiais são superiores às necessárias para a deformação radial, respectivamente de um factor 1,15 para ambas as deformações de 20% e 30%.

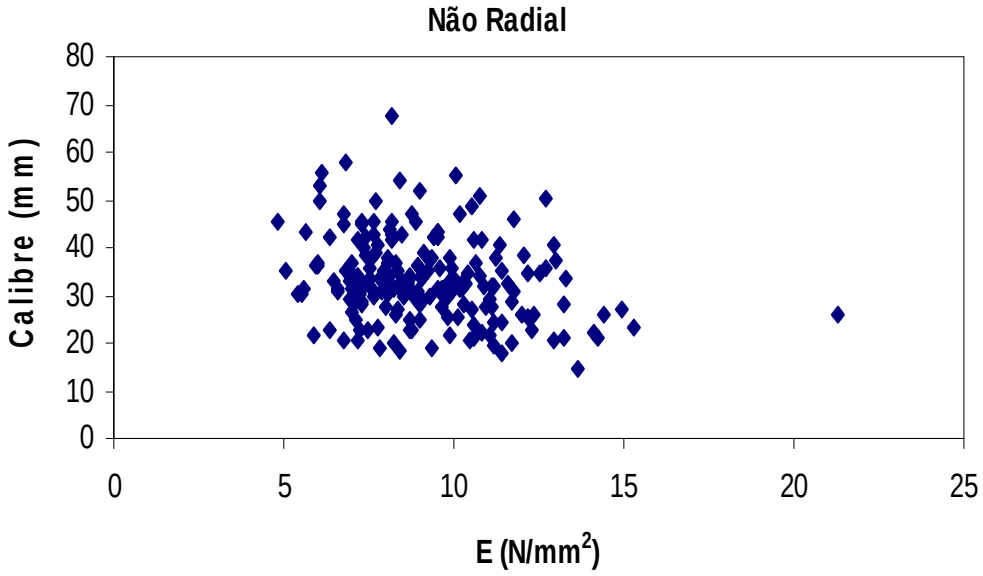
Quadro 1.13. Valores médios e respectivos desvios padrão para à carga necessária (N/mm^2) para obter deformações de 20% e 30% ($\sigma_{20\%}$ e $\sigma_{30\%}$) para a compressão na direcção radial e na direcção não radial das cortiças dos locais ensaiados (5A, 5B e 5C)

Local	$\sigma_{20\%}$ (N/mm^2)		$\sigma_{30\%}$ (N/mm^2)	
	Radial	Não radial	Radial	Não radial
5A	1,16 (0,31)	1,03 (0,29)	1,47 (0.42)	1,24 (0,36)
5B	1,01 (0,41)	0,86 (0,25)	1,29 (0,48)	1,07 (0,34)
5C	0,87 (0,18)	0,79 (0,15)	0,87 (0,20)	0,88 (0,24)
Média	1,01 (0,33)	0,88 (0,26)	1,21 (0,41)	1,05 (0,35)

O comportamento elástico da cortiça, medido pelo seu módulo de Young não se mostrou influenciado pelo calibre das pranchas de onde foram retirados os cubos para ensaio, como se vê pela dispersão dos pontos da Figura 1.35. Pode apenas notar-se para o caso da compressão em direcção não radial uma pequena tendência para maiores valores de módulo de Young para menores calibres.

Analisando a influência da densidade bruta das pranchas no módulo de Young, verifica-se de novo uma grande dispersão de pontos na respectiva representação gráfica (Figura 1.36) apesar de ser visível uma tendência para o aumento dos valores de módulo de Young com a densidade das pranchas tanto para a compressão na direcção radial como na direcção não radial, embora mais acentuada para o caso da compressão na direcção não radial.

Figura 1.35. Variação do módulo de Young (E, N/mm^2) com o calibre das pranchas para a compressão na direcção radial e na direcção não radial das cortiças dos locais ensaiados.



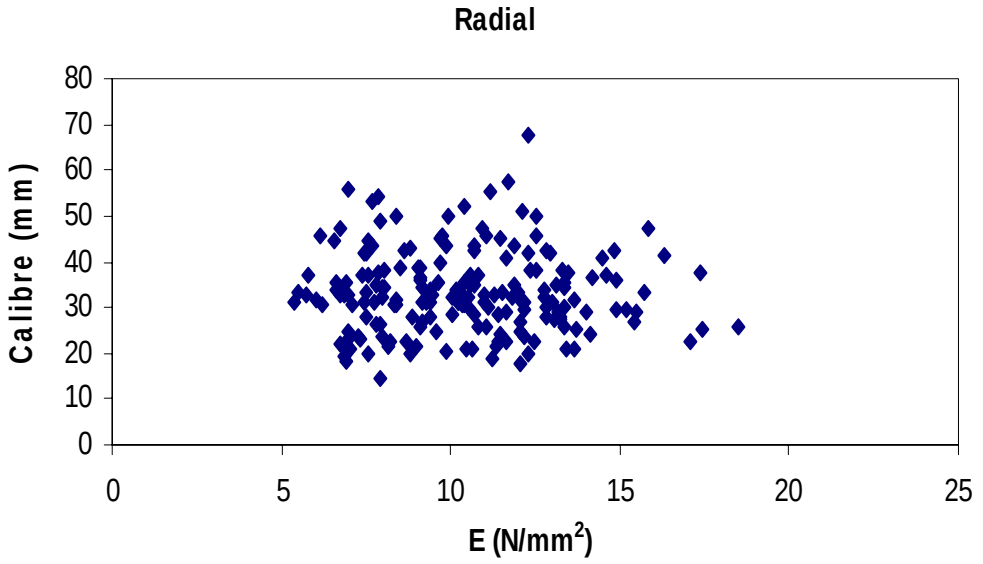
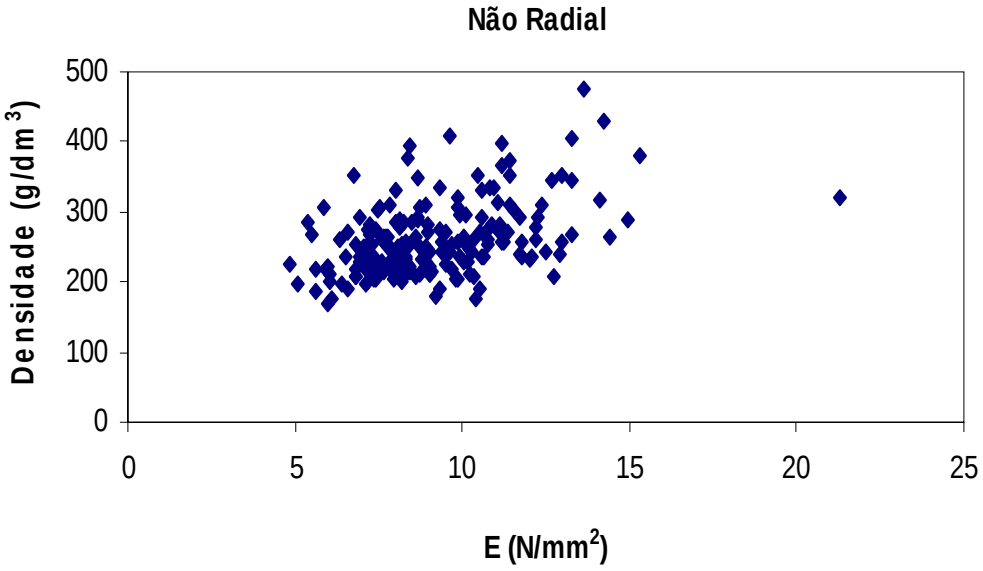
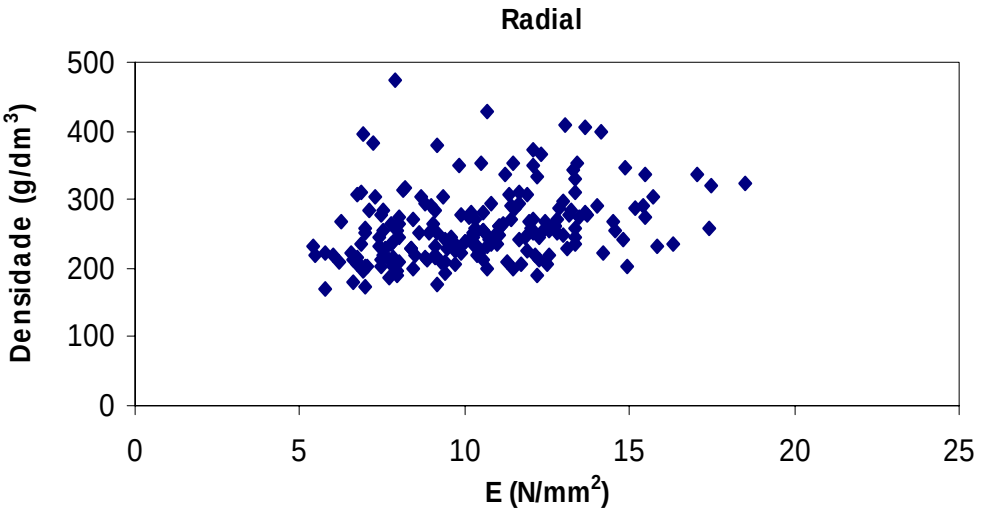


Figura 1.36. Variação do módulo de Young (E, N/mm^2) com a densidade das pranchas para a compressão na direcção radial e na direcção não radial das cortiças dos locais ensaiados.





1.11. Ficha de caracterização da cortiça

De modo a permitir compilar a informação relevante que caracteriza uma cortiça do ponto de vista da sua qualidade tecnológica, elaborou-se uma ficha caracterizadora que inclui todos os parâmetros relevantes para a sua identificação, localização da herdade, características da árvore e do descortiçamento, assim como todas as propriedades medidas na amostra de cortiça.

A ficha caracterizadora da amostra de cortiça inclui os seguintes campos informativos:

0. Identificação da amostra

1. Localização da herdade

2. Caracterização da árvore e da produção

    - perímetro a 1,3 m de altura (PAP)
    - tipo de descortiçamento
    - coeficiente de descortiçamento
    - idade da cortiça
    - produção por unidade de área descortiçada

3. Caracterização da cortiça

    - espessura em cru
    - calibre
    - classe de calibre comercial
    - expansão com a cozedura
    - porosidade
    - classificação comercial de qualidade
    - densidade
    - curvas de crescimento
    - crescimento médio anual com 8 anos
    - composição química
    - comportamento em compressão

Para o conjunto das amostras de cortiça recolhidas em cada ponto de amostragem (herdade) fez-se uma ficha caracterizadora geral, que inclui a média ou a distribuição dos valores dos diferentes parâmetros medidos nas cortiças produzidas. Esta ficha pode ser utilizada como caracterizadora da produção e da qualidade tecnológica da produção para o respectivo local de amostragem (herdade).

A ficha caracterizadora de um local de amostragem inclui a seguinte informação:

0. Identificação da herdade e ano de amostragem

1. Localização e caracterização da herdade

- localização (lugar, concelho, zona de produção suberícola)
- condições edafoclimáticas (precipitação, temperatura e solo)

2. Caracterização das árvores e descortiçamento

- distribuição dos perímetros a 1,3 m de altura (PAP)
- tipo de descortiçamento
- coeficiente de descortiçamento
- idade da cortiça
- produção por unidade de área descortiçada

3. Caracterização média das cortiças

- espessura em cru
- calibre
- expansão com a cozedura
- distribuição por classes de calibres
- porosidade
- distribuição por classes comerciais de qualidade
- densidade bruta
- crescimento médio anual 8 anos
- composição química
- comportamento em compressão

Apresentam-se seguidamente um exemplo para uma das amostras da cortiça e um exemplo para um dos pontos de amostragem.

Estas fichas, para além da caracterização completa que oferecem, permitem ao produtor avaliar a qualidade tecnológica da sua produção e, portanto, do seu valor como matéria-prima para a indústria.

Para este caso serão particularmente interessantes os seguintes parâmetros:

- o calibre, a porosidade e a classificação comercial, para o estabelecimento da qualidade tecnológica que é utilizada na comercialização
- o crescimento médio anual em 8 anos, como instrumento de gestão para optimizar os ciclos de produção
- a produção por unidade de área descortiçada para prever a produção, em peso da cortiça

2. Desenvolvimento de metodologias para a análise de qualidade

2.1. Introdução

A classificação qualitativa da cortiça é uma das operações importantes de todo o seu processo de transformação industrial. De facto, existe uma relação directa da qualidade da cortiça com a qualidade dos produtos que vai originar assim como com o seu desempenho em uso. Por consequência, o valor comercial tanto da cortiça, enquanto matéria prima, como dos produtos corticeiros é determinado pela sua qualidade.

A cortiça é um material natural que possui enorme variabilidade. Essa variabilidade tem expressão, sobretudo, na maior ou menor proporção entre a massa de tecido suberoso e os canais lenticulares que a atravessam. As propriedades que se desejam na cortiça são da exclusiva responsabilidade do tecido suberoso pelo que os orifícios dos canais lenticulares, os “poros”, correspondem a descontinuidades que vão afastar o comportamento da peça de cortiça onde se encontram do comportamento do tecido suberoso puro. Quanto mais e maiores forem esses poros na cortiça, ou seja, quanto maior for a “porosidade”, mais longe está o seu comportamento do desejado e, portanto, menor é a sua “qualidade”.

Uma cortiça com 2 % de área de poros na sua superfície tangencial é, em regra, uma cortiça de qualidade muito boa, mas se esse valor for superior a 5%, já indica uma cortiça de qualidade fraca. A diferença de valor comercial entre estas duas cortiças é, por consequência, enorme.

Para além da porosidade devida aos canais lenticulares, podem ocorrer na cortiça outras descontinuidades ou a inclusão de materiais estranhos ao tecido suberoso, e que concorrem para a sua desvalorização. No seu conjunto são conhecidos como os “defeitos” da cortiça. Um dos defeitos mais comuns é a presença em grandes quantidades do tecido desagregado que originou os canais lenticulares, a “terra”. Outro dos defeitos que ocorre em algumas cortiças é o chamado “prego”, que corresponde à inclusão de pedaços de tecido de entrecasco no interior da massa suberosa. Isto acontece por ocorrer a morte da camada de células que produz a cortiça, o felogénio, em determinadas zonas que, ao regenerar-se mais interiormente nos tecidos do entrecasco que lhe estão subjacentes, origina estas inclusões. Este defeito é grave, pois faz a inclusão na cortiça de um tecido com características próximas da madeira, o que altera significativamente as propriedades das cortiças onde aparece e pode levar à sua desvalorização total.

A qualidade da matéria-prima cortiça não é alterada pelos processos de transformação tecnológica, ou seja, a qualidade dos produtos de cortiça está dependente da qualidade da cortiça que lhe deu origem. Como o desempenho tecnológico dos produtos de cortiça, de que é um caso típico a rolha, é função da sua qualidade, resulta que as rolhas de boa qualidade são comercialmente valiosas e têm procura comercial assegurada enquanto que as rolhas de qualidade fraca apenas pagam o seu custo de fabrico.

Compreende-se, assim, que a qualidade da matéria-prima cortiça seja a chave de todo o processo industrial e económico do sector corticeiro. Deste modo, a classificação qualitativa da cortiça, e dos seus produtos, é uma operação à qual é dedicada a maior atenção, sendo o valor comercial da cortiça função directa da qualidade que possui, ou que consegue aparentar.

A classificação da cortiça tem sido feita, até agora, com na base na sua observação visual por operadores experimentados. Na prática industrial, após a cozedura, a cortiça é cortada (“traçada”) em pranchas de espessura (“calibre”) e qualidade tanto quanto possível homogéneos.

A separação em classes de qualidade, dada a sua subjectividade, constitui um dos pontos fracos do sector corticeiro. Efectivamente, a classificação para as mesmas designações de classe de qualidade (1ª, 2ª, 3ª, etc.) não é igual entre operadores e, sobretudo, pode ser muito diferente entre classificadores de unidades industriais diferentes. Este facto tem a ver, naturalmente, para além do erro humano, com diferenças de critério que decorrem do diferente historial comercial de cada empresa.

A não definição da qualidade da cortiça de forma quantificada e invariável cria, por vezes, situações de conflito comercial e impede a determinação do valor real das cortiças transaccionadas. Para os produtores de cortiça, o estímulo que uma maior valorização daria ao investimento em produzir cortiça de mais qualidade fica assim obscurecido pelo facto de a comercialização da cortiça entre produtores e industriais ser feita em lotes muito heterogéneos aos quais apenas se atribui um valor médio.

Neste projecto investigaram-se as possibilidades de fazer a quantificação da qualidade na cortiça utilizando duas técnicas diferentes: a análise de imagem e a análise espectroscópica por espectroscopia de infra-vermelho (FTIR).

Em relação às técnicas de imagem, a indústria corticeira já utiliza equipamentos que delas fazem uso para a classificação de rolhas e discos de cortiça natural, e que são aplicados extensivamente nas unidades fabris de maior dimensão. No entanto, não são normalmente utilizados para a classificação definitiva, sendo feita uma passagem manual para o controle final da classificação, pelo menos quando se trata de classes de boa qualidade. A existência de deficiências na qualidade das imagens obtidas e na

programação do sistema de análise de imagem contribuem para que ocorram atribuições de classe de qualidade erradas.

Um maior aprofundamento do que é a porosidade da cortiça observada em análise de imagem e da sua relação com a prática actual de classificação nas diferentes classes será, portanto, útil e tal estudo foi feito no âmbito deste projecto.

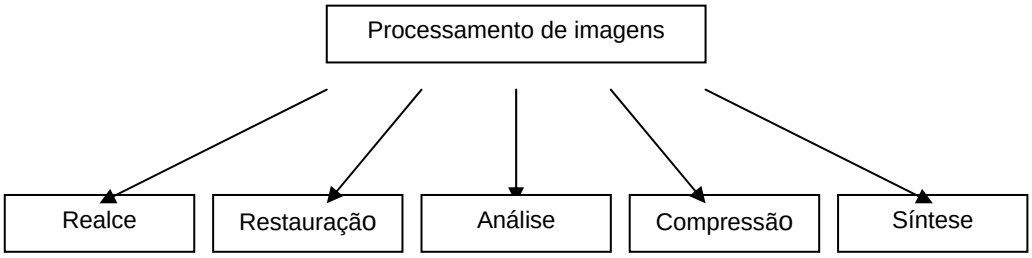
Por seu lado, a análise espectroscópica por infravermelho (FTIR) explora o facto dos diferentes tipos de tecidos que constituem as pranchas de cortiça terem um espectro de absorção da radiação na zona do infra-vermelho diferente, em função dos diferentes constituintes químicos que os integram. Deste modo, para além da composição química global do material, a análise dos espectros obtidos permitirá obter informação sobre a proporção dos vários tipos de tecidos que aparecem na cortiça, ou seja, entre o tecido suberoso, que é o desejado, e quantidades variáveis do tecido lenticular sempre presentes e, eventualmente, de tecido do entrecasco, o"prego". Dada a relação desta proporção com a qualidade da cortiça será possível também por este método obter informação sobre a classe de qualidade da cortiça.

2.2. Técnicas de análise de imagem

2.2.1. Introdução

As técnicas de análise de imagem obedecem aos mesmos procedimentos gerais, independentemente dos materiais que pretendem analisar. Consideram-se duas fases principais nesta análise: a aquisição da imagem e o seu processamento. O processamento de imagem, em sentido lato, pode ser definido como manipulação e análise de informação pictórica. Tudo o que se relacione com uma melhoria, correcção, análise ou modificação de imagens bidimensionais insere-se no âmbito do processamento de imagens (Baxes, 1994). As operações de processamento de imagens dividem-se em cinco classes fundamentais: realce, restauração, análise, compressão e síntese de imagens (Figura 2.1).

Figura 2.1. Classes fundamentais das técnicas de processamento de imagens (Baxes, 1994).



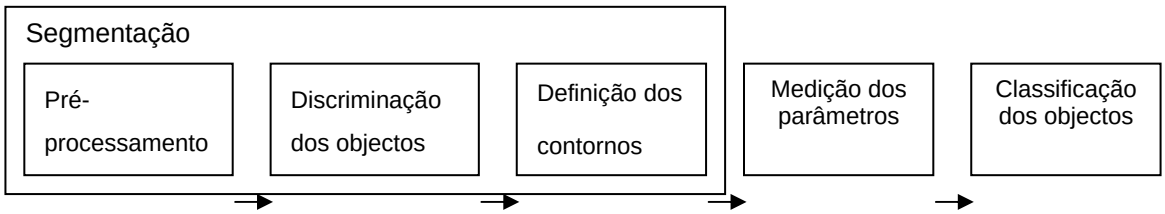
Uma determinada aplicação pode utilizar operações de um só grupo, ou incluir operações de grupos distintos. A análise da qualidade da cortiça, nomeadamente o estudo da porosidade e dos defeitos, recorre às operações típicas da classe designada por análise de imagem.

As operações de análise de imagem são utilizadas sempre que é necessário medir e classificar a informação contida nas imagens. Este tipo de operações, ao contrário das operações dos outros grupos, produz resultados não pictóricos, ou seja, o seu objectivo é quantificar as características dos objectos presentes nas imagens.

A análise de uma imagem comporta normalmente três fases distintas: a segmentação, a medição dos parâmetros caracterizadores dos objectos e a classificação dos objectos (Figura 2.2). A fase da segmentação, por sua vez, pode dividir-se em diferentes fases, normalmente três, e na maioria das situações recorre a operações de

outras classes, especialmente da classe de realce de imagens. Uma das operações frequentemente utilizadas na segmentação de imagens é a binarização, ou "thresholding", que no caso dos trabalhos relacionados com a qualidade da cortiça é uma operação determinante para o rigor dos resultados obtidos.

Figura 2.2. Fluxograma das operações envolvidas nos processos de análise de imagem, incluindo as fases do processo de segmentação (Baxes, 1994).



A segmentação tem como objectivo a simplificação das imagens de forma a reduzi-las aos seus componentes básicos e a individualização dos objectos cujos parâmetros irão ser quantificados, sem eliminar informação relevante contida nas imagens originais. Após a individualização dos objectos a medir, são determinados os parâmetros que os caracterizam, como sejam a sua área, perímetro, comprimento e largura, forma, centro de gravidade, ângulo de orientação, etc. Com os valores obtidos para os parâmetros de cada objecto é possível proceder à última fase do processo de análise de imagem, a classificação dos objectos. Os objectos podem ser classificados por comparação com um conjunto de dados pré-existente ou classificados de acordo com critérios definidos em função do objectivo pretendido. Esta fase é fundamental nas aplicações da análise de imagem relacionadas com visão artificial e reconhecimento de padrões.

2.2.2. Metodologia

As pranchas de cortiça observadas por análise de imagem correspondem às cortiças obtidas pela amostragem realizada nas diferentes locais do país. A observação foi feitas nas amostras de cortiça após cozedura em água a ferver durante 1,5 horas numa caldeira de cozedura industrial e secagem ao ar.

A preparação das cortiças para observação incluiu o corte com uma serra de disco de amostras com as dimensões de 25 x 25 cm^2, a partir das quais foram cortados quatro provetes, um de cada face transversal e radial, com as dimensões de 20 x 1,5 cm^2.

Todas as superfícies transversais e radiais das amostras foram lixadas com lixadeira de bancada com cintas de lixa P100 e limpas com ar comprimido.

A avaliação da qualidade das amostras de cortiça foi feita com base na presença e características da porosidade e de outros defeitos, utilizando um sistema de análise de imagem Olympus CUE-2. Este sistema possui três componentes: uma mesa de reprografia e sistema para aquisição das imagens, um monitor de alta resolução onde as imagens são digitalizadas e um computador onde funciona o software de processamento de imagem, medição e tratamento dos dados.

Para a aquisição das imagens utilizou-se uma mesa de reprografia Kaiser RS2 com uma coluna de 70 cm e um braço móvel para suporte de câmaras de vídeo, um conjunto de iluminação composto por 4 lâmpadas foscas de 25 W e uma câmara de vídeo a preto e branco Sony XC-57CE ligada, através de um adaptador do tipo F-C, a uma objectiva fotográfica Nikon AF Nikkor 20 mm f/2.8.

Após a aquisição, as imagens são digitalizadas num monitor de vídeo Sony GVM-1411QM, policromático com entrada RGB para processamento de imagem. A análise das imagem utilizou o software CUE-2 da Olympus, instalado num computador Pentium 133 MHz.

Após a aquisição e a digitalização, o processamento das imagens começa com as operações de segmentação que são, sequencialmente, as seguintes:

- Pré-processamento: correcção da heterogeneidade da intensidade luminosa.

- Discriminação dos objectos: utiliza-se a binarização, que consiste na selecção de um nível de cinzento (*threshold*) adequado para distinguir os objectos a medir (poros e outros defeitos da cortiça) da massa de cortiça. A operação designa-se por binarização porque produz uma imagem binária em que todos os objectos a medir são pretos em contraste com um fundo branco (Figura 2.3). No caso do sistema utilizado, é possível a distinção de 256 níveis de cinzento, com uma precisão de observação de 0,095658 mm^2.

Com a binarização das imagens conclui-se a fase da segmentação, à qual se segue a medição dos parâmetros caracterizadores dos objectos. No caso dos poros e outros defeitos da cortiça os parâmetros determinados são:

- área
- perímetro
- comprimento: extensão do maior eixo
- largura: extensão do menor eixo
- coeficiente de forma: (área/perimetro^2)/4π
- coeficiente de geometria: eixo menor/ eixo maior
- ângulo de orientação do eixo maior

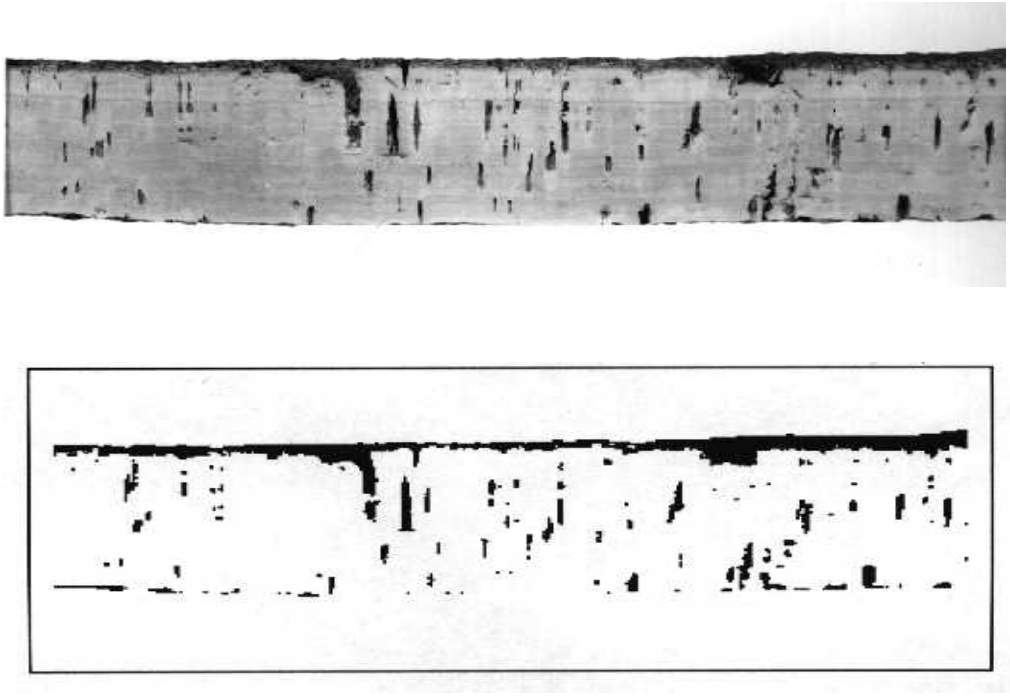
Para além dos parâmetros determinados para cada um dos objectos presentes na imagem binarizada, são determinados três parâmetros caracterizadores da porosidade das amostras:

- Número total de poros por unidade de superfície ou por unidade de comprimento da amostra

- Coeficiente de porosidade (CP): razão entre a área total de objectos e a área total da amostra, expresso em percentagem.

- Coeficiente de porosidade (CP>2): razão entre a área total dos objectos com área superior a 2 mm^2 e a área total da amostra, expresso em percentagem.

Figura 2.3. Imagem real (superior) e binarizada (inferior) da secção radial de uma amostra de cortiça.



Previamente à medição dos objectos foi subtraída à imagem a zona da costa e da barriga, para a eliminação de objectos que não correspondem à porosidade da cortiça (Fig. 2.3). Deste modo, a quantificação dos parâmetros é feita exclusivamente na massa da cortiça.

As determinações foram feitas nos quatro provetes (dois da secção transversal e dois da secção radial), sendo calculados os valores médios para cada parâmetro e para cada amostra.

Todas as cortiças foram também classificadas numa unidade industrial por um operário especializado, que utilizou a classificação corrente na indústria em 6 classes de qualidade (1ª a 6ª) e refugo.

2.2.3. Resultados

A operação de binarização das imagens (thresholding) que permite definir os objectos a analizar foi um passo importante no processo de análise. A selecção do nível de cinzento foi feita individualmente para cada uma das amostras de forma a permitir uma discriminação dos objectos o mais rigorosa possível. Esta selecção é um passo determinante, uma vez que ao variar o nível de cinzento variam os valores para cada parâmetro determinado. De facto, ao seleccionar níveis de cinzento mais elevados aumentam os valores dos parâmetros caracterizadores da dimensão dos objectos, assim como o número de objectos em cada amostra e vice-versa. Deste modo, a selecção do nível de cinzento adequado requer um operador experimentado e conhecedor das características da cortiça, nomeadamente da sua porosidade e dos vários tipos de defeitos (Pereira *et al.*, 1996).

No Quadro 2.1 apresentam-se os valores de alguns dos parâmetros caracterizadores da porosidade para o conjunto das 680 amostras de cortiça estudadas. Verifica-se, em geral, uma grande variabilidade entre amostras para os parâmetros da porosidade que têm a ver com o número e a área dos objectos.

O coeficiente de porosidade variou entre 0,5 % e 16,8 %, o que confirma variações anteriormente descritas (Pereira *et al*., 1996). O valor médio de 5,8 % para o coeficiente de porosidade é relativamente baixo e reflecte o facto de muitas amostras serem de boa qualidade e não apresentarem defeitos graves que pudessem impossibilitar a sua utilização na indústria corticeira. A variação do coeficiente de porosidade é acentuada entre amostras recolhidas em povoamentos diferentes e também entre amostras do mesmo local.

O número de poros por unidade de comprimento das amostras, parâmetro que está estreitamente relacionado com o coeficiente de porosidade, também apresenta uma grande variação entre amostras, sendo o mínimo 11 e o máximo 212 poros por 10 cm.

Quadro 2.1. Valores mínimos, máximos e médios para os parâmetros coeficientes de porosidade (CP, CP>2), número de poros por 10 cm (Nporos), área média dos poros (A_{med}) e largura média dos poros ($Larg_{med}$), para o conjunto das 680 amostras estudadas.

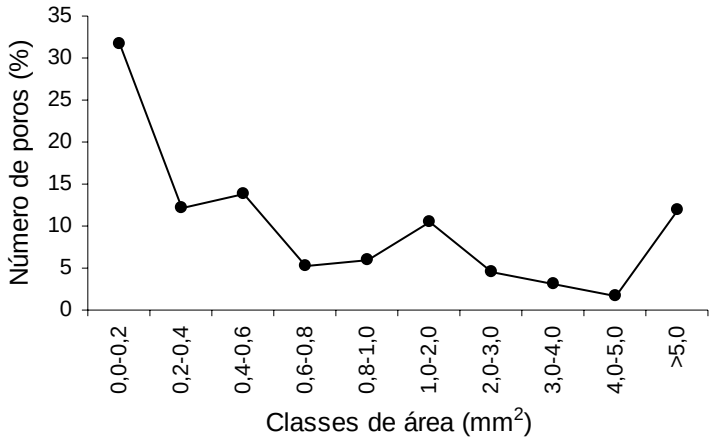
	CP (%)	CP>2 (%)	Nporos	A_{med} (mm^2)	$Larg_{med}$ (mm)
Mínimo	0,8	0,5	11	0,8	0,43
Máximo	16,8	14,6	212	5,8	0,79
Média	5,8	4,7	65	2,1	0,57

A maioria dos poros tem uma dimensão pequena e a área média dos poros em cada amostra foi 2,1 mm^2 como média para o total das amostras. Separando os poros em três classes de dimensão em função da sua área, <1 mm^2, 1mm^2-2 mm^2 e >2 mm^2, pode-se constatar que os poros com área inferior a 1 mm^2 correspondem a 67 % do número total de poros, enquanto que os poros com área superior a 2 mm^2, que são aqueles com uma importância determinante na utilização industrial da cortiça, correspondem apenas a 21 % do número total de poros. No entanto, em termos da sua contribuição para a porosidade total, os poros com área inferior a 1 mm^2 correspondem, em média, apenas a 16 % da área total de poros, enquanto que os poros com área superior a 2 mm^2 correspondem a 78 % da área total de poros.

Na Figura 2.4 apresenta-se a distribuição percentual dos poros por classes de dimensão para uma amostra de cortiça, a título exemplificativo do padrão de distribuição dos poros por classe de área. Separando os poros em classes de dimensão de 0,2 mm^2 até à área de 1 mm^2 e depois em classes de 1 mm^2, é evidente o elevado número de poros muito pequenos, nomeadamente aqueles com uma área inferior a 0,2 mm^2, e o reduzido número de poros grandes, ou seja, aqueles com área superior a 2 mm^2.

A análise da distribuição dos poros por classe de área foi também aplicada às cortiças provenientes de três locais diferentes. No Quadro 2.2 apresentam-se os valores médios das percentagens para o número total de poros por 10 cm (NTP) e para a área total de poros (ATP) para os poros das classes de área <1 mm^2, 1-2 mm^2 e >2 mm^2. Os resultados confirmam os valores médios referidos para o conjunto da amostragem: os poros de pequena dimensão são muito numerosos mas têm um peso relativamente pequeno para a constituição da área total de poros, ao contrário dos poros com dimensões superiores a 2 mm^2 que, não sendo muito numerosos, correspondem a cerca de 80 % da área total de poros nos três casos apresentados.

Figura 2.4. Distribuição percentual dos poros por classes de dimensão para a amostra de cortiça 11A1.



Quadro 2.2. Valores percentuais médios para o número total de poros por 10 cm (NTP) e para a área total de poros (ATP) para o conjunto das amostras de três locais diferentes (5A, 5B, 5C)

Local	NTP / 10 cm (%)			ATP (%)		
	< 1 mm^2	1-2 mm^2	> 2mm^2	< 1mm^2	1-2 mm^2	> 2 mm^2
5A	66,2	11,8	22,1	10,6	7,3	82,1
5B	64,9	12,2	23,0	10,4	7,8	81,8
5C	67,5	10,0	22,5	11,6	7,5	80,9

Atendendo à importância dos poros com área superior a 2 mm^2 na definição da porosidade das pranchas de cortiça e no seu impacto para a classificação da cortiça, é interessante dividir o conjunto destes poros noutras classes de dimensão, de forma a avaliar o peso dos poros de grande dimensão na porosidade total. No Quadro 2.3 apresenta-se a distribuição dos poros > 2 mm^2 por classes de área: 2-5 mm^2, 5-10 mm^2, 10-15 mm^2, 15-20 mm^2 e >20 mm^2.

Verifica-se que os poros de grande dimensão, embora em número reduzido, representam uma parte significativa da área total de poros; por outro lado, os poros de relativamente menor dimensão são em maior número mas o seu peso na porosidade total é menor. Por exemplo, os poros com área superior a 5 mm^2 representam 45%

do número total de poros maiores que 2 mm^2 mas a sua área representa 78% da área total de poros

Quadro 2.3. Valores percentuais médios para o número total de poros por 10 cm (NTP) e para a área total de poros (ATP) para o conjunto das amostras do local 5A, considerando apenas os poros com área superior a 2 mm^2.

	2-5 mm^2	5-10 mm^2	10-15 mm^2	15-20 mm^2	> 20 mm^2
NTP (%)	55,0	25 ,0	8,6	4,3	7,1
ATP (%)	21,8	22,8	13,1	8,8	33,6

Outros parâmetros caracterizadores da biometria e forma dos poros foram também determinados e os seus valores médios para as cortiças dos três locais (5A, 5B e 5C) são apresentados no Quadro 2.4. Alguns destes parâmetros, nomeadamente a área máxima dos poros que ocorre em cada amostra, apresentam uma grande variação entre amostras, como demonstrado pelos valores dos respectivos desvios-padrão e que correspondem a coeficientes de variação da média superiores a 50%.

Quadro 2.4. Valores médios e respectivos desvios-padrão para a área máxima (Amax), perímetro, factor de forma, factor de geometria, comprimento e largura dos poros, para o conjunto das amostras de três locais diferentes (5A, 5B e 5C).

Local	Amax (mm^2)	Perímetro (mm)	Factor de forma	Factor de geometria	Comprimento (mm)	Largura (mm)
5A	83,3 (49,4)	6,1 (1,7)	0,5 (0,1)	0,6 (0,2)	2,4 (0,3)	0,6 (0,4)
5B	63,3 (35,2)	5,9 (0,7)	0,5 (0,1)	0,6 (0,2)	2,3 (0,3)	0,6 (0,3)
5C	49,0 (30,4)	5,7 (0,6)	0,5 (0,1)	0,6 (0,2)	2,2 (0,3)	0,7 (0,4)

O comprimento médio dos poros apresenta coeficientes de variação da média pequenos, cerca de 13 %, o que corresponde a menores variações entre amostras, e valores médios para os diferentes locais semelhantes. Já a largura média dos poros apresenta coeficientes de variação significativamente mais elevados, o que demonstra existir uma grande variação entre amostras para este parâmetro, também estreitamente relacionado com a porosidade total das amostras, uma vez que nas secções radial e transversal das pranchas de cortiça a largura dos poros é

determinante da porosidade total. Os valores médios por local não são significativamente diferentes para os casos apresentados, indicando mais uma vez que a variação entre árvores é a principal componente da variação total.

A forma dos poros, analisada através dos parâmetros factor de forma e factor de geometria mostra alguma variação entre amostras do mesmo local. No entanto, os valores médios para os três locais são iguais.

Os resultados da análise de imagem para a caracterização da porosidade das amostras podem ser utilizados para estabelecer comparações com a sua classificação industrial feita por observação visual por um operador. O coeficiente de porosidade foi o parâmetro utilizado para o estabelecimento dessas relações uma vez que é aquele que melhor traduz o aspecto visual da porosidade de toda a amostra.

Na Figura 2.5 apresentam-se os resultados para o conjunto de 220 amostras provenientes de onze locais diferentes (7A, 7B, 7C, 7D, 7E, 11A, 11B, 11C, 11D, 13A e 14A) da sua classificação por classe industrial de qualidade (1ª a 6ª e refugo) e do respectivo coeficiente de porosidade.

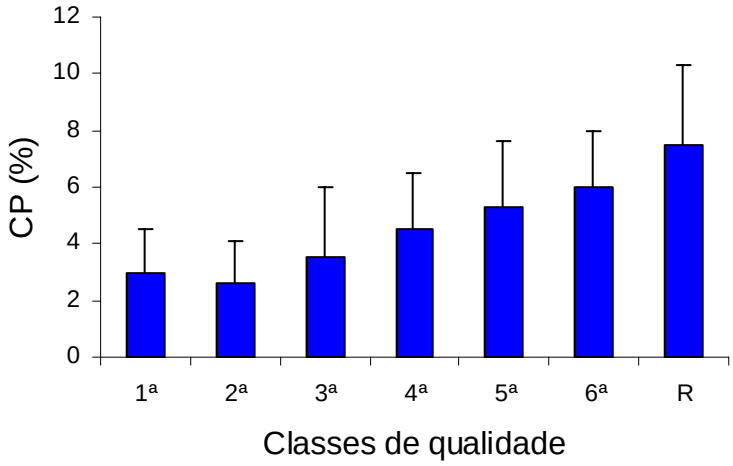
A Figura 2.5 evidencia claramente que às cortiças de melhor qualidade correspondem, em média, coeficientes de porosidade mais baixos e que, por outro lado, as cortiças de pior qualidade apresentam, em média, coeficientes de porosidade bastante mais elevados. Por exemplo, as cortiças de 1ª e 2ª classe de qualidade apresentam um coeficiente de porosidade médio próximo de 3%, enquanto que as cortiças de 6ª e refugo têm um coeficiente de porosidade em média de aproximadamente 6-7%. Verifica-se que a porosidade média das cortiças aumenta progressivamente da 3ª à 6ª classes de qualidade.

No entanto é de referir os elevados desvios-padrão associados aos valores médios da porosidade para todas as classes de qualidade, que reflectem a variação existente do coeficiente de porosidade entre cortiças da mesma classe de qualidade industrial. A discordância entre a classificação industrial e os valores da porosidade resulta normalmente da presença de outros defeitos, nomeadamente a terra, o prego, o bofe e as galerias de insectos, que são penalizados pelo avaliador em maior grau do que aquele que lhe é atribuido pela sua área.

Quer isto dizer que ao fazer determinações da porosidade em sentido lato, ou seja, incluindo todos os objectos presentes na massa da cortiça, não se está a ter em conta a importância relativa dos diferentes defeitos. O avaliador, para além de ponderar a presença e extensão desses defeitos, avalia também a sua importância potencial no processo de transformação industrial da cortiça, em especial pondera o seu impacto no fabrico de rolhas de cortiça natural. Esta ponderação é um dos aspectos que confere subjectividade à classificação industrial das pranchas de cortiça, uma vez que se baseia na experiência pessoal dos operadores.

Faz-se notar que a classificação industrial destas amostras foi feita apenas numa unidade industrial. Sabe-se que existe variação na classificação quer entre unidades industriais, quer entre operadores na mesma unidade (Barros e Pereira, 1987; Melo e Pinto, 1989; Pereira *et al*., 1996).

Figura 2.5. Relação entre o coeficiente de porosidade e as classes de qualidade industrial para o conjunto de amostras provenientes de onze locais diferentes.



No Quadro 2.5 apresentam-se alguns casos ilustrativos da não concordância entre o valor do coeficiente de porosidade e a classe industrial atribuída às amostras e que resultam da presença de defeitos. As primeiras quatro amostras são exemplos onde o coeficiente de porosidade é muito baixo para a classe de qualidade atribuída às amostras, respectivamente 3-4% de porosidade e uma classificação em 6ª e refugo. Se se utilizassem os valores médios apresentados na Figura 2.5 estas amostras seriam de 3ª classe de qualidade. Mas em todas elas estão presentes os defeitos prego, formiga e terra em quantidades apreciáveis, que justificam a baixa classe de qualidade que lhes foi atribuída.

Exemplos onde acontece a situação inversa também são frequentes, embora menos. As últimas quatro amostras do Quadro 2.5 dizem respeito a situações em que a classe de qualidade é bastante favorável atendendo aos elevados valores do coeficiente de porosidade. Para a primeira amostra, a explicação tem a ver com o facto do defeito marmoreado ser incluído como objecto na análise de imagem, aumentando assim o coeficiente de porosidade, enquanto que a classificação industrial lhe atribui uma

importância reduzida. Nos outros três casos, embora as amostras apresentem uma quantidade apreciável de defeitos, nomeadamente bofe e terra, o seu calibre é suficientemente elevado para permitir a brocagem de rolhas evitando os defeitos mais graves. Assim, a classificação industrial é bastante favorável, uma vez que a prancha permite um bom aproveitamento para produção de rolhas, embora os valores da porosidade sejam bastante elevados.

Quadro 2.5. Exemplos de amostras com valores discrepantes para o coeficiente de porosidade (CP) e para a classe de qualidade industrial.

Amostra	CP (%)	Classe Industrial	Defeitos
7A7	2,9	6ª	Prego
7A15	3,9	Refugo	Formiga
7C13	3,1	Refugo	Prego
7D4	2,7	6ª	Terra
11B12	6,3	3ª	Marmoreado
11D5	7,7	1ª	Bofe e cobrilha, calibre elevado
11D11	12,0	5ª	Bofe e terra, calibre elevado
11D17	11,4	3ª	Terra e prego, calibre elevado

A classificação das pranchas de cortiça em 6 classes de qualidade e refugo é considerada frequentemente demasiado discriminada, daí resultando uma maior subjectividade de classificação pelo operador, principalmente nas classes de qualidade médias. O interesse prático de tal classificação também pode ser questionado. De facto é já prática industrial corrente agrupar classes de qualidade em lotes mistos, por exemplo um lote de boa qualidade com cortiças de 1ª a 3ª classe, um lote de qualidade média com cortiças de 4ª e 5ª classes e um lote de qualidade fraca com cortiças de 6ª classe. A estas categorias das pranchas de cortiça correspondem diferentes perfis de qualidade das rolhas produzidas (Pereira *et al.* 1994).

Utilizando os coeficientes de porosidade médios e a classificação industrial obtidos para as 220 amostras, seria possível indicar como limites para estas categorias de cortiça os seguintes valores:

- cortiças de boa qualidade: CP inferior a 4%
- cortiças de qualidade média: CP entre 4% e 6%
- cortiças de qualidade fraca: CP superior a 6%

A introdução de outros parâmetros quantificados na análise de imagem, como elementos de restrição, permitiria melhorar a concordância com a classificação visual por operador.

Pode, portanto, concluir-se que as técnicas de análise de imagem permitem quantificar os parâmetros que caracterizam a porosidade de pranchas de cortiça, sendo possível utilizar os resultados para estabelecer classes de qualidade para a classificação de cortiça em prancha.

A classificação industrial actual e uma classificação baseada nos parâmetros da porosidade determinados por análise de imagem evidencia algumas diferenças resultantes essencialmente da influência que a presença e extensão de outros defeitos tem na classificação industrial, onde é ponderada a sua importância no processo de fabrico, nomeadamente na produção de rolhas de cortiça natural. Deste modo, a determinação de outros defeitos permitiria uma melhor caracterização da aptidão tecnológica das pranchas de cortiça o que, conjugado com a caracterização rigorosa da porosidade que é possível fazer utilizando as técnicas agora desenvolvidas, permite estabelecer critérios de classificação em classes de qualidade para pranchas de cortiça de natureza objectiva e quantificada.

2.3. Técnicas espectroscópicas (FTIR)

2.3.1. Introdução

As pranchas de cortiça são constituidas por três tipos de tecidos. O principal, o constituinte da massa da cortiça, é o tecido suberoso, que é o responsável pelas propriedades tecnológicas que se procuram na cortiça. O segundo tecido, o tecido lenticular, que é originado pelas células não suberosas que se desagregam constituindo os canais lenticulares, existe em proporções maiores ou menores, conforme as características da porosidade da cortiça, nomeadamente o tipo e dimensão das lentículas. Um terceiro tipo de tecido, que ocorre em algumas cortiças, é o tecido floémico, que possui as características de madeira, sendo portanto, indesejado, por inclusão de porções de floema secundário, vulgarmente designado como entrecasco.

A qualidade industrial de uma cortiça é, em grande parte, determinada pela proporção relativa destes três tipos de tecidos. Quanto maior for a proporção da massa suberosa relativamente ao tecido lenticular e ao tecido floémico presentes, melhor será a qualidade da cortiça. Assim, algumas das situações mais comuns de desvalorização das cortiças estão associadas à presença em quantidades significativas dos dois tecidos estranhos ao tecido suberoso. As cortiças onde o tecido lenticular é abundante, defeito conhecido por *terra*, são as chamadas cortiças *terrentas*. Aquelas onde existem abundantes inclusões floémicas, defeito conhecido por *prego*, são as chamadas cortiças *preguentas* ou *madeirentas*.

Cada um destes tecidos que aparecem incluídos nas cortiças têm composições químicas diferentes (Pereira e Baptista, 1993; Pereira, 1987). A principal diferença é entre o tecido suberoso, constituído por células suberificadas, e os tecidos lenticular e floémico, ambos constituídos por células com características químicas de células lenhosas. Por exemplo, enquanto o tecido suberoso é constituído em cerca de 50% por suberina, nos tecidos do tipo lenhoso os polissacáridos são os compostos dominantes, com 60% ou mais da composição química.

Cada um dos compostos químicos presentes nos vários tipos de tecidos apresenta grupos funcionais e tipos de ligações químicas próprios, os quais podem ser estudados por espectroscopia de infra-vermelho. O espectro de infra-vermelho por transformada de Fourier (FTIR) de um material indica-nos os tipos de ligações e grupos funcionais dos compostos químicos presentes, dando ao mesmo tempo informação quantitativa sobre a proporção relativa entre eles. Se se fizer o espectro de FTIR de uma cortiça, lá se encontrarão os picos correspondentes aos compostos químicos que a integram, assim como a sua importância relativa. Deste modo, o espectro de FTIR de uma cortiça pode dizer quais os tipos de tecidos presentes e qual

a proporção relativa entre eles. Uma cortiça exclusivamente constituída por tecido suberoso, terá um espectro de FTIR igual ao do tecido suberoso. A proporção de tecido lenticular, ou nalguns casos também de tecido floémico, numa cortiça, poderá ser então medida no seu espectro de FTIR, pela presença e quantidade relativa dos picos dos compostos químicos que os constituem. Deste modo, o espectro de FTIR dará informação sobre a qualidade da cortiça.

Neste trabalho foram obtidos e estudados individualmente os espectros de FTIR do tecido suberoso, do tecido lenticular e do tecido floémico (a partir do entrecasco). Foram também obtidos espectros de cortiças classificadas industrialmente em várias classes de qualidade e comparados com a informação obtida a partir dos espectros de FTIR dos três tecidos previamente estudados.

2.3.2. Resultados

Os espectros de absorção no infravermelho dos três tipos de tecidos presentes nas pranchas de cortiça apresentam características próprias, resultantes da respectiva composição química, como a seguir se descreve.

Tecido suberoso

O espectro de infravermelho (FTIR) do tecido suberoso (Fig. 2.6) é dominado pelas bandas características da suberina: a banda C-H com dois picos a 2927 e 2854 cm^{-1} das ligações alifáticas e oleofínicas; a banda C=O intensa a 1740 cm^{-1} dos ácidos alifáticos e seus ésteres. As bandas características da lenhina, a 1511, 1466 e 1267 cm^{-1}, indicam tratar-se de uma lenhina tipo guaiacilo (G), semelhante à lenhina que se encontra nas resinosas (Marques *et al*. 1994). Outra característica deste espectro é a fraca intensidade da banda característica da fracção dos polissacáridos (celulose e hemiceluloses), com dois picos a 1087 e 1035 cm^{-1}.

Pó lenticular

O espectro de infravermelho do pó lenticular (Fig. 2.7) apresenta como banda dominante a banda OH, com um máximo a cerca de 3399 cm^{-1}. Esta é uma banda muito alargada com uma linha descendente que ainda influencia a banda C-H, com um pico dominante a 2940 cm^{-1} e outro de menor expressão a 2872 cm^{-1}. Entre os 2000 e os 500 cm^{-1} , a banda dominante é a dos polissacáridos, com dois picos a 1108 e 1035 cm^{-1}. Outra das características que sobressai neste espectro é a fraca intensidade da banda C=O a 1734 cm^{-1}, que neste caso é atribuível às pentosanas e não à suberina. A banda a 1516 cm^{-1}, característica do anel aromático da lenhina, aparece a um comprimento de onda mais elevado que a correspondente no tecido suberoso (1511 cm^{-1}).

Figura 2.6. Espectro de infravermelho médio (FTIR) entre 4000-400 cm^{-1} de tecido suberoso puro, obtido a partir de cortiças de qualidade extra e retirando todas as impurezas.

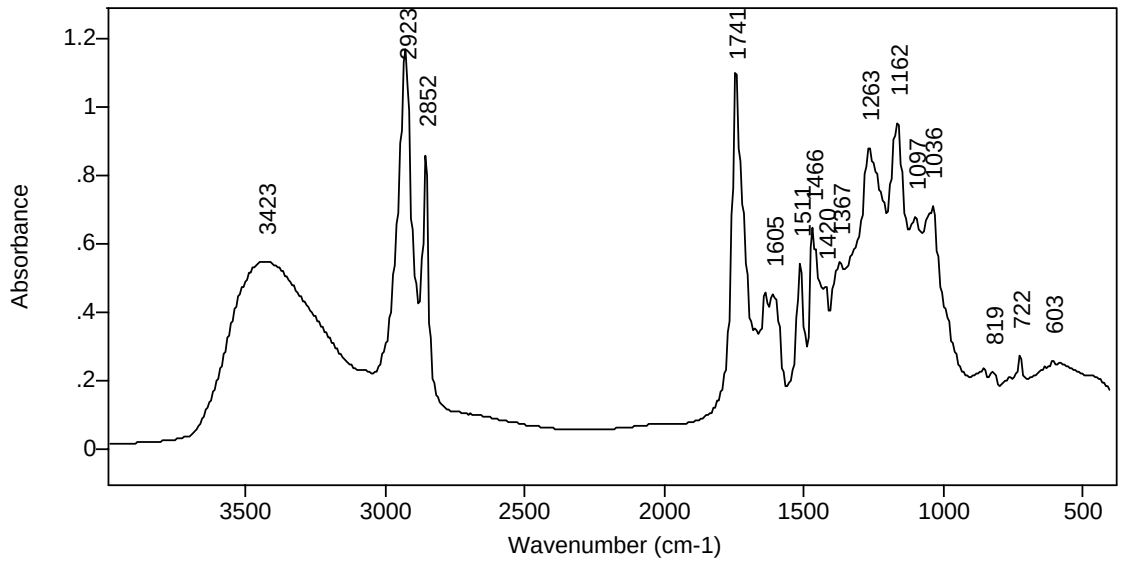
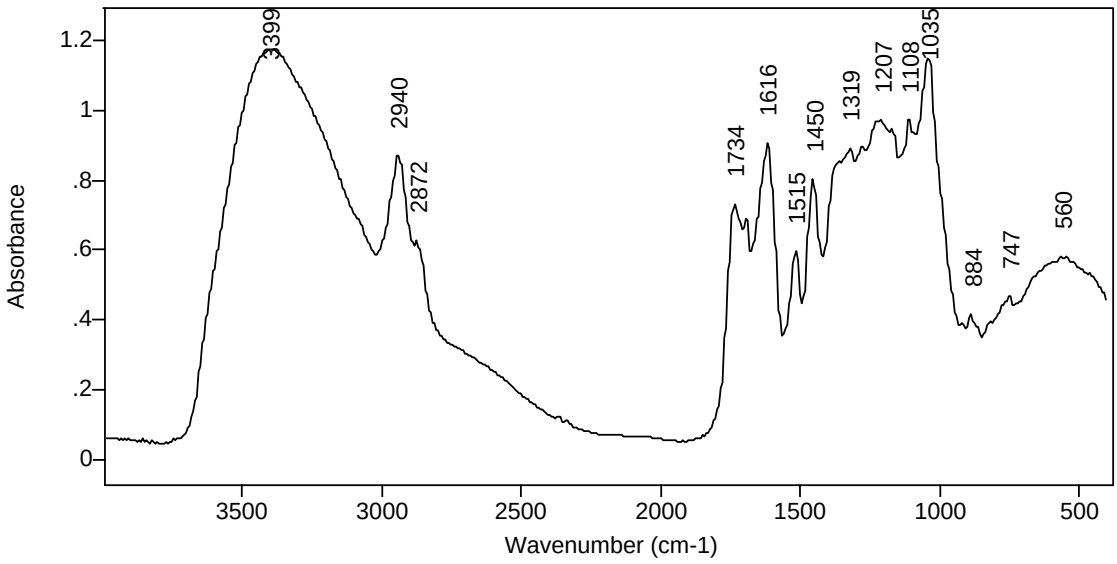


Figura 2.7. Espectro de infravermelho médio (FTIR) entre 4000-400 cm-1 de pó lenticular obtido a partir de cortiças terrentas.

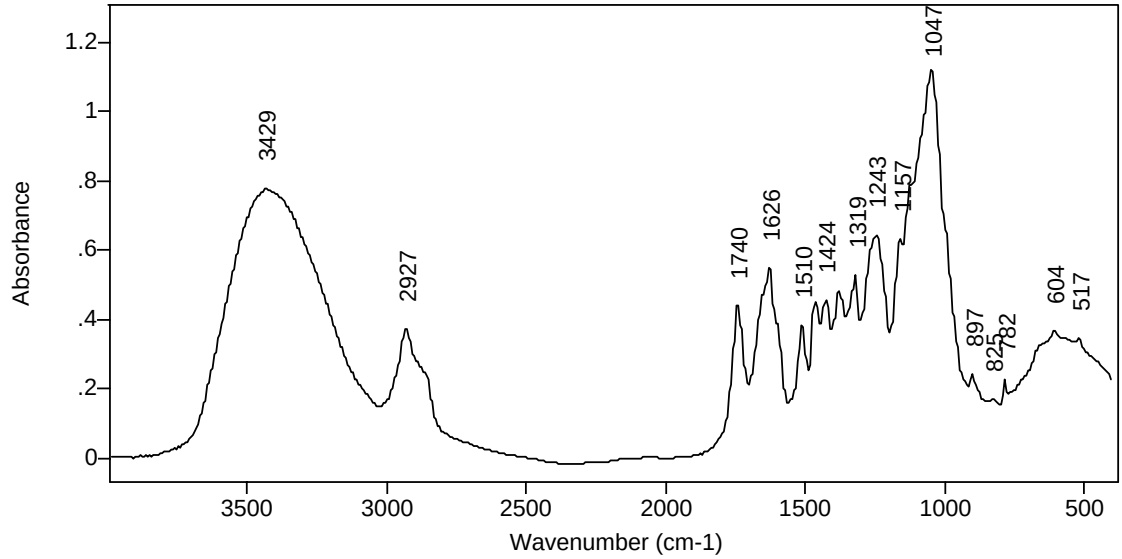


Entrecasco

O espectro de infravermelho (FTIR) do entrecasco (Fig. 2.8) é dominado pela banda característica dos polissacáridos, com um máximo a 1047 cm^{-1}, resultante das tensões na ligação C-O. As bandas características da lenhina, a 1510, 1463 e 1243 cm^{-1}, indicam tratar-se de uma lenhina do tipo guaiacilo, de acordo com a classificação de Faix (1992). Ou seja, a lenhina do entrecasco é semelhante à lenhina da cortiça e não à lenhina da madeira do sobreiro, o que poderá ter a ver com o facto da regeneração dos felogénios traumáticos ocorrer no interior do entrecasco por desdiferenciação de células floémicas que adquirem capacidade meristemática.

No entanto, pela observação dos espectros de FTIR, pode-se também verificar que existe uma ligeira diferença entre as lenhinas da cortiça e do entrecasco. Estas diferenças ocorrem pelo enriquecimento em unidades siringílicas da lenhina do entrecasco. Este facto pode ser comprovado pelo aparecimento de um ombro a 1122 cm^{-1} e pela deslocação do máximo da banda a 1263 cm^{-1} (na cortiça) para 1243 cm^{-1} (no entrecasco). A ocorrência de um pico a 1122 cm^{-1} de origem aromática associada a tensões na ligação C-O-C é característico das unidades siringílicas.

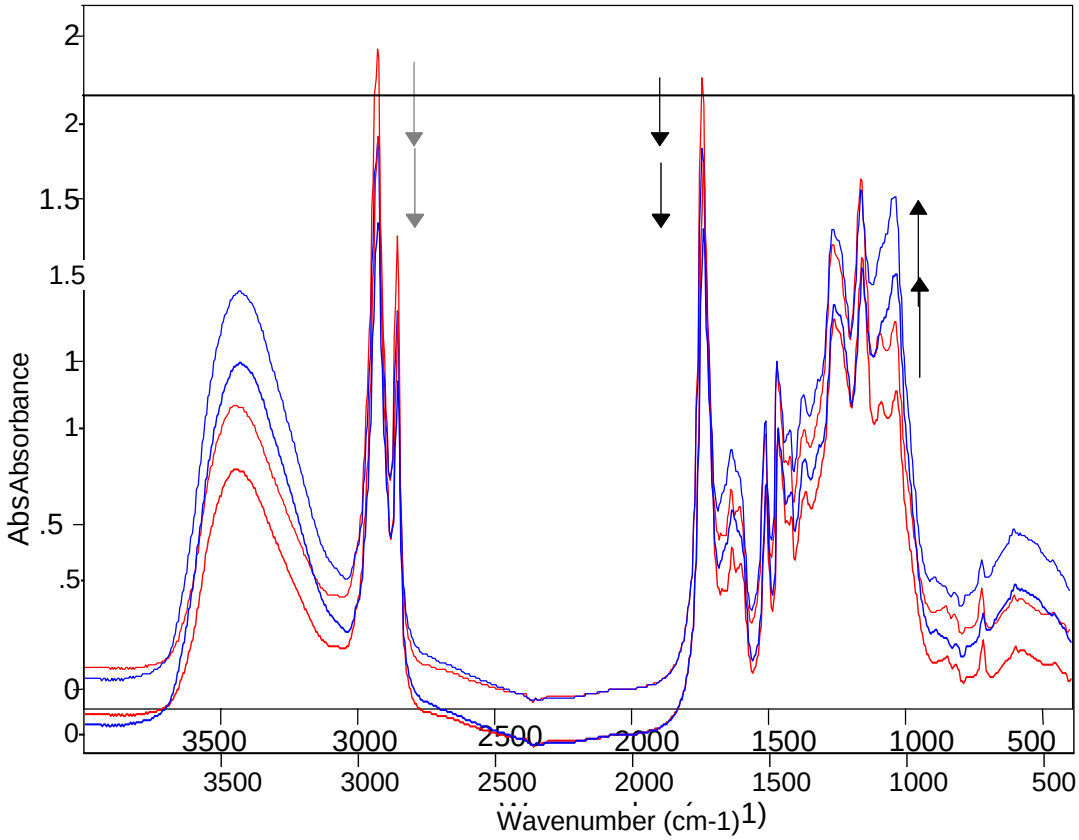
Figura 2.8. Espectro de infravermelho médio (FTIR) entre 4000-400 cm-1 de entrecasco (tecido floémico).



FTIR de cortiças classificadas industrialmente

A Figura 2.9 apresenta dois espectros de duas amostras de cortiça de diferente qualidade classificadas industrialmente, uma como de 1ª classe (vermelho) e a outra como de 6ª classe (azul). Para possibilitar a comparação directa entre os dois espectros, a linha de base foi corrigida em ambos por forma a que a intensidade fosse nula a 2000 cm^{-1} e o pico a 1461 cm^{-1}, característico da lenhina, foi normalizado (intensidade = 1).

Figura 2.9. Espectros de infravermelho de duas cortiças, uma de 1ª (vermelho) e outra de 6ª (azul). Para efeitos de comparação a linha de base dos espectros foi igualada a zero a 2000 cm^{-1} e foram normalizados a 1461 cm^{-1}. as setas indicam os picos cuja intensidade é mais afectada pela qualidade da cortiça (ver texto).



As principais diferenças entre os dois espectros são:

- uma diminuição relativa da intensidade dos picos característicos da suberina, ou seja, da banda C-H com dois picos a 2927 e 2854 cm^{-1} das ligações alifáticas e oleofínicas e da banda C=O intensa a 1740 cm^{-1} dos ácidos alifáticos e seus ésteres no espectro da cortiça de 6ª classe.

- um aumento relativo da banda O-H, das bandas da lenhina com picos a 1511, 1466 e 1262 cm^{-1} bem como das bandas dos polissacáridos com os picos a 1094 e 1035 cm^{-1}, no espectro da cortiça de 6ª classe.

A Figura 2.10 mostra a variação da absorvância dos picos característicos da suberina a 2926 cm^{-1}, da banda C-H, e a 1741 cm^{-1} da banda C=O, de espectros com a correcção da linha de base e normalizados a 1461 cm^{-1}, de cortiças extractadas, de 1ª, 3ª, 4/5ª e 6ª qualidade. Como era de esperar, observa-se uma diminuição acentuada da absorvância destes dois picos do espectro de cortiça de 1ª em relação à de 6ª, sendo portanto possível distinguir as cortiças de 1ª e as de 6ª. No entanto, a absorvância dos espectros da cortiça de 3ª e das cortiças de 4ª a 5ª não apresentam diferenças evidentes entre si em termos de absorvância e, portanto, não é possível distinguir estas duas classes de qualidade por análise da absorvância quer da banda C-H quer da banda C=O.

Na Figura 2.10 pode-se observar que quando a absorvância dos picos do C-H e C=O ligados à suberina é igual ou superior a 1,85 se está em presença de uma cortiça de 1ª classe. Quando esse valor está entre 1,80 e 1,70 aparecem incluídas as cortiças de 3ª a 5ª. Finalmente, quando a absorvância destes dois picos tem valores inferiores a 1,70 a cortiça é da 6ª classe.

A Figura 2.11 mostra a variação da absorvância da banda C-O, característica dos polissacáridos, com dois dos picos a 1094 e 1035 cm^{-1}, a partir dos mesmos espectros de FTIR usados na Figura 2.10. Como era de esperar, observa-se um aumento acentuado da absorvância destes picos dos polissacáridos do espectro da cortiça de 1ª classe em relação ao espectro da cortiça de 6ª classe. Há uma diferença marcada entre estes dois materiais, que são portanto fáceis de distinguir. No entanto, a absorvância destes mesmos picos nos espectros da cortiça de 3ª e das cortiças de 4ª a 5ª classes não apresenta diferenças evidentes. Não foi possível, portanto, distinguir entre si estas duas classes de qualidade por FTIR.

No espectro da cortiça de 6ª classe, o aumento da intensidade da banda C-O, com o seu consequente alargamento, origina que o pico a 1094 cm^{-1} apareça como um ombro, deixando de estar resolvido. Esta é mais uma característica identificadora das cortiças de 6ª classe.

Figura 2.10. Variação da absorvância das bandas CH (2926 cm^{-1}) e C=O (1741 cm^{-1}) da suberina de cortiças de quatro classes de qualidade (medições em espectros normalizados a 1461 cm^{-1} (pico característico da lenhina) e com absorvância a 2000 cm^{-1} igual a zero)

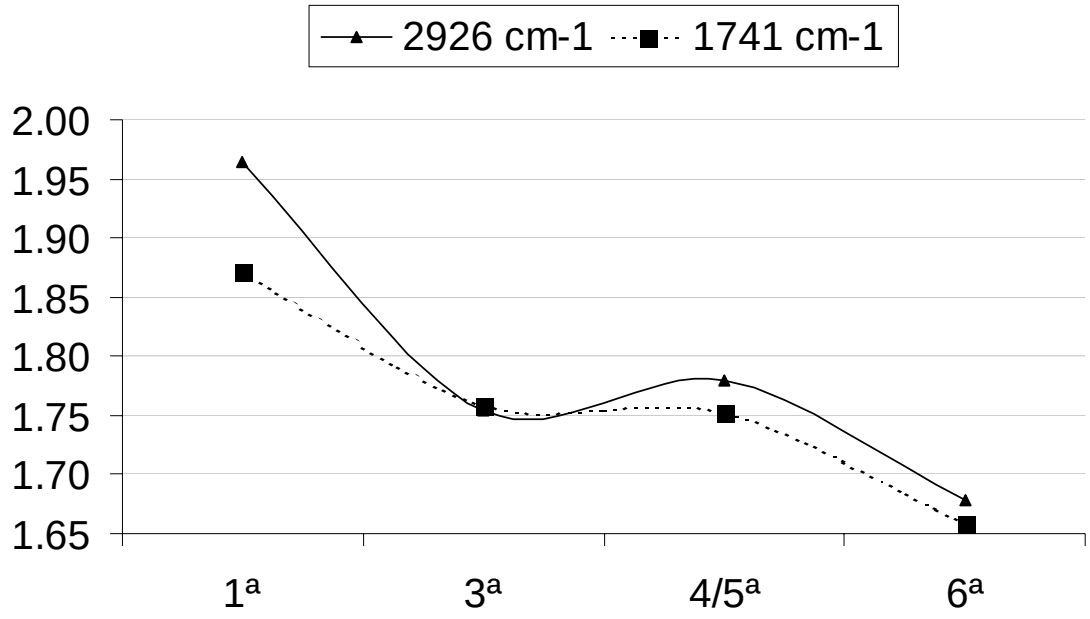
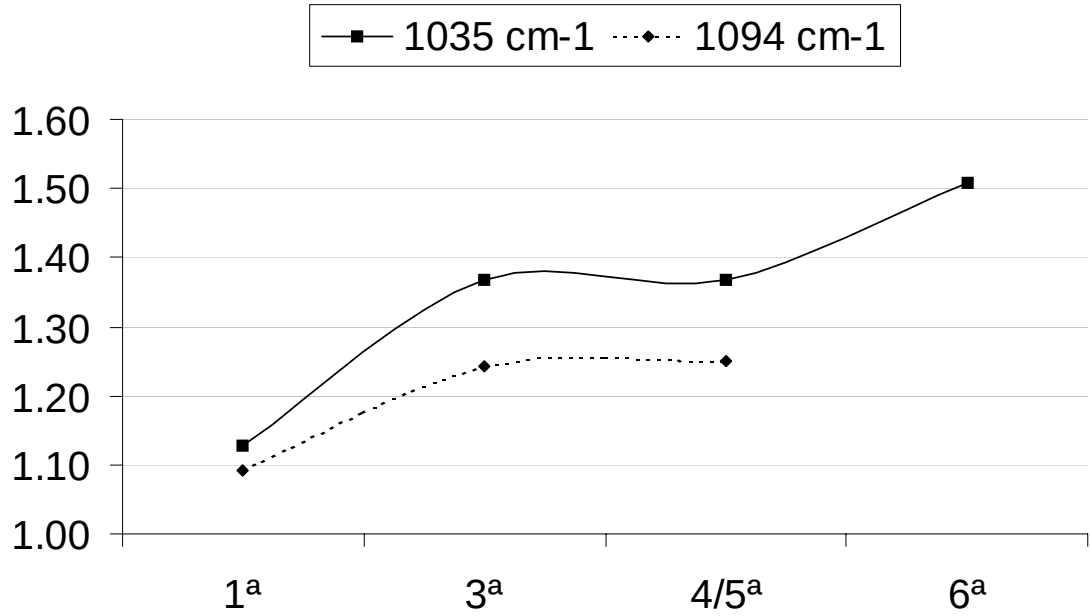


Figura 2.11. Variação da absorvância da banda C-O (1094 e 1035 cm-1) dos polissacáridos de cortiças de quatro classes de qualidade (medições em espectros normalizados a 1461 cm^{-1} (pico característico da lenhina) e a partir da absorvância a 2000 cm^{-1} igual a zero)



Para fins de classificação de qualidade, a análise das cortiças por espectroscopia de infravermelho tem a limitação de apenas medir as diferenças de composição em termos dos tecidos suberoso, lenticular e floémico presentes. A classificação industrial tem em conta outros parâmetros como sejam a extensão e as características da porosidade, a homogeneidade da espessura, ou a presença de outros defeitos, que não estão, ou podem não estar, em relação com a proporção dos diferentes tecidos nas pranchas de cortiça.

No entanto, demonstrou-se a possibilidade de reconhecer claramente por técnicas espectroscópicas no infra-vermelho (FTIR) três grupos de qualidade de cortiça, cuja utilização pode ser aplicada à análise qualitativa de pó de cortiça. Nestes estudos, a análise por FTIR permitiu distinguir as cortiças de qualidade boa, as cortiças de qualidade média/fraca e e as cortiças de qualidade muito fraca.

Por outro lado, as diferenças de absorvância dos picos entre as várias cortiças analisadas são por demais evidentes, o que sugere a possibilidade de se poder estudar a composição química das cortiças por espectroscopia de infra-vermelho (FTIR). Esta possibilidade representará um aspecto altamente vantajoso, porque as análises químicas pelos métodos tradicionais são caras e demoradas e, portanto, pouco adequadas a estudos da composição química de muitas cortiças.

2.3.3. Metodologia experimental

Para este estudo seleccionaram-se amostras de cortiça de quatro classes de qualidade (1ª, 3ª, 4ª/5ª e 6ª) classificadas industrialmente numa unidade rolheira. A amostra de tecido suberoso puro foi obtida a partir de cortiça de muito boa qualidade, separando-se manualmente o tecido suberoso puro por corte em pequenos fragmentos e inspecção visual. O pó lenticular foi obtido a partir de uma cortiça terrenta, por remoção do material de enchimento dos canais lenticulares. A amostra de tecido floémico foi obtida do próprio entrecasco, visto que o *prego* resulta da inclusão deste tecido no interior tecido suberoso.

As amostras de tecido suberoso e de entrecasco foram moídas num moinho de facas Thomas-Wiley, modelo ED-5, de forma a passar através de um crivo de malha 1 mm. Por crivagem num crivo vibratório da Retsch obtiveram-se as seguintes classes de diâmetros: 40-60 mesh; 60-80 mesh; 80-180 mesh e superior a 180 mesh.

As amostras foram sucessivamente extractadas em diclorometano, etanol e água num aparelho de Soxhlet. As amostras extractadas e não extractadas foram secas a 60 ºC durante uma noite e mantidas num exsicador com pentóxido de fósforo sob vácuo, até à sua moagem num moínho de esferas vibratório (Mixer Mill MM2, Retsch), durante 30 minutos.

Os espectros foram obtidos usando a técnica das pastilhas em KBr num espectrofotómetro Bio Rad, modelo FTS 165 com um detector DTGS com 4 cm^{-1} de resolução. As pastilhas foram obtidas misturando 1,5-2,0 mg de amostra com 350 mg de KBr num moínho de esferas vibratório (Mixer Mill MM2, Retsch), durante 20 segundos. As pastilhas foram feitas num pastilhador normalizado de 13 mm por prensagem a 10 toneladas. Os espectros foram obtidos utilizando como referência uma pastilha de KBr puro, e foram co-adicionados 64 espectros por amostra.

A manipulação dos espectros foi sempre a menor possível e a análise dos espectros dos diferentes tecidos foi feita sem alteração do espectro. Para efeito de comparação dos espectros corrigiu-se a linha de base de forma a que a absorção fosse nula a 2000 cm^{-1} e normalizaram-se os espectros a 1461 cm^{-1}.

2.4. Bibliografia

Barros, L. e H. Pereira. 1987. Influência do operador na classificação manual da cortiça por classes de qualidade. *Cortiça* 582: 103-105.

Baxes, G. 1994. *Digital image processing: principles and applications*. John Wiley & Sons, New York.

Faix, O. 1992. Fourier transformed Infrared spectroscopy in solid state. *In* Methods in Lignin Chemistry. Eds. S. Linn e C.W. Dence. Springer, Berlin.

Marques, V., H. Pereira, D. Meier e O. Faix. 1994. Quantitative analysis of cork (Quercus suber L.) and milled cork lignin by FTIR spectroscopy, analytical pyrolysis, and total hydrolysis. *Holzforschung*, 48 Suppl. 43-50.

Melo, B. e R. Pinto. 1989. Análise de diferenças nos critérios de classificação qualitativa das rolhas. *Cortiça* 601: 293-302.

Pereira, H. 1987. Composição química da raspa em pranchas de cortiça de produção amadia, *Cortiça* 587: 231-233.

Pereira, H. e C. Baptista. 1993. Influence of raw material quality and process parameters in the production of insulation cork agglomerates. *Holz Roh- Werkstoff* 51: 301-308.

Pereira, H., B. Melo e R. Pinto. 1994. Yield and quality in the production of cork stopppers. *Holz als Roh-Werkstoff* 51: 301-308

Pereira, H., F. Lopes e J. Graça. 1996. The evaluation of the quality of cork planks by image analysis. *Holzforschung* 50: 111-115.

3. Conhecimento fundamental da cortiça

3.1. Introdução

Os trabalhos sobre o conhecimento fundamental da cortiça incluiram estudos sobre a estrutura da parede celular suberificada, a composição química e as propriedades fisico-mecânicas da cortiça. Entretanto, os resultados sobre as análises químicas sumativas e sobre as propriedades físico-mecânicas das cortiças recolhidas na amostragem são apresentados no ponto1 dos resultados do projecto, o que permite a análise da sua variabilidade.

No ponto 3.2 são apresentados e discutidos os resultados sobre a estrutura das paredes celulares suberificadas. As células suberificadas constituem a massa suberosa da cortiça e, em resultado da composição e estrutura das suas paredes celulares, são as responsáveis pelas propriedades tecnológicas procuradas na cortiça. O padrão geral da estrutura e ultra-estrutura das paredes celulares é já conhecido, sendo visível ao nível do microscópio óptico uma lamela média composta, de espessura muito fina, sobre a qual está depositada a camada mais espessa da parede, a camada suberínica. Interiormente à parede secundária suberínica, uma camada fina, uma "parede terciária" delimita o lumen da célula. Ao nível do microscópio electrónico observa-se que a camada suberínica é constituída por lamelas alternadas de contraste claro-escuro.

O estudo das paredes celulares suberificadas reveste-se de grandes dificuldades práticas. Uma das principais tem a ver com a elevada impermeabilidade do tecido suberoso em relação a diferentes solventes. Deste modo é muito difícil a penetração dos meios de inclusão que vão permitir, depois de polimerizados, obter os cortes muito finos necessários para a observação microscópica. Outra dificuldade tem a ver com o facto da espessura da parede celular ser muito fina, menor que 1 μm na maior parte dos casos, o que dificulta as técnicas de coloração e a observação no microscópio óptico.

Neste projecto foi feito o estudo topoquímico da parede celular suberificada, quer dizer, o estudo da localização dentro da parede dos vários constituintes químicos. Usaram-se técnicas de microscopia óptica em conjugação com técnicas de marcação histoquímica para os três principais compostos poliméricos que constituem estas paredes celulares: suberina, lenhina e polissacáridos.

No ponto 3.3 é estudada a composição química fundamental da cortiça. Incluiu-se o estudo dos extractivos lipófilos (3.3.1), da suberina (3.3.2) e dos compostos poli-aromáticos do tipo lenhina (3.3.3).

Embora os extractivos lipófilos, também chamados "ceras" ou "gorduras" constituam uma fracção comparativamente pequena da massa seca do tecido suberoso da cortiça, correspondendo em média a 5 a 7%, um melhor conhecimento sobre a sua composição química é de especial importância por três motivos principais. Em primeiro lugar, pela função que se presume que estes extractivos gordos desempenham como reforço importante das propriedades de impermeabilização da cortiça, dada a sua hidrofobicidade. Em segundo lugar, por possuírem alguns dos precursores dos principais polímeros estruturais da parede, nomeadamente da suberina, na forma de moléculas mais pequenas, podendo ser assim uma fonte informativa importante sobre a biossíntese e estrutura desses polímeros. Em terceiro lugar, alguns dos constituintes das ceras, nomeadamente os triterpenos, possuem actividade biológica ou podem servir de base para síntese de compostos de reconhecido interesse farmacológico. Dado que os triterpenos existem nos extractivos lipófilos da cortiça em quantidades comparativamente elevadas, possuem portanto um interesse económico potencial elevado.

Os extractivos lipófilos são misturas complexas e a separação e identificação dos constituintes presentes foi feita por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS) com ionização por impacto electrónico (EI). Dada a existência nestes extractivos de compostos de massa relativamente elevada, foram desenvolvidas técnicas de cromatografia a alta temperatura para se analisarem e resolverem o maior número possível de componentes na mistura. A análise cromatográfica e espectrométrica envolveu o uso de técnicas de derivatização dos compostos presentes, nomeadamente a metilação e a trimetilsililação. Para além da análise directa tal qual do extracto, foram também analisadas as suas fracções "ácida" e "insaponificável". Como muitos dos compostos dos extractivos possuem grupos funcionais ácido carboxílico ou álcool, a separação das duas fracções após hidrólise alcalina, a "saponificação", ajuda o estudo da composição da mistura.

A suberina é a estrutura polimérica responsável em primeiro lugar pelas propriedades da cortiça e representa cerca de 50% da massa seca da cortiça livre de extractivos, ou seja, dos componentes estruturais das células de cortiça. Sabe-se já que se trata de um polímero do tipo poliéster, dado que as reacções conhecidas que quebram as ligações do tipo éster despolimerizam a suberina. Estas reacções que despolimerizam a suberina têm permitido fazer a sua quantificação global, assim como identificar muitos dos monómeros que integram a molécula.

No estudo aqui efectuado foi desenvolvida uma técnica de despolimerização e de análise por GC-MS, que permitiu não só separar e identificar os compostos de cadeia longa já anteriormente conhecidos, como também reconhecer a presença de outros monómeros relevantes para a estrutura do polímero, nomeadamente o glicerol. Foi também desenvolvida uma técnica de despolimerização parcial da suberina através da

qual foi possível serem obtidos e identificados dímeros. Estes novos conhecimentos serviram de base a uma nova proposta de modelo estrutural para a suberina.

Os compostos poliméricos aromáticos são os mais importantes a seguir à suberina nas paredes celulares da cortiça, representando cerca de 30% do material livre de extractivos. Este valor é comparável à percentagem de lenhina que existe nas células lenhosas da madeira. Estes compostos poli-aromáticos podem ser determinados como lenhina Klason, utilizando métodos de análise de madeira, mas subsistem dúvidas sobre se se tratará de um material homogéneo e quais as suas semelhanças às lenhinas conhecidas.

Os estudos aqui efectuados (3.3) permitiram responder a algumas destas questões. Foi isolada a partir destes compostos poli-aromáticos uma fracção que foi exaustivamente caracterizada por espectroscopia de FTIR, pirólise analítica, hidrólise total, e por técnicas degradativas destinadas a estudar a estrutura da lenhina, tais como a tioacidólise e a oxidação por permanganato. Estes estudos mostraram que pelo menos parte dos compostos poli-aromáticos do tecido suberoso da lenhina são uma lenhina típica.

No ponto 3.4 analisam-se as propriedades mecânicas da cortiça em compressão. Apesar de ser conhecido o comportamento da cortiça em compressão segundo diferentes direcções, a sua determinação foi feita em número limitado de amostras de cortiça, não existindo estudos sobre a variabilidade dos parâmetros da compressão da cortiça ou da influência que diferentes características da cortiça, tais como a densidade ou a qualidade, podem desempenhar.

3.2. Estrutura da parede celular

3.2.1. Introdução

A estrutura da parede celular foi estudada na perspectiva da sua topoquímica, ou seja, foi estudada a distribuição dos vários constituintes químicos ao longo da parede por técnicas de microscopia óptica. Estas técnicas envolvem a utilização de marcadores corados, mais ou menos específicos para os vários constituintes químicos presentes com vista à sua localização na parede celular.

As células suberosas felémicas da cortiça amadia dispõem-se em fiadas radiais, constituindo camadas tangenciais correspondentes aos incrementos de crescimento anuais. Cada anel anual compreende normalmente 50 a 200 células de largura, sendo esta variação a principal responsável pelas variações de espessura dos crescimentos anuais da cortiça. As células têm o seu maior comprimento na direcção radial, em média 40 μm; em algumas poucas fiadas situadas no fim do incremento anual apresentam-se tangencialmente achatadas, diminuindo a sua altura para 10 a 20 μm. Na direcção axial e tangencial as células são aproximadamente isodiamétricas, com um diâmetro de 10 a 15 μm (Pereira *et al*., 1987).

A espessura total da parede dupla de duas células confinantes é de 1 a 1,5 μm, subindo para 2 a 2,5 μm nas células de "fim de estação" (Natividade, 1934). Para a maioria das células suberosas da cortiça a sua parede individual tem pois uma espessura de 0,5 a 0,7 μm.

O interesse pela estrutura das paredes celulares suberosas remonta à segunda metade do século XIX, quando o conhecimento químico analítico da cortiça conheceu uma evolução significativa. Ao mesmo tempo começou também a ser elucidada a estrutura das paredes celulares vegetais em geral, particularmente das células lenhosas.

O primeiro modelo de estrutura para as paredes celulares suberosas foi de Van Wisselingh (1892) que continua ainda hoje na sua essência a ser válido, embora muita informação lhe tenha sido acrescentada posteriormente. Este autor, com recurso a técnicas histoquímicas e de microscopia óptica, descobriu que a suberina se depositava numa camada distinta, situada do lado interno de uma camada mais fina comum a duas células contíguas. Para esta última camada, onde encontrou celulose, utilizou a designação de "parede primária"; em termos actuais, esta designação de "parede primária" corresponderá à lamela média composta e, eventualmente, a um espaçamento secundário equivalente à primeira camada secundária. Internamente à camada de "suberina" encontrou uma membrana fina contendo celulose, a qual, depois da remoção da suberina, se apresentava em corte como um anel isolado no

lúmen da célula; a esta camada mais interna Van Wisselingh chamou "parede terciária". Esta camada terciária celulósica, embora estivesse apenas ocasionalmente presente nas células felémicas suberosas de algumas das várias espécies que estudou, estava sempre presente na cortiça. Segundo Van Wisselingh, a "parede primária" está sempre lenhificada e a "parede terciária" encontra-se frequentemente lenhificada. Este autor observou também que a camada suberínica nalguns casos apresentava uma estrutura lamelar.

Natividade (1934), também em observações ao microscópico óptico e com base em colorações diferenciais, concluiu por uma estrutura da parede celular da cortiça semelhante à proposta por Van Wisselingh. Natividade observou que o “folheto médio duplo”, comum a duas células contíguas, dava a reacção característica da lenhina. Na direcção do interior da célula seguia-se a camada suberificada, de reacções microquímicas típicas das gorduras; interiormente a camada suberificada era revestida por um folheto celulósico.

Sitte (1955), no primeiro trabalho exaustivo ao microscópio electrónico de transmissão sobre a parede celular da cortiça, concluiu que a camada suberificada não incluía, de facto, microfibrilas de celulose. A camada secundária suberínica era, aliás, facilmente separável da lamela média composta; pelo que propôs para esta forma de deposição adjacente o nome de "adcrustação" ["adkrust"].

Sitte (1955) desenvolveu um modelo para a ultra-estrutura da parede celular suberosa. Segundo este autor, na parede celular suberosa, mais externamente encontra-se a parede primária, praticamente indistinguível da lamela média comum e, portanto, considerada equivalente à lamela média composta. Esta inclui microfibrilas de celulose, formando uma rede sem, ou com ligeiro grau de orientação, o que aliás é também o caso nas células lenhosas. Esta rede celulósica encontra-se incrustada de pectinas e lenhina. Depositada sobre a parede primária, e não possuindo qualquer celulose, encontra-se a principal camada da parede, a camada suberínica. Por observação directa por contrastação com tetróxido de ósmio, e indirectamente por comportamentos ópticos, Sitte observou que esta camada suberínica era constituída por finas lamelas, alternadamente claras e escuras, variando em número de 30 a 60. No caso da cortiça, as lamelas contrastadas mais escuras, com 70 a 100 Å de espessura, foram interpretadas como correspondendo à própria molécula de suberina amorfa e as lamelas transparentes, com cerca de 30 Å de espessura, como sendo constituídas por ceras, pelo menos em parte cristalizadas.

Num trabalho publicado posteriormente, Sitte (1962) reconheceu entretanto a existência de uma "parede terciária", embora nem sempre presente, com uma espessura de cerca de 50 nm, podendo atingir um máximo 120 nm. Observa este autor que pelo seu comportamento redutor face ao $Os0_4$, esta camada não pode ser constituída apenas por celulose e incrustações de lenhina, incluindo provavelmente

taninos ou extractivos lipófilos.

Sitte (1955,1962) encontrou ainda nas paredes celulares da cortiça canais de pontuações, com 30 a 60 nm de diâmetro, normalmente em grupos e atravessando a espessura total da parede. Estes poros submicroscópicos pareciam estar obstruídos por uma substância, presumivelmente depositada depois da morte das células, a qual se dissolvia nos tratamentos oxidantes, o que indica, segundo Sitte, que a célula de cortiça continua em ligação com as células vizinhas mesmo após a deposição da lamela suberínica.

Neste trabalho utilizaram-se diversas reacções histoquímicas para a suberina, lenhina e polissacáridos (celulose), para a localização topoquímica destes constituintes nas paredes celulares da cortiça.

3.2.2. Resultados

A utilização da microscopia de luz visível e técnicas microquímicas de coloração associadas para a localização topológica dos principais constituintes nas paredes celulares suberosas, por exemplo na cortiça, tem algumas limitações: o baixo poder de resolução do microscópio óptico; a sobreposição de imagens por excesso de espessura do corte microtómico; a variabilidade da composição química dos corantes; a pouca especificidade das reacções de coloração; a interferência de alguns constituintes na coloração de outros; o desconhecimento em grande parte dos mecanismos das reacções de coloração.

As colorações histoquímicas são utilizadas como marcadores visuais duma determinada entidade histológica de interesse, no caso da microscopia óptica através da sua identificação corada. Muitas das reacções de coloração fazem recurso a tintas, cujas interacções com os constituintes bioquímicos que coram continuam a ser em boa parte desconhecidas. Tradicionalmente classificavam-se como reacções físicas, quando os corantes eram adsorvidos superficialmente, ou como reacções químicas, por exemplo atribuídas à união das tintas básicas e ácidas respectivamente com os compostos básicos e ácidos dos tecidos. A separação era feita na base do facto de algumas colorações depois de efectuadas serem facilmente extractáveis, enquanto outras não: as primeiras eram classificadas como fenómenos físicos, as segundas como fenómenos químicos. Esta separação entre reacções físicas e químicas é hoje entendida como artificial. Por exemplo, uma relação bastante estável quimicamente pode estabelecer-se entre uma quantidade de tecido mínima, de determinadas características, e uma tinta em solução que se encontra em excesso relativamente ao necessário para a reacção. Entretanto, se lavarmos o tecido corado com o solvente da tinta puro, o desequilíbrio de massa relativamente à entidade corada pode ser

suficientemente grande para reverter o sentido da reacção e a tinta passar para o solvente.

Outro factor influencia frequentemente as observações histoquímicas possíveis nas paredes celulares suberosas, aliás como noutros tecidos: a inacessibilidade de alguns componentes para reagir devida a obstrução química ou física de outros com que estão associados. Esta situação verifica-se no caso da análise química dos tecidos suberosos, e é presumivelmente extrapolável para as reacções microquímicas. Na cortiça, Pereira (1981) observou que os valores das determinações de polissacáridos e lenhina eram de 2,5 a 3 vezes superiores antes de se extrairem os constituintes suberínicos por metanólise alcalina, em comparação com as determinações efectuadas depois dessa extracção.

Os corantes usados para tentar localizar a suberina foram o Sudão IV e o Azul do Nilo. O Sudão IV trata-se de um corante diazo, incluindo a sua molécula dois grupos cromáticos -N=N-. É normalmente referido como um dos melhores corantes das gorduras. O Sudão IV é um forte cromogéneo vermelho que actua dissolvendo-se nos lípidos do tecido, dos quais pode ser prontamente lavado com tratamento com solventes da tinta, que não dissolvam os lípidos em causa (Lillie,1977). Os resultados da coloração com o Sudão IV estão apresentados na Figura 3.1.

O Azul do Nilo dissolve-se em todos os componentes gordos, actuando portanto como um corante geral das gorduras. O grupo catiónico que possui pode reagir com os grupos ácidos do tecido que, quando desse modo ligados, coram de azul. Consequentemente, fosfolípidos e ácidos gordos tingem de azul, mas o mesmo acontece também, no entanto, com outros grupos ácidos não lipídicos (Chayen *et al*., 1973). Talvez por esta razão, a utilização deste corante dá uma coloração azulada geral, não se tendo revelado apropriado para distinguir a camada suberínica nas paredes celulares da cortiça.

Para a localização da lenhina foram utilizadas as reacções de Wiesner e de Mäule. A reacção de Wiesner é baseada no Floroglucinol/HCl. O floroglucinol é um composto fenólico, tri-hidroxilado nas posições 1, 3 e 5 do anel benzénico, que juntamente com a acção de um ácido forte, dá em presença da lenhina uma cor vermelho-violeta (Johansen, 1940). O reagente contendo álcool não dá colorações tão bem delimitadas como aquele que contém apenas água, dado que o álcool espalha o corante. Em princípio, quanto mais forte o ácido mais rápida é a reacção (Crocker, 1921). Acredita-se geralmente que a reacção de Wiesner pelo floroglucinol/HCl seja devida àquela parte da molécula de lenhina que produz vanilina por degradação oxidativa, quer dizer, os grupos guaiacilo.

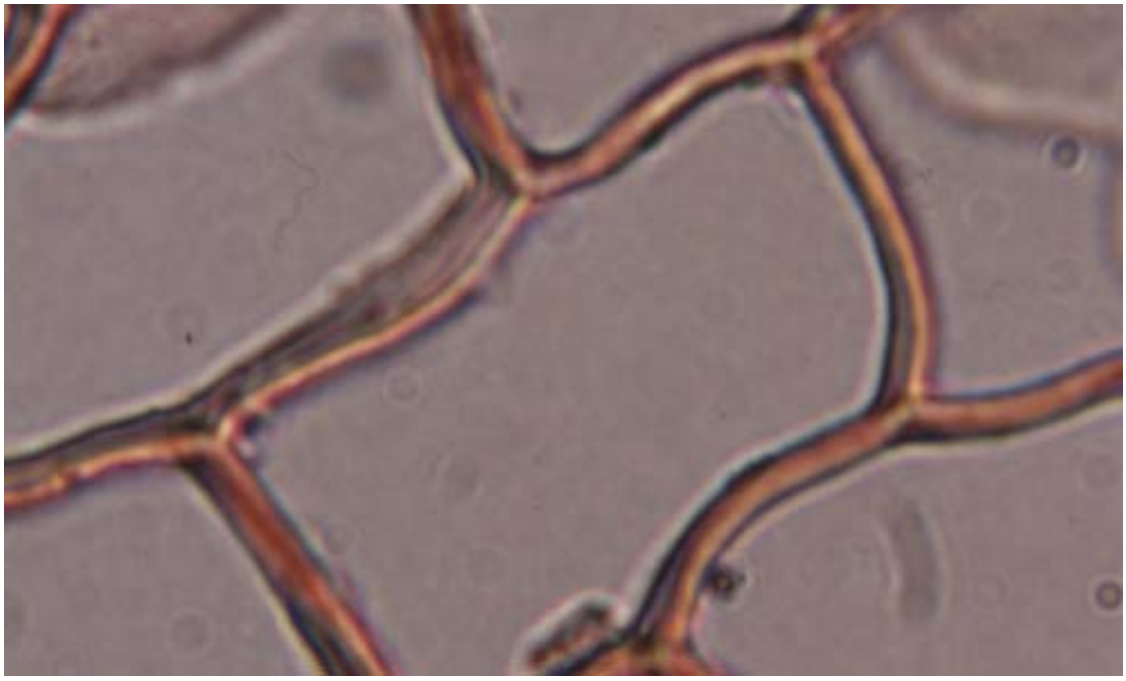


Figura 3.1 Paredes celulares da cortiça. Coloração pelo Sudão IV.

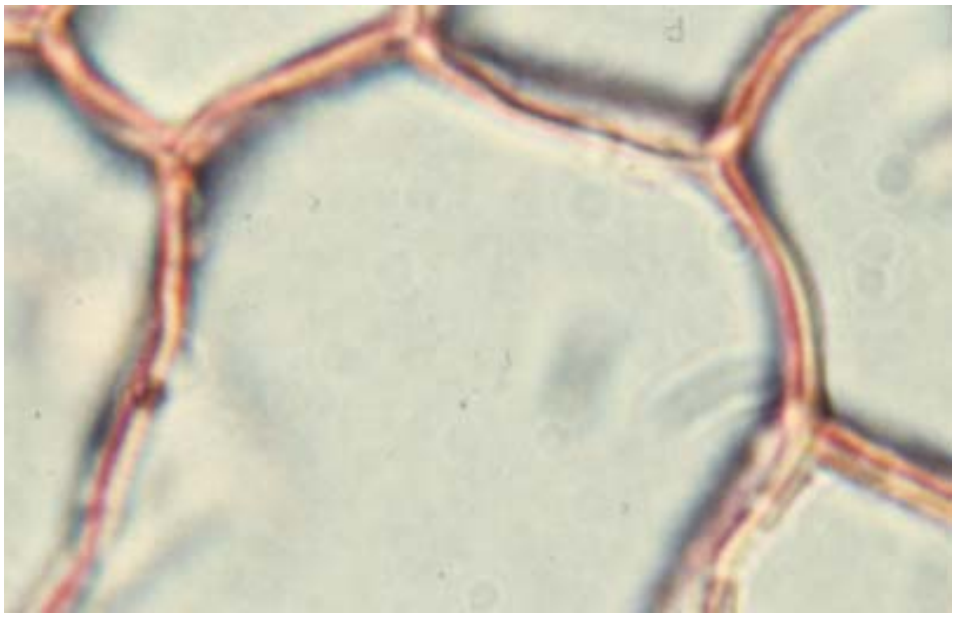


Figura 3.2 Paredes celulares da cortiça. Coloração pelo Floroglucinol/HCl.

Os resultados da coloração das paredes celulares da cortiça pelo Floroglucinol/HCl estão apresentados na Figura 3.2. É bem visível a coloração intensa da zona de ligação entre duas células adjacentes, assim como, na periferia interna, a “parede terciária” das paredes.

Na reaccão de Mäule. os cortes são primeiro colocados numa solução de permanganato de potássio, após o que se deposita o dióxido de manganésio no tecido. Depois de lavar o corte, coloca-se em ácido clorídrico diluído que vai reagir com manganésio, produzindo cloro, o qual por sua vez vai provocar a cloração do tecido. Lava-se e monta-se o corte em hidróxido de amónio concentrado. As paredes celulares lenhificadas das angiospérmicas desenvolvem uma cor vermelha intensa e as das coníferas um castanho indefinido, estas últimas com algumas excepções (Johansen, 1940). A razão para esta diferença está no facto na reacção de Mäule ser devida à parte da lenhina que origina o siringaldeído, o núcleo siringuilo, fracamente representado nas lenhinas das resinosas. Esta reacção nas paredes celulares da cortiça deu uma reacção pobre e mal definida, provavelmente indiciando que a lenhina presente é do tipo guaiacilo.

Para os polissacáridos foram utilizadas duas reacções, a do I,KI/H_2SO_4 e a ácido periódico/reagente de Schiff. A reacção do I,KI/H_2SO_4 é um teste clássico da celulose e é baseado no mesmo princípio da coloração do amido pelo I, KI. Pensa-se que o iodo se acumula dentro da molécula de celulose, mas isso só se verifica se a estrutura molecular da última for quebrada. Para tal utiliza-se um ácido forte para hidrolisar a celulose, permitindo a entrada do iodo na sua estrutura. Nas células lenhosas a celulose e as hemiceluloses coram de azul; a lenhina pode corar de laranja a amarelo; eventualmente a lamela média composta, pela presença de celulose e lenhina, apresentar-se-á verde. À medida que H_2S0_4 reage na parede, esta incha, permitindo observar a celulose mesmo em paredes fortemente lenhificadas. Os resultados da aplicação desta técnica às paredes celulares da cortiça estão ilustrados nas Figuras 3.3 e 3.4. Na primeiras destas é visível a coloração azul na lamela central da parede, assim como nas paredes confinantes internas. Na segunda é visível o inchamento dos polissacáridos pelo prolongamento da acção do ácido.

Na Figura 3.6 mostra-se a reacção desta coloração com as paredes lenhosas fortemente espessadas que se encontram na costa da cortiça. O tom amarelo-alaranjado geral reflecte a grande quantidade de polissacáridos presentes nestas células.

A reacção do ácido periódico/reagente de Schiff é um método para a localização do total dos polissacáridos nas paredes celulares. A base da reacção é a produção de aldeídos pela acção do agente oxidante, o ácido periódico, abrindo os anéis pirano no polissacárido. Para esta reacção ocorrer, os grupos hidroxilo do açúcar têm de estar livres. A cor desenvolve-se pela reacção dos aldeídos com o corante utilizado na

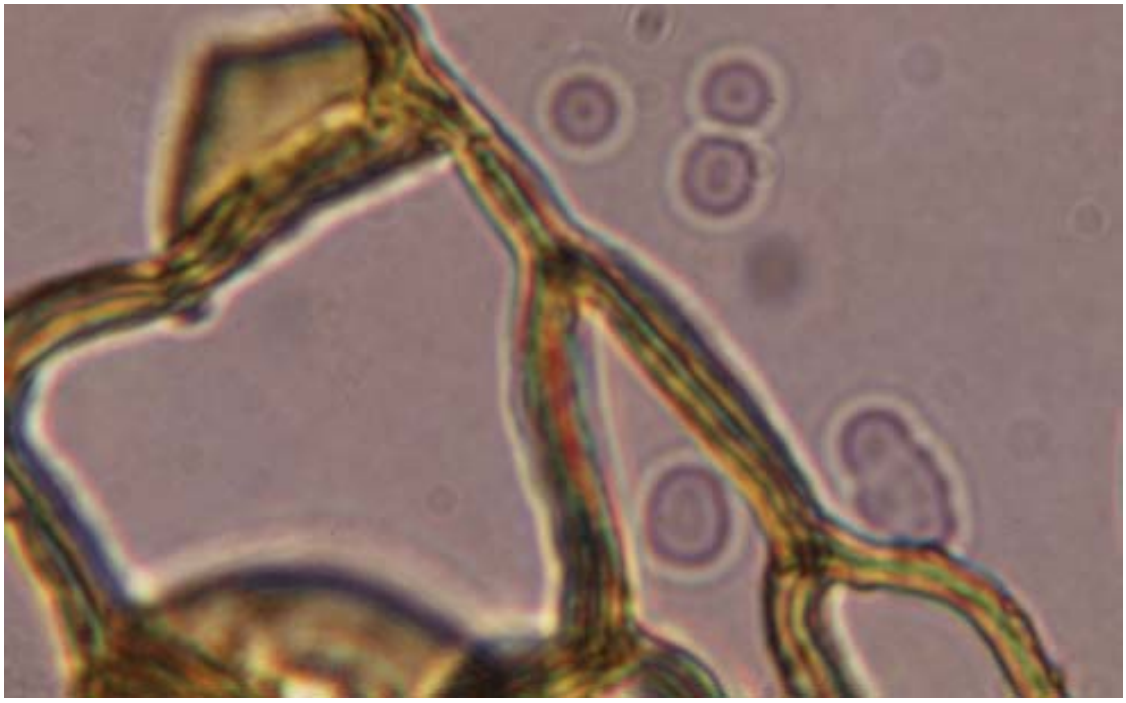


Figura 3.3. Paredes celulares da cortiça. Coloração pelo Floroglucinol/HCl.

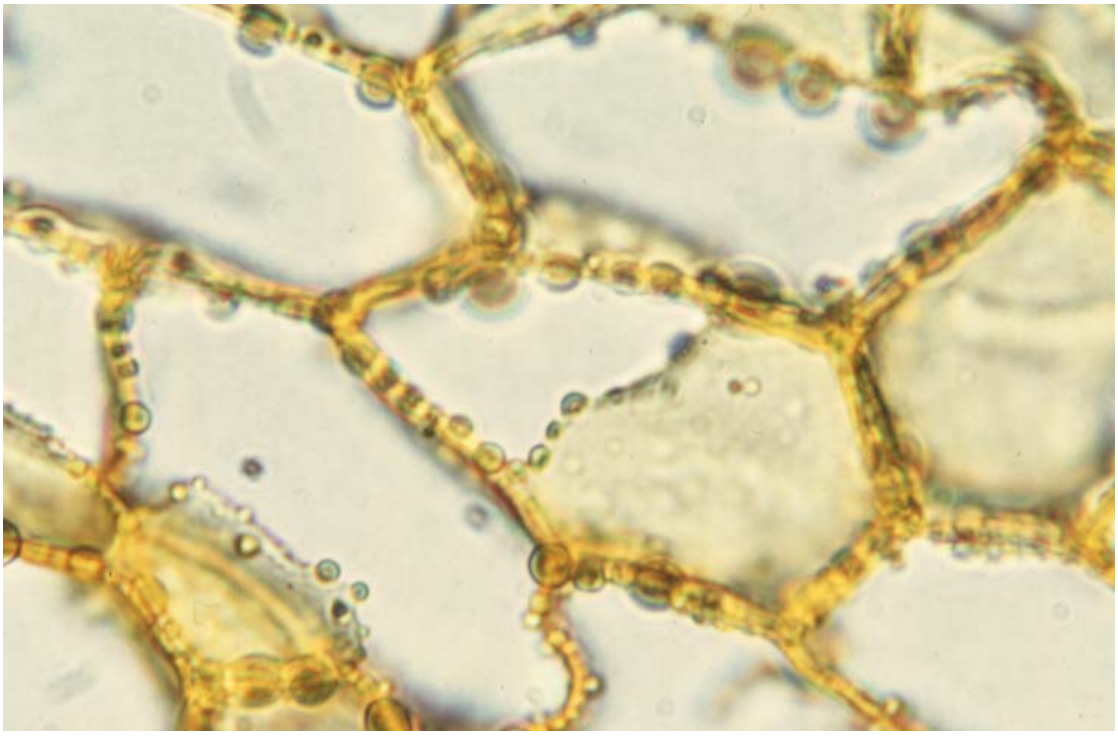


Figura 3.4. Paredes celulares da cortiça. Coloração pelo I,KI/H_2SO_4.

Figura 3.5. Paredes celulares da cortiça. Coloração pelo Ácido Periódico/Reagente de Schiff.

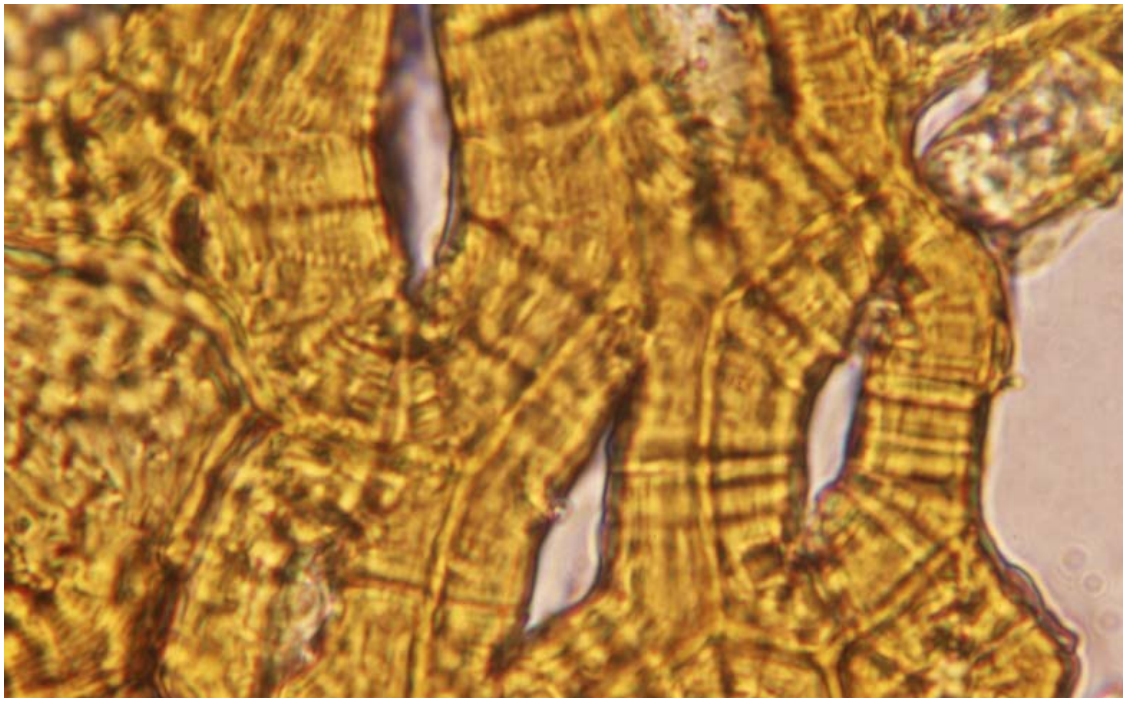


Figura 3.6. Paredes celulares lenhificadas da costa da cortiça. Coloração pelo Ácido Periódico/Reagente de Schiff.

confecção do reagente Schiff, a pararosanilina. Em solução ácida com um excesso de $S0_2$, o corante é transformado em ácido *N*-sulfónico, incolor, o qual forma complexos altamente corados com os aldeídos de cor vermelho púrpura (Jensen, 1962).

A reacção do APS é tida como altamente apropriada para histoquímica dado que não envolve a quebra das cadeias dos polissacáridos, se conhece a base da reacção, e dá uma cor intensa e estável. Como inconveniente tem a não especificidade, dado poder reagir também com grupos aldeído da lenhina. Presumivelmente por esta última razão, a sua reacção com as paredes celulares da cortiça mostra pouca especificidade, corando toda a parede, embora evidenciando a camada central e as camadas internas da parede (Fig. 3.5).

As técnicas histoquímicas aplicadas às paredes celulares da cortiça para a localização topoquímica dos principais constituintes presentes, no seu conjunto deram resultados próximos dos referenciados na literatura. Uma camada central divide as duas paredes celulares contíguas. Esta camada tem reacções positivas para as colorações da lenhina guaiacílica e dos polissacáridos. Esta camada presumivelmente equivale à lamela média composta, englobando a lamela média lenhificada e as paredes primárias, lenhino-celulósicas.

A maior parte da parede é constituída por uma camada com as reacções típicas das gorduras, incluindo portanto a suberina, e constituindo uma camada secundária suberínica. A descoberta das semelhanças químicas entre a suberina da cortiça e as gorduras em sentido estrito, estruturas gliceril-acilo, foi aliás outro dos resultados obtidos no âmbito deste projecto (ver 3.3.2). Os testes histoquímicos não excluem a presença nesta camada secundária de compostos de natureza diversa das gorduras, que poderão, ou não, ser incluídas sob a designação de suberina.

Interiormente à camada suberínica observa-se uma outra camada mais fina com reacções positivas também para a lenhina e polissacáridos. Constituirá uma camada terciária de reforço mecânico à camada mais espessa suberínica.

3.2.3. Metodologia experimental

Os cortes histológicos de cortiça foram preparados com cerca de 10 μm de espessura, após inclusão da cortiça em glicolmetacrilato (Historesin). Os cortes são coladas às lâminas pela adesão do próprio filme.

As técnicas histológicas de marcação histoquímicas utilizadas, foram as seguintes:

Sudão IV [C.I.nr. 26105, nome C.I., *Solvent Red 24].* Os cortes foram colocados numa

solução saturada deste corante em etanol a 70% durante 20 minutos, após o que foram lavados em etanol a 50% para retirar o excesso de corante. A montagem da lamela foi feita com uma gota de glicerina para observação.

Azul do Nilo [C.I.nr. 51180, nome C.I., *Basic Blue 12].* As soluções necessárias – Azul do Nilo 1%, ácido acético 1%, e água – foram aquecidas a 60 ºC antes do início da reacção. Os cortes foram colocados na solução corante durante 5 minutos e lavados rapidamente a seguir na água quente. Foram colocados 30 segundos na solução de ácido acético e lavados de novo com a água quente. A montagem foi feita com uma gota de glicerina.

Reaccão de Mäule. Os cortes foram colocados numa solução de $KmnO_4$ a 0,5% durante 8 minutos, após o que foram lavados em água. Uma descoloração foi feita em HCl 2% (5 a 7 minutos) e de novo lavados com água. A montagem na lamela foi feita com algumas gotas de hidróxido de amónia concentrado.

Floroglucinol/Hcl (Reacção de Wiesner). Sobre os cortes numa lâmina foi colocada uma gota grande de uma solução de floroglucinol a 1% em etanol 95%, e colocada uma lamela em cima. Depois de se deixar parte da solução evaporar, difundiu-se poe debaixo da lamela uma solução de HCl a 25%.

Ácido Periódico/Reagente de Schiff: APS. Os cortes foram colocados numa solução de ácido periódico a 0,5% durante 20 minutos e lavados a seguir em água corrente. Foram colocados no reagente de Schiff (Merck) durante 15 minutos e de novo lavados em água corrente. Os cortes foram depois colocados na solução de I, KI (1%+1% em água). Os cortes foram desidratados em etanol absoluto, o álcool lavado com xilol e a montagem da lamela feita com Entellan (Merck).

I/KI/H_2SO_4. Os cortes foram colocados na solução de I, KI (1%+1% em água) durante 15 minutos. A lamela foi montada e pela sua periferia foi deixada difundir uma gota de H_2SO_4 a 70%. A observação foi prolongada ao longo de vários minutos.

Estas preparações histoquímicas foram observadas e fotogradas num microscópio óptico com fotomicrografia acoplada Leica.

3.3. Composição química fundamental

3.3.1. Extractivos lipófilos

3.3.1.1. Introdução

Os extractivos lipófilos da cortiça são os compostos que é possível retirar por extracção com um solvente de baixa polaridade. Os solventes tipicamente usados para este fim são o hexano, o éter, o diclorometano ou o clorofórmio. Estes solventes extraem os compostos que lhes são afins em termos de polaridade, ou seja, compostos de baixa polaridade. Nestes incluem-se as "gorduras" e as "ceras". Trata-se de compostos de cadeias hidrocarbonadas, sem grupos funcionais (hidrocarbonetos) ou com funções álcool (alcoóis gordos) ou ácido (ácidos gordos). As cadeias hidrocarbonadas podem ser lineares (alifáticos acíclicos) ou em anel (alifáticas cíclicas), estas últimas abundantes na cortiça na forma pentacíclica (por exemplo esteróis e triterpenos). Os grupos álcool e ácido podem-se encontrar livres ou ligados sob a forma de ésteres. Os ésteres dos ácidos de cadeia hidrocarbonada longa com o glicerol (os acilgliceróis, que constituem as gorduras típicas) ou com alcóois de cadeia longa (que constituem as ceras éster) são comuns nestes extractivos. Também os compostos que incluem uma parte aromática (ácidos fenólicos), sobretudo se esterificada com uma parte gorda, fazem parte destes extractivos. Estes extractivos designam-se por "lipófilos", pela sua semelhança estrutural ou de comportamento no que diz respeito à sua solubilidade, com as gorduras ("lípidos").

A cortiça, quimicamente, foi dos primeiros materiais vegetais a serem estudados. Alguns dos principais constituintes dos extractivos foram parcialmente caracterizados ainda no século XIX e os respectivos nomes triviais datam desse tempo. É o caso dos triterpenos cerina, que deve o seu nome ao facto de ser um dos principais constituintes das ceras da cortiça, e friedelina, nome dado em honra do químico Friedel. Uma revisão dos conhecimentos sobre a química dos extractivos lipófilos da cortiça encontra-se feita até 1990 (Graça, 1990). Existem também estudos sobre a composição dos extractivos lipófilos da cortiça, incluindo o isolamento de alguns dos seus triterpenos dominantes, o estudo da sua actividade biológica, e a modificação sintética com vista a servirem de intermediários na produção de produtos de interesse farmacológico (Mata *et al*., 1990).

O estudo aqui realizado sobre os extractivos lipófilos diz respeito aos extractivos presentes no tecido suberoso da cortiça, previamente separado de outros componentes. A obtenção do extracto pelo diclorometano foi feita numa montagem Soxhlet, onde a extracção é feita a uma temperatura ligeiramente inferior à temperatura de ebulição do solvente (41ºC). O extracto foi analisado tanto

directamente como após hidrólise alcalina, onde foram analisadas as duas fracções resultantes, a fraccão ácida e a fracção insaponificável.

A separação da fracção ácida (compostos com pelo menos um grupo ácido carboxílico) da fracção insaponificável (compostos neutros ou apenas com grupos álcool) permite uma separação prévia destes dois grupos de constituintes, o que é útil nas misturas muito complexas, como é o caso destes extractivos lipófilos. Também a composição de compostos ésteres eventualmente presentes pode ser assim analisada.

A separação individual dos componentes das várias misturas consideradas foi feita por cromatografia gasosa (GC). Esta separação supõe a volatilidade dos compostos nas temperaturas de trabalho possíveis, até um máximo de cerca de 350 °C. Para aumentar a volatilidade (e diminuir a polaridade) os grupos funcionais livres têm de ser derivatizados, pelo que os grupos ácido carboxílico foram metilados e transformados em ésteres metílicos e os grupos álcool livres (hidroxilos) foram trimetilsililados e transformados em éteres trimetilsilílicos. A eluição dos compostos de maior peso molecular, sobretudo os ésteres presentes no extracto analisado directamente, obrigaram ao uso de fases estacionárias nas colunas cromatográficas de filme fino e de elevada temperatura.

A identificação dos vários compostos separados cromatograficamente foi feita através dos seus espectros de massa de impacto electrónico (EIMS), obtidos pela ligação do espectrómetro de massa à saída da coluna (GC-MS). A identificação dos espectros de massa foi feita ou pelo uso de bibliotecas de espectros (Wiley 6), ou pela informação disponível na literatura, ou pela produção dos espectros a partir de padrões adquiridos, ou pela interpretação dos próprios espectros. Alguns dos compostos separados não puderam ser identificados.

A quantificação dos vários compostos separados nas misturas foi feita a partir dos cromatogramas com recurso à adição de padrões internos. Foram usados dois padrões internos, cada um com uma estrutura próxima dos duas principais famílias de estruturas químicas presentes: para a quantificação dos compostos de cadeia longa, foi usado o ácido tricosanóico e para a quantificação dos esteróis e triterpenóides foi utilizado o colesterol. Na análise do extracto directo foram utilizados os dois padrões internos, na fracção ácida apenas o ácido tricosanóico e na fracção insaponificável apenas o colesterol.

3.3.1.2. Resultados

O total de extractivos lipófilos em diclorometano tem um valor médio de 14,5 %. No Quadro 3.1 estão agregados os resultados das várias famílias de compostos presentes nos extractivos, analisados directamente, ou após a separação nas fracções ácida e insaponificável. Os resultados obtidos na análise das três fracções dos extractivos lipófilos estão presentes nos Quadros 3.2 (extracto directo), 3.3 (fracção insaponificável) e 3.4 (fracção ácida) onde se indicam quais os compostos separados e a sua quantidade relativa em partes por mil. Apresentam-se exemplos dos cromatogramas das três separações nas Figuras 3.8, 3.9 e 3.10. A identificação dos picos nos cromatogramas pode ser feita pelos tempos de retenção, igualmente indicados nos Quadros que listam os compostos.

Três grupos principais de constituintes compõem os extractivos lipófilos da cortiça: alifáticos acíclicos, triterpenóides cíclicos e ésteres. Os compostos alifáticos acíclicos são moléculas de cadeia hidrocarbonada longa, que podem ser divididas em dois grandes grupos: os *n*-alcanóis (alcoóis gordos) e os ácidos do tipo suberínico, ou seja, ácidos carboxílicos iguais aos que se obtêm após a despolimerização da suberina. Os triterpenóides são também compostos alifáticos de cadeias hidrocarbonadas, mas na sua maioria cíclicos, com 28-30 carbonos, normalmente constituídos por 4 ou 5 anéis de 6 carbonos ou, por vezes, de 5 carbonos. Os compostos éster têm uma ligação entre um grupo ácido carboxílico e um grupo álcool, incluindo também componentes aromáticos.

Conforme se pode ver no Quadro 3.1, os triterpenóides correspondem a cerca de 2/3 do total dos extractivos lipofílicos extraídos pelo diclorometano da cortiça. Destes, apenas uma pequena parte são esteróis, sendo a maior parte os triterpenos propriamente ditos. O segundo grupo em importância é o dos compostos alifáticos acíclicos. Dentro destes últimos, cerca de 2/3 são alcóois gordos e o restante maioritariamente ácidos gordos do tipo suberínico. Os hidrocarbonetos (*n*-alcanos), embora abundantemente citados na literatura, encontram-se em quantidades diminutas. Os ésteres representam o terceiro grupo em termos quantitativos, com pouco menos de 10% do total dos extractivos quantificados. No entanto não é de excluir que a sua representatividade real seja superior a este valor, dado que se trata de moléculas de maior tamanho e estruturalmente diferentes dos padrões internos utilizados pelo que a sua quantificação pode ter sido feita por defeito. Também é possível que alguns dos compostos dos extractivos não sejam eluídos nas condições cromatográficas utilizadas, como é potencialmente o caso dos ésteres de peso molecular mais elevado.

Cerca de 5% do total dos extractivos são ácidos suberínicos que constituem a grande maioria da fracção ácida. Estes ácidos, presentes nos extractivos na forma livre, e que

integram igualmente como monómeros a estrutura polimérica da suberina, podem ser resíduos metabólicos do processo de construção do polímero.

Quadro 3.1. Quadro resumo dos extractivos pelo diclorometano da cortiça (valores em % do total de cada fracção).

	Extracto Directo	Fracção insaponificável	Fracção ácida
Alifáticos acíclicos	16.6	27.1	83.0
Ácidos suberínicos	5.2		82.6
Alcoóis gordos	11.0	26.9	
Triterpenóides cíclicos	65.5	70.2	
Esteróis	6.8	5.6	
Friedelina	24.7	23.7	
Cerina	17.8	12.7	
Betulina	(1)	17.8	
Triterpenóides não identificados	14.0	10.4	
Ésteres	8.1		
Glicéridos	0.9		
Aromático-alifáticos	7.2		
Outros e não identificados	9.8	2.7	17.0
Total	100.0	100.0	100.0

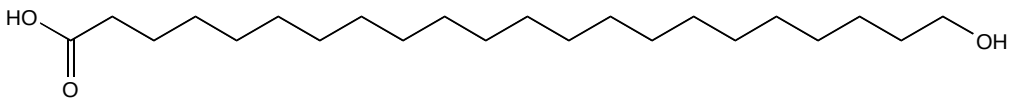
(1) Cerina e betulina não separados cromatograficamente.

Embora se encontrem praticamente todos os ácidos suberínicos que aparecem na constituição da suberina, com a excepção notável dos epoxiácidos, estes não se encontram nas mesmas proporções em que se encontram na suberina. Nos extractivos existe uma larga predominância dos ω-hidroxiácidos, particularmente no comprimento C22, o ácido 22-hidroxidocosanóico (Figura 3.7 **(1)**), enquanto que na suberina os α,ω-diácidos são dominantes.

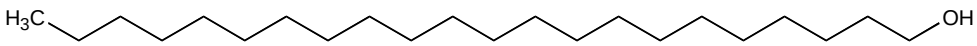
Os alcoóis gordos, *n*-alcanóis, encontram-se em quantidades significativas nestes extractivos: 11% no extracto directo e 27% na fracção insaponificável. Os comprimentos de cadeia dominantes são em C22, docosanol **(2)** e C24, tetracosanol.

Figura 3.7. Estrutura química de alguns dos principais contituintes dos extractivos lipófilos (extracto em diclorometano) da cortiça.

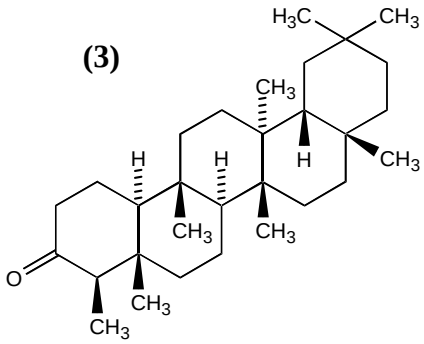
(1)



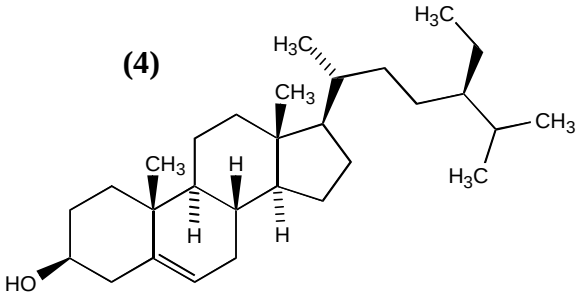
(2)



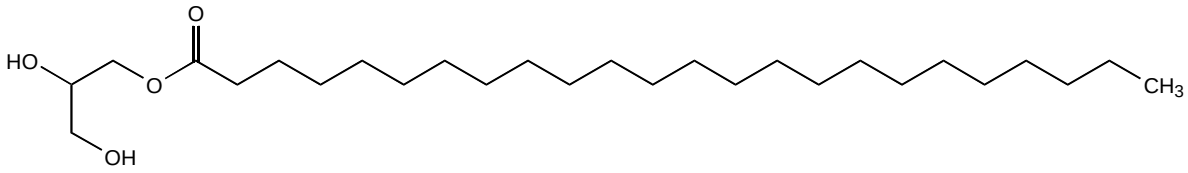
(3)



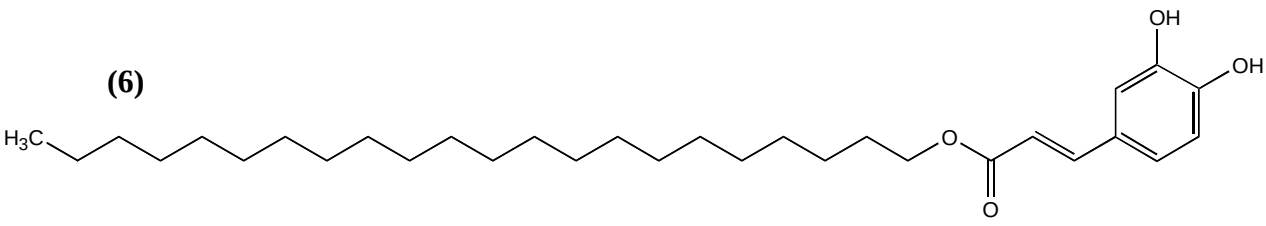
(4)



(5)



(6)



A quantidade relativa mais elevada de alcoóis gordos no insaponificável traduz o facto de estes aparecerem também a constituir os compostos ésteres, sendo libertados após a hidrólise.

As estruturas cíclicas do tipo triterpenóide constituem a maior parte do extracto pelo diclorometano da cortiça. Entre estas, a friedelina **(3)** é dominante, constituíndo cerca de 25% do total do extracto. Outro triterpeno do tipo friedelano, a cerina, existe também em quantidades apreciáveis, cerca de 13% na fracção insaponificável. Nesta fraccão, a cerina está modificada pela constituição de uma insaturação num dos seus anéis, que se forma por acção da hidrólise. Na análise directa do extracto não foi possível separar cromatograficamente a cerina do outro triterpeno igualmente muito significativo, a betulina. A betulina, um triterpeno do tipo lupano, constitui cerca de 18% da fracção insaponificável, sendo portanto o segundo em importância a seguir à friedelina. Os triterpenóides do tipo esterol constituem 6 a 7% do total dos extractivos, em grande parte constituídos por β-sitosterol **(4)**.

Os compostos com estrutura éster que foram encontrados nos extractivos lipófilos, correspondendo a cerca de 8 % do total do extracto, parecem também ser resíduos metabólicos da síntese da suberina. Foram encontrados dois tipos de ésteres: ésteres glicerídicos e ésteres alifático-aromáticos. Os primeiros são 1-monoacilgliceróis de ácidos suberínicos, nomeadamente de ácidos 1-alcanóicos **(5)** e ω-hidroxiácidos. Os segundos são ésteres de *n*-alcanóis com ácidos cinâmicos **(6)**. Ambos são estruturas diméricas idênticas às encontradas no polímero suberínico, conforme discutido em 3.3.2.

3.3.1.3. Metodologia experimental

Utilizou-se cortiça amadia de boa qualidade, crua, que foi cortada em pedaços pequenos de poucos milímetros. Os pedaços constituídos apenas por tecido suberoso foram separados visualmente e guardados para análise. Este material foi moído num moínho de facas e seguidamente num moínho ultracentrífugo, crivado e a fracção 40-60 mesh recuperada para análise. Este pó de cortiça foi seco, em estufa a 45 °C e sob vácuo.

Esta cortiça foi extractada num aparelho Soxhlet com diclorometano durante 4 horas. O extractado foi concentrado sob baixa pressão e removido o solvente remanescente e seco em estufa de vácuo a baixa temperatura.

O extracto seco pelo diclorometano foi utilizado tal qual para a análise directa, após metilação e trimetilsililação. A metilação foi feita com uma solução etérea de diazometano, após dissolução do extracto em éter-metanol. Antes da metilação foi adicionada na solução do extracto quantidades conhecidas de ácido tricosanóico

(éster metílico) e colesterol como padrões internos. Após levar de novo à secura sob um fluxo de azoto, a trimetilsililação foi levada a cabo com BSTFA com 1% de TMCS (*N,O-Bis*(trimetilsilil)trifluoroacetamida com 1% trimetilclorosilano) em estufa a 60 °C durante 20 minutos. As soluções assim preparadas foram imediatamente injectadas num GC-MS nas condições abaixo descritas.

As fracções ácida e insaponificável foram obtidas após hidrólise alcalina do extracto. A hidrólise foi efectuada com 0,5 M KOH em etanol/água 9:1. À solução de hidrólise foram adicionadas quantidades conhecidas de ácido tricosanóico (éster metílico) e colesterol como padrões internos. A mistura de hidrólise foi levada quase à secura e partilhada entre água e clorofórmio num balão de decantação. As fases foram separadas e a fase aquosa lavada mais duas vezes com clorofórmio. O solvente das fases orgânicas juntas foi evaporado e o resíduo levado à secura nas condições atrás descritas, originando a fracção insaponificável. Esta foi metilada e trimetilsililada do modo descrito para o extracto directo.

À fase aquosa da pós-hidrólise foi adicionado um indicador (verde de bromocresol, 0,1% em etanol) e acificada com H_2SO_4 0.25 M. A mudança de cor de azul para laranja-amarelado indica a acidificação a pH 4,8. A fase aquosa foi depois extractada com clorofórmio três vezes. As fases orgânicas juntas foram tratadas do mesmo modo atrás descrito, constituindo a fracção ácida do extracto.

As análises por cromatografia gasosa-espectrometria de massa foram feitas num GC-MS TRIO 1000, numa coluna SGE HT-5 de 25 m (0,22 mm de diâmetro interno e 0,10 μm de espessura de filme), com cerca de 10 psig de pressão de hélio na cabeça da coluna. As condições cromatográficas foram as seguintes: extracto directo, 150 °C (5 min.), 2.5 °C/min até 275 °C, 2 °C/min. até 325 °C (15 min.), injector 325 °C; fracção insaponificável 150 °C (5 min.), 4 °C/min até 280 °C, 1.5 °C/min. até 310 °C (15 min.), injector 300 °C; fracção ácida 150 °C (5 min.), 3 °C/min até 300 °C (15 min.), injector 300 °C. As condições do espectrómetro de massa foram: temperatura da fonte 200 °C, energia de ionização 70 eV.

Quadro 3.2. Extractivos lipófilos da cortiça no extracto pelo diclorometano.

Rf (min.)	Compostos separados	‰
5.50	Ftalato (Contaminação)	5.5
7.75	Tetradecan-1-ol (*n*-Alcanol C14)	0.1
8.75	Octadecano (*n*-Alcano C18)	2.4
9.75	Ácido 3-metoxicinâmico [*cis*, Éster metílico, éter metílico] (Ácido ferúlico)	1.1
10.00	*n*-Alcano (?)	<0.1
11.46	Ftalato (Contaminação)	1.4
12.05	Ácido hexadecanóico (Ácido alcanóico C16)	5.7
12.18	Hexadecan-1-ol (*n*-Alcanol C16)	8.2
12.28	Ácido 3-metoxicinâmico [*trans*, Éster metílico, éter metílico] (Ácido ferúlico)	1.2
13.13	*n*-Alcano (?)	0.3
13.63	Ftalato (Contaminação)	2.7
14.13	Ácido heptadecanóico (Ácido alcanóico C17)	0.8
15.08	Ácido 3,4-dimetoxicinâmico [Éster TMSi, Éter TMSi] (Ácido sinápico]	0.6
15.50	Ácido octadec-9-enóico (Ácido oleico, C18)	2.7
16.10	Octadecan-1-ol (*n*-Alcanol C18)	16.4
16.33	Desconhecido	2.4
17.03	*n*-Alcano (?)	0.8
18.83	Ácido hexadecano-1,16-dióico (α,ω-Diácido C16)	0.6
19.61	Eicosan-1-ol (*n*-Alcanol C20)	7.4
19.73	Ácido eicosanóico (Ácido alcanóico C20)	0.9
21.35	Adogen 73 (Contaminação)	13.5
21.51	Ácido 18-hidroxioctadec-9-enóico (ω-Hidroxiácido C18 mono-insaturado)	2.5
21.68	Ácido Octadec-9-eno-1,18-dióico (α,ω-Diácido C18 mono-insaturado)	2.1
22.88	Docosan-1-ol (*n*-Alcanol C22)	39.6
23.08	Ácido docosanóico (Ácido alcanóico C22)	8.7
23.78	Ftalato (Contaminação)	8.4
24.36	Tricosan-1-ol (*n*-Alcanol C23)	1.1
24.68	Ácido tricosanóico (Padrão interno)	
25.16	Ácido 20-hidroxieicosanóico (ω-Hidroxiácido C20)	<0.1
25.86	Tetracosan-1-ol (*n*-Alcanol C24)	32.1
26.10	Ácido 9,10-dihidroxioctadecano1,18-dióico (α,ω-Diácido C18 *vic*-diol)	13.1
	Ácido tetracosanóico (Ácido alcanóico C24)	
27.23	Pentacosan-1-ol (*n*-Alcanol C25)	0.4
27.58	Ácido pentacosanóico (Ácido alcanóico C25)	0.1
28.05	Ácido 22-hidroxidocosanóico (ω-Hidroxiácido C22)	6.6
28.36	Ácido Docosano-1,22-dióico (α,ω-Diácido C22)	1.8
28.60	Hexacosan-1-ol (*n*-Alcanol C26)	4.5
28.98	Ácido Hexacosanóico (Ácido alcanóico C26)	1.6
29.20	Ácido 22-hidroxidocosanóico [Éster TMSi] (ω-Hidroxiácido C22)	1.0
30.15	Heptacosan-1-ol (*n*-Alcanol C27)	0.3
30.77	Ácido 24-hidroxitetracosanóico (ω-Hidroxiácido C24)	3.2
31.28	Octacosan-1-ol (*n*-Alcanol C28)	0.2

Quadro 3.2. Extractivos lipófilos da cortiça [Continuação].

Rf (min.)	Compostos separados	‰
32.32	Colesterol (5-Colesten-3β-ol; Padrão interno)	
32.65	Desmosterol (5,24-Colestadien-3β-ol; Contaminação do padrão interno)	
33.33	Ácido 26-hidroxihexacosanóico (ω-Hidroxiácido C26)	0.6
33.68	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 496)	20.7
33.85	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 496)	7.4
34.32	1-monotetracosanoilglicerol (Monoacilglicerol do ácido alcanóico C24)	3.0
34.85	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 496)	20.7
35.00	β-sitosterol (5-Estigmasten-3β-ol)	42.9
36.17	1-mono-(22-hidroxidocosanoil)-glicerol (Monoacilglicerol do ω-hidroxiácido C22)	2.6
36.45	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 498)	18.6
37.17	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 422)	2.0
37.48	1-monohexacosanoilglicerol (Monoacilglicerol do ácido alcanóico C26)	3.3
37.83	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 514)	1.8
38.10	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 500)	13.8
38.83	Cerina (2β-Hidroxifriedooleanan-3-ona)	177.8
	Betulina (Lup-20[29]-eno-3β,28-diol)	
39.58	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 542)	11.7
39.85	β-sitostenona (4-Estigmasten-3-ona)	24.9
40.25	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 512)	20.9
40.70	Octadecanil-(3,4-Dihidroxicinamato) (Cafeato do *n*-alcanol C18) [Éter dimetílico]	0.9
41.13	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 498)	18.7
41.77	Friedelina (Friedooleanan-3-ona)	246.6
43.34	Triterpenóide (Isómero da cerina (?), massa molar do derivado TMSi: 514)	10.2
44.22	28-Hidroxifriedooleanan-3-ona (Canofilol)	11.5
44.52	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 516)	1.1
44.74	Eicosanil-(3,4-Dihidroxicinamato) (Cafeato do *n*-alcanol C20) [Éter dimetílico]	9.8
44.85	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 514)	2.8
49.15	Docosanil-(3,4-Dihidroxicinamato) (Cafeato do *n*-alcanol C22) [Éter dimetílico]	35.8
53.52	Tetracosanil-(3,4-Dihidroxicinamato) (Cafeato do *n*-alcanol C24) [Éter dimetílico]	23.5
57.79	Hexacosanil-(3,4-Dihidroxicinamato) (Cafeato do *n*-alcanol C26) [Éter dimetílico]	2.1
58.27	Dissacárido (?)	2.5
59.42	Dissacárido (?)	27.5
	Outros	32.18

Quadro 3.3. Extractivos lipófilos da cortiça (extracto pelo diclorometano). Fracção insaponificável após hidrólise.

Rf (min.)	Compostos separados	‰
5.73	Octadecano (*n*-Alcano C18)	1.9
9.30	Hexadecan-1-ol (*n*-Alcanol C16)	6.0
13.96	Octadecan-1-ol (*n*-Alcanol C18)	12.4
14.23	Desconhecido	3.5
18.33	Eicosan-1-ol (*n*-Alcanol C20)	19.7
20.36	Heneicosan-1-ol (*n*-Alcanol C21)	6.7
22.45	Docosan-1-ol (*n*-Alcanol C22)	108.5
24.20	Tricosan-1-ol (*n*-Alcanol C22)	2.9
26.15	Tetracosan-1-ol (*n*-Alcanol C24)	88.7
27.08	Desconhecido	1.9
27.78	Pentacosan-1ol (*n*-Alcanol C25)	2.4
29.53	Hexacosan-1-ol (*n*-Alcanol C26)	20.7
31.15	Heptacosan-1-ol (*n*-Alcanol C27)	0.2
32.81	Octacosan-1-ol (*n*-Alcanol C28)	0.5
33.95	Colesterol (5-Colesten-3β-ol; Padrão interno)	
34.35	Desmosterol (5,24-Colestadien-3β-ol; Contaminação do padrão interno)	
35.43	Campesterol (24α-Metil-5-colesten-3β-ol)	1.0
36.78	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 498)	1.9
37.00	β-sitosterol (5-Estigmasten-3β-ol)	48.3
37.15	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 498)	2.9
37.53	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 498, derivado da friedelina ?)	0.7
37.67	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 408)	2.5
38.65	Triterpenóides (Massa molar do derivado TMSi: 588)	24.8
39.45	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 422)	3.2
39.78	Eritrodiol	6.9
40.05	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 520)	2.6
40.47	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 500)	8.6
41.60	Betulina (Lup-20[29]-eno-3β,28-diol)	177.6
42.13	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 600)	5.0
42.90	Triterpenóide (Isómero da friedelina ?)	7.5
43.05	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 512)	13.2
44.72	Friedelina (Friedooleanan-3-ona)	237.3
46.08	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 498)	1.5
46.72	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 514)	2.7
47.12	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 512, derivado da cerina ?)	14.5
47.82	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 426)	10.3
48.98	Derivado da hidrólise da cerina (2β-Hidroxifriedooleanan-3-ona)	126.6
52.08	Triterpenóide (Massa molar do derivado TMSi: 600)	2.3
	Outros	22.1

Quadro 3.4. Extractivos lipófilos da cortiça (extracto pelo diclorometano). Fracção ácida após hidrólise.

Rf (min.)	Compostos separados	‰
8.11	Desconhecido	6.2
9.00	Ftalato (Contaminação)	4.7
14.23	Ácido 3-metoxicinâmico [*cis*, Éster metílico, éter metílico] (Ácido ferúlico)	4.2
15.96	Ftalato (Contaminação)	2.5
16.51	Ácido 12-hidroxidodecanóico (ω-Hidroxiácido C12)	5.3
18.16	Ácido hexadecanóico (Ácido alcanóico C16)	5.0
18.55	Ácido 3-metoxicinâmico [*trans*, Éster metílico, éter metílico] (Ácido ferúlico)	21.5
23.78	Ácido 14-hidroxitetradecanóico (ω-Hidroxiácido C14)	0.6
24.25	Desconhecido	1.5
25.53	Ácido octadecanóico (Ácido alcanóico C18)	4.7
30.70	Ácido 16-hidroxihexadecanóico (ω-Hidroxiácido C16)	9.6
32.30	Octadecan-1-ol (*n*-Alcanol C18)	0.9
32.45	Ácido eicosanóico (Ácido alcanóico C20)	2.7
35.15	Ácido 9,10-dihidroxioctadecanóico (Ácido alcanóico C18 *vic*-diol)	0.5
35.93	Ácido 18-hidroxioctadec-9-enóico (ω-Hidroxiácido C18 mono-insaturado)	3.4
36.13	Ácido Octadec-9-eno-1,18-dióico (α,ω-Diácido C18 mono-insaturado)	3.9
37.33	Ácido octadecano-1,18-dióico (α,ω-Diácido C18)	1.3
38.60	Docosan-1-ol (*n*-Alcanol C22)	3.0
38.98	Ácido docosanóico (Ácido alcanóico C22)	31.9
40.15	Desconhecido	1.5
42.10	Ácido tricosanóico (Padrão interno)	
43.16	Ácido 20-hidroxieicosanóico (ω-Hidroxiácido C20)	16.5
43.53	Ácido Eicosano-1,20-dióico (α,ω-Diácido C20)	4.5
43.83	Ácido 2-hidroxidocosanóico (α-Hidroxiácido C22)	4.7
44.38	Desconhecido	3.0
44.60	Ácido 9,10,18-trihidroxioctadecanóico (ω-Hidroxiácido C18 *vic*-diol, Éster TMSi)	8.8
44.98	Ácido tetracosanóico (Ácido alcanóico C24)	26.5
45.08	Ácido 9,10-dihidroxioctadecano1,18-dióico (α,ω-Diácido C18 *vic*-diol)	6.8
46.50	Desconhecido	2.2
48.02	Desconhecido	2.4
49.17	Ácido 22-hidroxidocosanóico (ω-Hidroxiácido C22)	411.6
49.45	Ácido Docosano-1,22-dióico (α,ω-Diácido C22)	26.5
	Ácido 2-hidroxitetracosanóico (α-Hidroxiácido C24)	
50.55	Ácido Hexacosanóico (Ácido alcanóico C26)	2.3
51.42	Ácido 23-hidroxitricosanóico (ω-Hidroxiácido C23)	1.2
51.92	Ácido 2-hidroxihexacosanóico (α-Hidroxiácido C26)	1.9
54.30	Ácido 24-hidroxitetracosanóico (ω-Hidroxiácido C24)	213.1
54.53	Ácido 2-hidroxioctacosanóico (α-Hidroxiácido C28)	1.3
54.77	Ácido Tetracosano-1,24-dióico (α,ω-Diácido C24)	8.7
57.27	Desconhecido	12.9
57.33	Desconhecido	12.9

Quadro 3.4. Extractivos lipófilos da cortiça (extracto pelo diclorometano). Fracção ácida após hidrólise [Continuação].

Rf (min.)	Compostos separados	‰
57.57	Desconhecido	12.5
58.73	Triterpenóide (?)	1.7
59.03	Ácido 26-hidroxihexacosanóico (ω-Hidroxiácido C26)	22.9
60.18	Desconhecido	0.9
60.90	β-sitosterol (5-Estigmasten-3β-ol)	0.7
61.12	Desconhecido	2.2
61.37	Desconhecido	15.2
61.68	Desconhecido	7.6
61.97	Desconhecido	41.7
66.25	Betulina (Lup-20[29]-eno-3β,28-diol)	2.6
	Outros	22.2

3.3.2. Suberina

3.3.2.1. Introdução

A cortiça inclui como componentes estruturais das suas paredes celulares três conjuntos de compostos poliméricos: os alifáticos suberínicos, os aromáticos do "tipo lenhina" e os polissacáridos. A suberina é incluída nos primeiros, mas subsistem ainda dúvidas sobre a natureza dos compostos aromáticos, as suas ligações à parte alifática, e se devem ou não ser considerados, na totalidade ou em parte, como fazendo parte da suberina. No contexto deste relatório, "suberina" diz respeito aos componentes alifáticos poliméricos. O estudo dos componentes aromáticos poliméricos é feita em 3.3.3. A composição química global da cortiça está presente no Quadro 3.5.

Após a remoção dos extractivos, a análise química da cortiça começa pela despolimerização e solubilização da suberina. Só depois é possível determinar adequadamente as quantidades de materiais do tipo lenhina e polissacáridos igualmente presentes. A aplicação das técnicas de análise destes últimos antes da remoção da suberina dá resultados errados, aliás evidenciando a importância estrutural e interligações destes polímeros nas paredes celulares suberificadas (Pereira, 1988).

A despolimerização da suberina da cortiça, ou dos polímeros semelhantes de outros tecidos suberificados ou cutinizados, é feita por tratamentos que quebram as ligações éster, o que desde logo revela a estrutura poliéster do polímero. Em função da técnica utilizada, os resultados diferem quanto ao rendimento quantitativo global, quanto à forma como os monómeros são solubilizados e quanto às modificações introduzidas nos grupos substituintes existentes nos monómeros, nomeadamente nos grupos epóxido, susceptíveis de serem alterados pelas reacções de despolimerização.

As técnicas utilizadas para a despolimerização e solubilização dos monómeros alifáticos da suberina incluem a hidrólise alcalina, a alcoólise com catálise básica ou ácida e a hidrogenólise. O critério que preside ao uso de uma ou outra destas técnicas tem a ver com os objectivos pretendidos: quantificar a suberina, analisar os monómeros ou fazer estudos estruturais do polímero.

A quantificação da suberina é feita normalmente com o total de materiais solubilizados por estas técnicas de despolimerização. Assim, variações nas percentagens de "suberina" determinadas resultam em parte da própria técnica de despolimerização utilizada. Está em causa, sobretudo, a diferente capacidade de cada uma das técnicas em solubilizar materiais fenólicos conjuntamente com os componentes alifáticos. Na maioria dos casos, também a dificuldade em separar fisicamente o tecido suberoso de outros que lhe estão associados compromete, em parte, a comparabilidade dos

resultados disponíveis para o teor de “suberina” da cortiça ou materiais afins (Graça, 1990).

Quadro 3.5. Análise química sumativa da cortiça de sobreiro. % sobre material inicial, [ ] % sobre material livre de extractivos (Pereira 1988)

	%		Observações
Extractivos	16,0		
Suberina	39,4	[47,6]	Extracto solúvel em $CHCl_3$ após metanólise 3 % NaOMe/MeOH
Lenhina	23,0	[27,8]	Lenhina, insolúvel em H_2SO_4 72 % (Klason), após suberina
Polissacáridos	20,3	[24,6]	Determinados no solulizado pelo tratamento anterior]
Cinzas	1,6		

O trabalho realizado sobre a suberina, na parte referente ao conhecimento fundamental da cortiça, inclui o estudo da sua composição monomérica e a obtenção de estruturas diméricas que permitiram avançar no conhecimento do arranjo tridimensional deste polímero natural. A análise monomérica foi feita após a despolimerização completa da suberina por metanólise.

A metanólise completa da suberina é feita usando metanol como o álcool reagente e metóxido de sódio como a base forte catalisadora da reacção, em condições de refluxo. A metanólise dos ésteres por catálise básica é uma reacção de transesterificação, que solubiliza os monómeros ácidos como ésteres metílicos, regenerando os grupos álcool. Desde que foi introduzida como técnica de despolimerização da suberina da cortiça, a metanólise tem sido realizada com concentrações variáveis de metóxido de sódio, de 0,35 % a 3 % (Pereira, 1988). As estruturas diméricas da suberina foram obtidas pela despolimerização parcial da cortiça, com recurso a uma técnica de metanólise parcial, catalisada por CaO.

A separação dos compostos das misturas de metanólise, total e parcial, foram feitas por cromatografia gasosa, após derivatização dos grupos hidroxilo livres por trimetilsililação. A separação cromatográfica foi acoplada a espectrometria de massa. Para a identificação dos espectros de massa fez-se uso de espectros publicados na bibliografia e de espectros próprios obtidos a partir de padrões conhecidos. A identificação dos espectros de massa de alguns dos compostos diméricos envolveu a sua síntese.

3.3.2.2. Resultados

A metanólise da cortiça com a despolimerização completa da suberina, efectuada com catálise pelo metóxido de sódio, removeu 60% em massa da cortiça inicial livre de extractivos. Se reportarmos este valor à massa inicial da cortiça, para um valor de 15% de extractivos, corresponde a 51% de material extractado. A correspondência deste valor à percentagem de "suberina" é matéria de discussão, por não haver ainda um conhecimento completo do polímero e sobre se na definição deste, para além da parte alifática, deve ser incluída ou não a parte aromática, que é co--despolimerizada juntamente com a primeira, em quantidades variáveis.

As determinações quantitativas da suberina têm sido feitas por determinação gravimétrica dos materiais solúveis num solvente orgânico após metanólise com o metóxido de sódio. Esta técnica foi também a usada aqui para as determinações quantitativas da suberina nas análises sumativas da composição das cortiças amostradas (ponto 1.9). Esta técnica tem no entanto uma limitação grande, que é a exclusão de um dos principais monómeros da suberina, o glicerol, que fica na fase aquosa não recuperada e analisada. Para as análises sumativas fez-se a sua determinação em separado.

Para o estudo qualitativo da suberina aqui discutido, desenvolvemos uma técnica de análise por cromatografia gasosa que permite a separação, identificação e quantificação relativa não só dos monómeros ácidos como também do glicerol. A separação cromatográfica está exemplificada no Figura 3.11 e a identificação e quantificação dos monómeros individuais constituintes da suberina da cortiça está presente no Quadro 3.6.

O glicerol é um dos principais monómeros constituintes da cortiça com 14% do total da mistura. Entre os ácidos alifáticos de cadeia longa, a classe dominante é dos α,ω-diácidos com mais de 45%, seguida dos ω-hidroxiácidos (26%) e ácidos 1-alcanóicos, os ácidos gordos normais (1%). Os comprimentos de cadeia em C18 e C22 (89%) são os dominantes. Os ácidos com modificações a meio da cadeia, tanto α,ω-diácidos como ω-hidroxiácidos, são, no seu conjunto, dos mais importantes: epoxiácidos (30%); ácidos insaturados em C9-C10 (12%); ácidos dihidroxilados em C9 e C10 (10%).

Para se conhecer mais sobre a forma como estes monómeros estão ligados entre si, foi ensaiada uma metanólise parcial da suberina da cortiça com catálise com CaO. A metanólise com CaO da cortiça, nas condições descritas na parte experimental solubilizou cerca de 4% do total da suberina solubilizável com a metanólise com $NaOCH_3$, ou seja, 2% do total da cortiça livre de extractivos.

Quadro 3.6. Monómeros da suberina da cortiça, após despolimerização por metanólise com metóxido de sódio (% p/p). [] Tempo de retenção (Fig. 3.11).

[13.20]	Glicerol		14.2
	Açucares e fenólicos		1.1
[20.42]	Ácido quínico	0.1	
[17.57]	Vanilina	0.1	
[19.94]	Ácido 3,4-Dihidroxibenzóico	0.1	
[23.00]	Álcool coniferílico	0.3	
[23.31]	Ácido ferúlico (como éster metílico)	0.5	
	1-Alcanóis		0.4
[26.72]	Octadecanol	tr.	
[31.11]	Eicosanol	0.1	
[36.40]	Docosanol	0.2	
[42.31]	Tetracosanol	0.1	
	Ácidos 1-alcanóicos (como ésteres metílicos)		1.1
[22.85]	Ácido hexadecanóico	tr.	
[26.28]	Ácido octadecanóico	tr.	
[30.63]	Ácido eicosanóico	0.1	
[35.97]	Ácido docosanóico	0.9	
	α,ω-Diácidos saturados (como ésteres dimetílicos)		8.7
[28.95]	Ácido hexadecanodióico	2.0	
[33.94]	Ácido octadecanodióico	0.5	
[39.76]	Ácido eicosanodióico	1.0	
[46.07]	Ácido docosanodióico	4.5	
[52.48]	Ácido tetracosanodióico	0.7	
	α,ω-Diácidos, substituídos (como éster dimetílicos)		36.8
[33.30]	Ácido octadec-9-enodióico	6.2	
[39.10]	Ácido 9-epoxioctadecanodióico	22.9	
[42.09]	Ácido 9,10-Dihidroxioctadecanodióico	7.7	
	ω-Hidroxiácidos, saturados (como ésteres metílicos)		11.4
[29.41]	Ácido16-hidroxihexadecanóico	0.4	
[34.40]	Ácido18-hidroxioctadecanóico	0.1	
[40.19]	Ácido 20-hidroxieicosanóico	0.5	
[46.52]	Ácido 22-hidroxidocosanóico	7.9	
[52.87]	Ácido 24-hidroxitetracosanóico	2.4	
[61.33]	Ácido 26-hidroxihexacosanóico	0.1	
	ω-Hidroxiácidos, substituídos (como ésteres metílicos)		14.9
[33.78]	Ácido18-Hidroxioctadec-9-enóico	5.4	
[39.44]	Ácido 9-Epoxi-18-hidroxioctadecanóico	7.3	
[42.30]	Ácido 9,10,18-Trihidroxioctadecanóico	2.2	
	Monoacilgliceróis		0.5
	Triterpenóides		0.5
	Outros		2.7
	Não identificados		7.7
	Total		100.0

Na análise por GC-MS do solubilizado encontraram-se monómeros - glicerol e ácidos suberínicos alifáticos - e dímeros, constituindo cerca de 1/3 dos compostos solubilizados. Foram encontrados dois tipos de dímeros, ésteres do glicerol com os ácidos suberínicos, na forma de monoacilgliceóis, e ésteres dos ϖ-hidroxiácidos (pelo seu hidroxilo primário) com o ácido ferúlico. A parte do cromatograma desta mistura onde se encontram os dímeros está na Figura 3.12 e a listagem e quantificação relativa dos dímeros separados e identificados está no Quadro 3.7.

A identificação dos dímeros glicerídicos foi feita a partir da interpretação dos seus espectros de massa. Alguns espectros representativos estão nas Figuras 3.13 a 3.18, incluindo a representação estrutural dos compostos. A confirmação da interpretação dos espectros dos dímeros feruloílicos foi feita após a síntese de um dos compostos representativos encontrados. O espectro e a representação estrutural de um destes dímeros está na Figura 3.19. A Figura 3.20 mostra o espectro de infra-vermelho da cortiça antes e após despolimerização completa da suberina, que mostrou a solubilização completa dos grupos éster.

Neste estudo fundamental da suberina obteve-se evidência directa da ligação do glicerol aos ácidos suberínicos na suberina do tecido suberoso da cortiça do sobreiro. A informação obtida, juntamente com outra evidência indirecta existente na bibliografia, levam-nos a crer que as ligações glicerídicas sejam determinantes no desenvolvimento tridimensional do polímero. Concretamente, a esterificação ao glicerol será uma das formas de interligação entre os diversos ácidos alifáticos que constituem a maioria dos monómeros conhecidos após a despolimerização da suberina.

A argumentação em favor duma estrutura glicerídica para a suberina baseia-se na seguinte evidência experimental obtida neste trabalho:

1) Praticamente todos os ácidos alifáticos conhecidos como monómeros foram encontrados como monoacilgliceróis. Uma única excepcão notável foi a ausência dos epoxiácidos esterificados ao glicerol. No entanto, foi encontrado um (provável) artefacto clorado, que pode ser originado a partir do monoacilglicerol do ácido 9-epoxioctadecanodióico, um dos mais importantes da mistura suberínica da cortiça.

2) As proporções com que os ácidos suberínicos foram encontrados como monoacilgliceróis, correspondem *grosso modo*, dentro de cada uma das classes de monómeros alifáticos (ácidos alcanóicos, ϖ-hidroxiácidos e α, ϖ-diácidos), às proporções relativas com que são encontrados como monómeros.

Quadro 3.7. Dímeros da suberina da cortiça, após despolimerização por metanólise com óxido de cálcio (% da área integrada). [ ] Tempo de retenção (Fig. 3.12).

	Monoacilgliceróis de ácidos 1-alcanóicos		
	(como éteres bis(trimetilsilílicos))		3.5
[31.92]	1-monodocosanoilglicerol	2.3	
[36.15]	1-monotetracosanoilglicerol	1.2	
	Monoacilgliceróis de ω–hidroxiácidos		
	(como éteres tris(trimetilsilílicos))		11.2
[29.53]	1-mono [18-hidroxioctadec-9-enoil] glicerol	3.5	
[28.54]	2-mono [18-hidroxioctadec-9-enoil] glicerol	tr.	
[38.67]	1-mono [22-hidroxidocosanoil] glicerol	4.6	
[37.74]	2-mono [22-hidroxidocosanoil] glicerol	0.6	
[42.00]	1-mono [23-hidroxitricosanoil] glicerol	1.6	
[42.44]	1-mono [24-hidroxitetracosanoil] glicerol	0.9	
[41.54]	2-mono [24-hidroxitetracosanoil] glicerol		
	Monoacilgliceróis de α, ω–-diácidos		
	(como ésteres metílicos, éteres bis(trimetilsilílicos))		65.7
[26.45]	1-mono [ácido hexadecanodi-16-óico-1-oil] glicerol	2.6	
[30.97]	1-mono [ácido octadecanodi-18-óic -1-oil] glicerol	1.2	
[30.22]	1-mono [ácido octadec-9-enodi-18-óico-1-oil] glicerol	13.8	
[29.14]	2-mono [ácido octadec-9-enodi-18-óico-1-oil] glicerol	1.4	
[35.45]	1-mono [ácido 9,10-dihidroxioctadecanodi-18-óico-1-oil] glicerol	26.5	
[34.50]	2-mono [ácido 9,10-dihidroxioctadecanodi-18-óico-1-oil] glicerol	1.7	
[38.14]	1-mono [ácido 9(10)-chloro-10(9)-hidroxioctadecanodi- -18-óico-1-oil] glicerol	9.8	
[(1)]	1-mono [ácido eicosanodi-20-óico-1-oil] glicerol	1)	
[39.44]	1-mono [ácido docosanodi-22-óico-1-oil] glicerol	7.2	
[38.47]	2-mono [ácido docosanodi-22-óico-1-oil] glicerol	0.9	
[43.25]	1-mono [ácido tetracosanodi-24-óico-1-oil] glicerol	0.6	
	Tipo monoacilglicerol não identificados		12.0
	Ésteres ferúlicos dos ω-hidroxiácidos (como ésteres metílicos, éteres trimetilsilílicos)		7.6
[46.85]	Ácido 16-*O*-feruloiloxihexadecanóico	0.3	
[49.99]	Ácido 18-*O*-feruloyloxyoctadec-9-enóico	1.2	
[54.18]	Ácido 20-*O*-feruloiloxieicosanóico	0.3	
[53.69]	Ácido 22-*O*-*cis*-feruloiloxidocosanóico	0.9	
[58.09]	Ácido 22-*O*-*trans*-feruloiloxidocosanóico	4.9	
[63.05]	Ácido 22-*O*-feruloiloxitetracosanóico	tr.	
	Total		100.0

(1) sai conjuntamente com o 1-mono [ácido 9,10-dihidroxioctadecanodi-18-óico-1-oil] glicerol, pico do qual constitui uma parte ínfima.

Figura 3.13. Espectro de massa de impacto electrónico do 1-monodocosanoilglicerol, éter *bis*(TMS) , solubilizado da suberina da cortiça pela metanólise CaO.

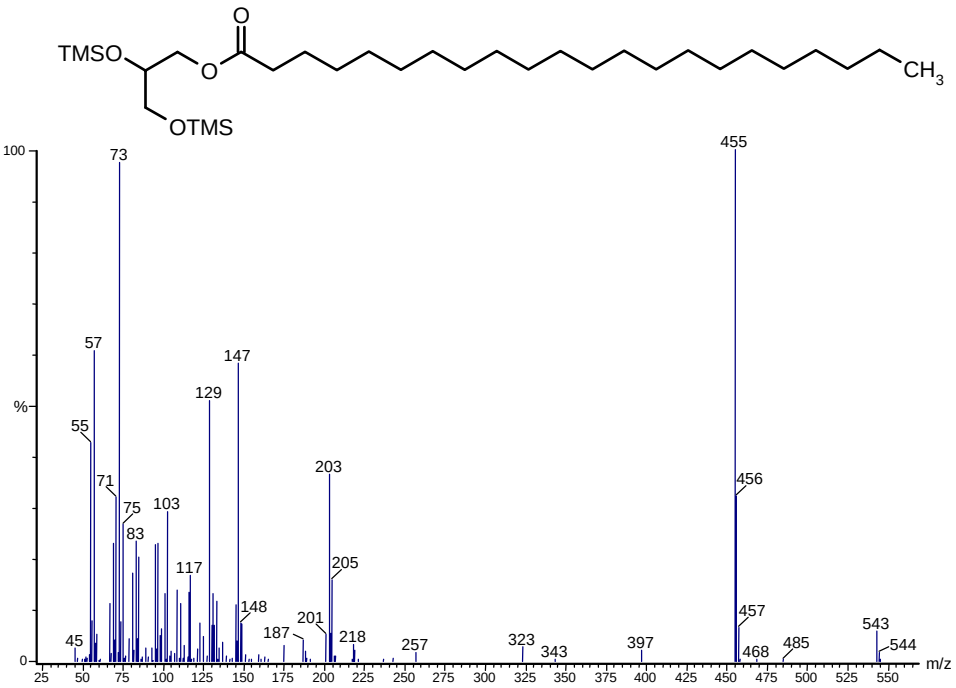


Figura 3.14. Espectro de massa de impacto electrónico do 1-mono [ácido docosanedi-22-óico-1-oil] glicerol, éster metílico, éter *bis*(TMS), solubilizado da suberina da cortiça pela metanólise CaO.

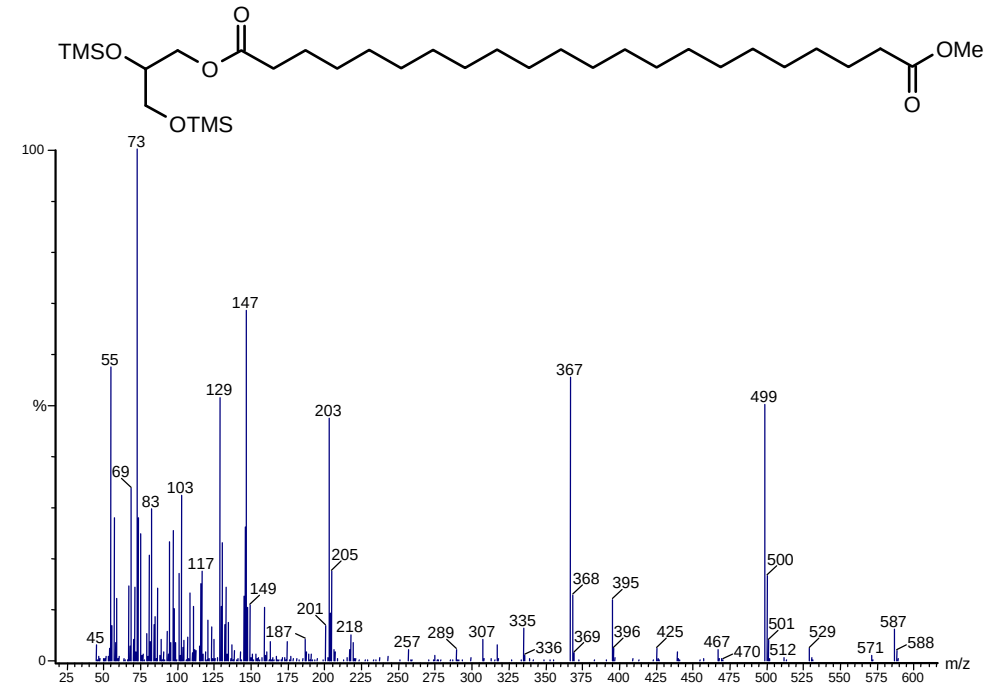


Figura 3.15. Espectro de massa de impacto electrónico do 2-mono [ácido docosanedi-22-óico-1-oil] glicerol, éster metílico, éter *bis*(TMS), solubilizado da suberina da cortiça pela metanólise CaO.

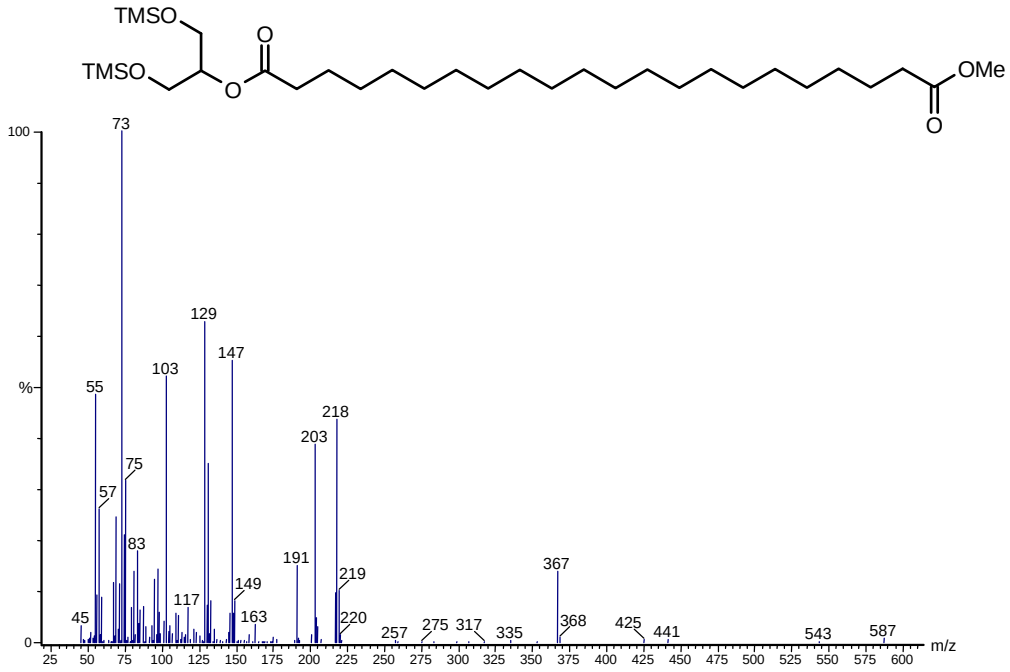


Figura 3.16. Espectro de massa de impacto electrónico do 1-mono [22-hidroxidocosanoil] glicerol, éter *tris*(TMS), solubilizado da suberina da cortiça pela metanólise CaO.

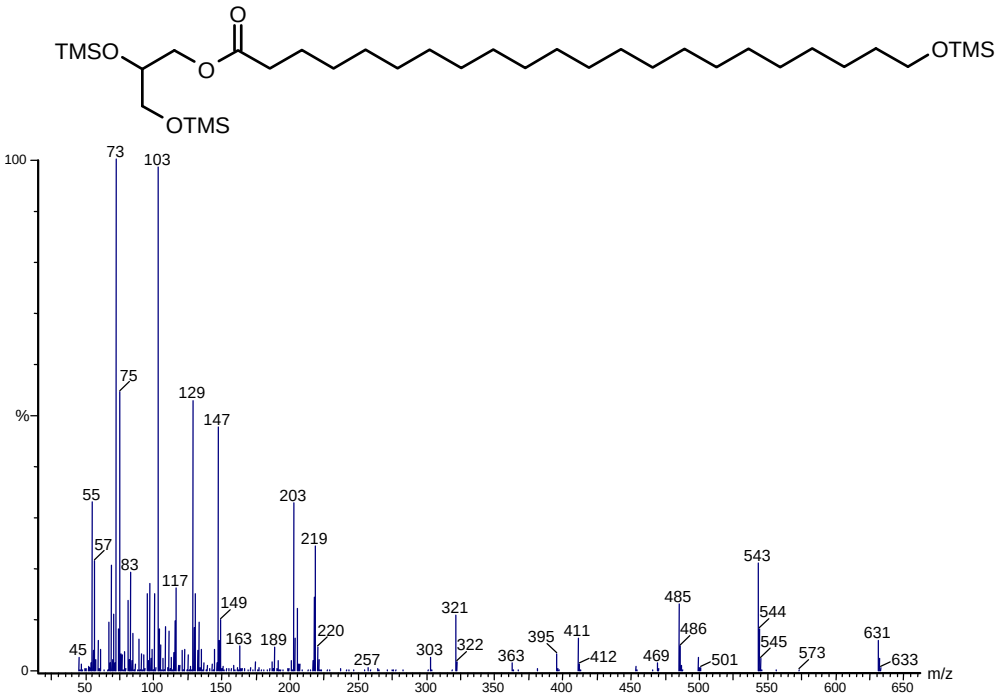


Figura 3.17. Espectro de massa de impacto electrónico do 1-mono [ácido 9,10-dihidroxioctanodi-18-óico-1-oil] glicerol, éster metílico,éter *tetrakis*(TMS), solubilizado da suberina da cortiça pela metanólise CaO.

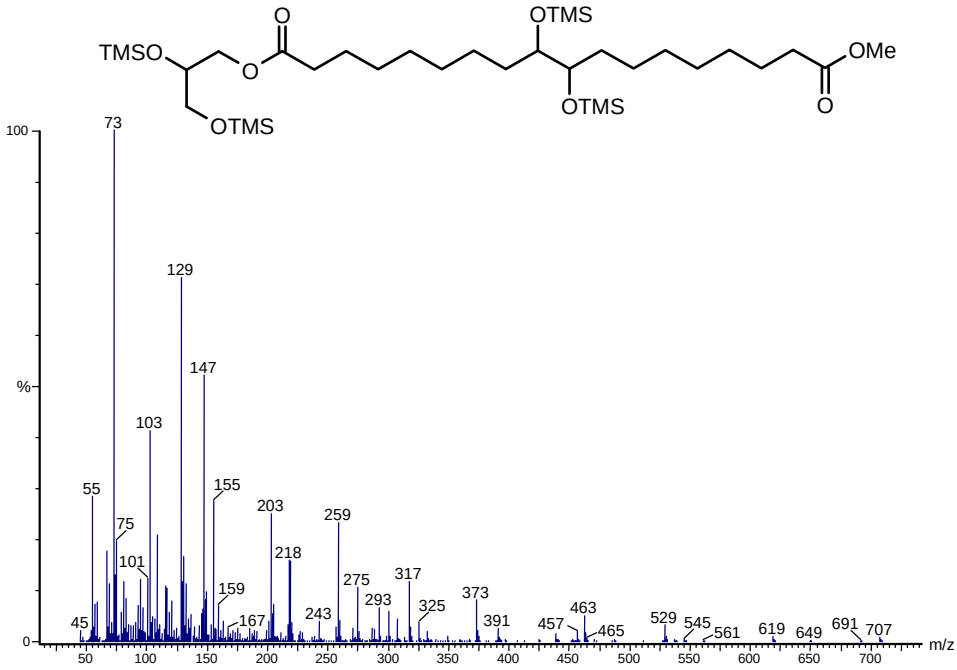


Figura 3.18. Espectro de massa de impacto electrónico tentativamente identificado como uma mistura de 1-mono [ácido 9(10)-cloro-10(9)-hidroxioctanodi-18-óico-1-oil] glicerol, éster metílico,éter *tris*(TMS), provável artefacto solubilizado da suberina pela metanólise CaO.

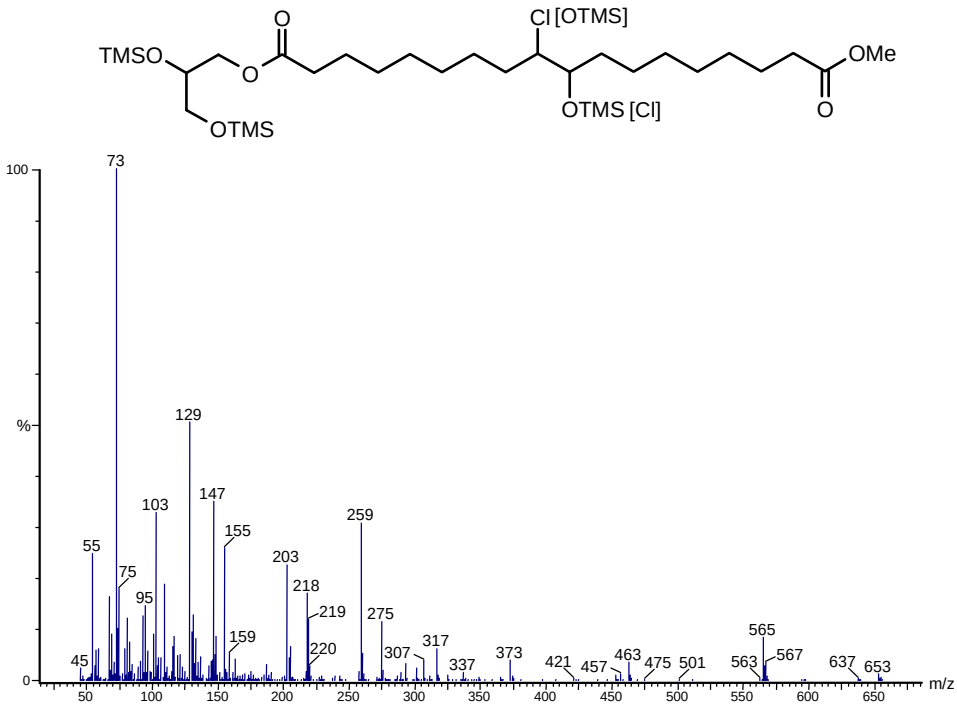


Figura 3.19. Espectro de massa de impacto electrónico do ácido 22-*O*-feruloiloxidocosanóico, éster metílico,éter TMS, solubilizado da suberina da cortiça pela metanólise CaO.

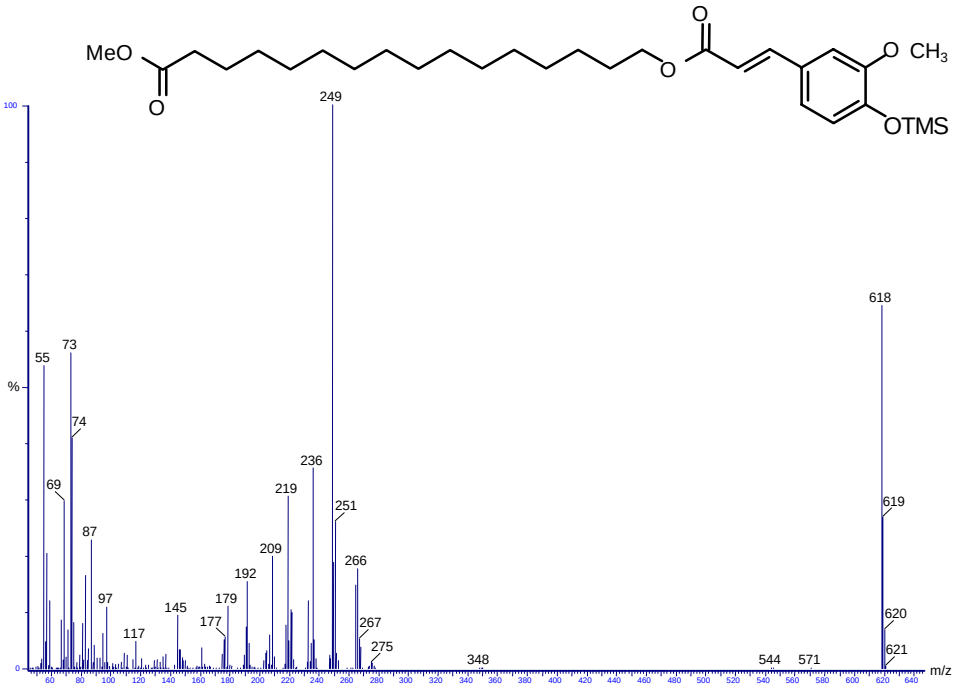
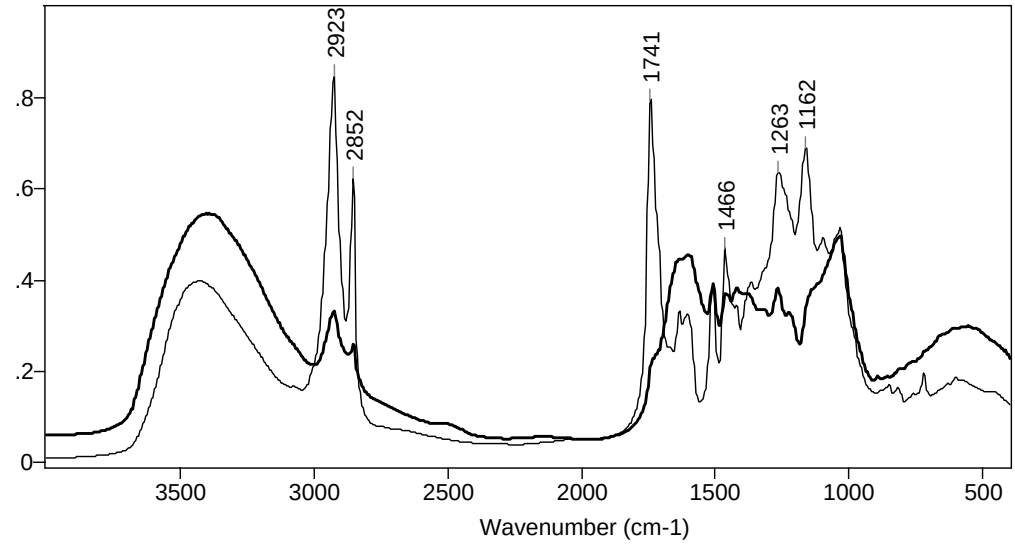


Figura 3.20. Espectro FTIR de absorvância da cortiça livre de extractivos (linha fina) e respectivo resíduo após a remoção da suberina por metanólise $NaOCH_3$ (linha espessa). A banda de absorção C=O dos ésteres (1741 cm^{-1}) e de vibração das cadeias $–(CH_2)_n-$ (2923, 2852 cm^{-1}) ou desaparece ou fica muito diminuída no resíduo livre da suberina.



3) As proporções entre as várias classes de monómeros encontradas como monoacilgliceróis, e livres após a despolimerização completa, seguem também a mesma tendência geral. No entanto, a proporção de α,ω-diácidos encontrados ligados ao glicerol é superior à sua proporção como monómeros individuais.

4) Os monoacilgliceróis dos ácidos suberínicos foram encontrados ligados nas posições 1 e 2 do glicerol. Isto significa que todas as posições do glicerol podem estar esterificadas, visto as posições 1 e 3 não serem distinguíveis.

5) Para cada ácido suberínico, o 1-monoacilglicerol encontrado é mais abundante que o correspondente 2-monoacilglicerol. No caso da cortiça, a desproporção é grande, correspondendo os ácidos suberínicos esterificados na posição 2 do glicerol a 10 % ou menos dos correspondentes ésteres na posição terminal. Em geral, estes resultados são concordantes com o facto de o glicerol ter duas posições ligantes nos dois hidroxilos primários, e apenas uma no hidroxilo secundário.

6) Após as despolimerizações "completas", controladas pelo desaparecimento da banda do grupo carbonilo dos ésteres no espectro de infra-vermelho do resíduo, verifica-se que o glicerol solubilizado existe em quantidade pelo menos suficiente para esterificar todos os carboxilos disponíveis nos ácidos suberínicos. A proporção molar entre o número de carboxilos dos ácidos suberínicos e o número de hidroxilos glicerídicos é, na cortiça, praticamente igual a um.

7) A proporção de α,ω-diácidos, potencialmente continuadores do polímero pela ligação dos seus dois grupos carboxílicos terminais ao glicerol, tem sido provavelmente subestimada nas análises das misturas suberínicas. De facto, o uso de padrão interno e a calibração das várias classes de ácidos suberínicos mostrou que os α,ω-diácidos eram subavaliados quando quantificados apenas pela integração das áreas nos cromatogramas. Relativamente aos ω-hidroxiácidos é necessária uma correcção de cerca de 1,4 vezes.

Há também evidência indirecta de que existem nas suberinas ligações do tipo éster glicerídico. Há muito que é sabido que as paredes celulares suberificadas reagem histoquimicamente como gorduras. Estudos recentes de ressonância magnética nuclear do carbono 13 (^{13}C NMR) no estado sólido mostraram na cortiça (Neto *et al*., 1995) e no tecido suberificado traumático de batata (Stark *et al*., 1994) sinais atribuíveis aos carbonos cujas vizinhanças são iguais às encontradas nas ligações éster glicerídico, embora não tenha sido essa a interpretação dos autores. Estes tipos de carbonos incluem, para além dos carbonos metilénicos das cadeias alquílicas, (**C**H$_2$)$_n$- , também os carbonos das ligações éster num álcool primário, -**C**H$_2$-O-C(=O)-R e CH$_2$-O-**C**(=O)-R, assim como secundário, >**C**H-O-C(=O)-R e >CH-O-**C**(=O)-R.

É de notar a presença de carbonos que podem pertencer à ligação éster num hidroxilo secundário, equivalente à esterificação no carbono 2 do glicerol. A esterificação em

hidroxilos primários pode corresponder à ligação nas posições 1 e 3 do glicerol, como também à interesterificação por um ω-hidroxilo dum ω-hidroxiácido, entre dois ácidos suberínicos.

Neste trabalho obteve-se também evidência directa da ligação dos ω-hidroxiácidos, esterificados pelo seu ω-hidroxilo ao ácido ferúlico na suberina da cortiça. Existe também informação directa e indirecta que leva a crer que esta estrutura dimérica esteja generalizada na suberina. Deste modo, os ω-hidroxilos nos monómeros alifáticos suberínicos serão os pontos preferenciais de ligação covalente aos, ou ao, polímero aromático presente nas paredes celulares suberificadas. O ácido ferúlico funcionará assim como ponte entre as duas estruturas poliméricas.

A informação concorrente com as hipóteses atrás enunciadas, baseia-se na seguinte evidência experimental, obtida neste trabalho:

1) Os dímeros ésteres feruloílicos dos ω-hidroxiácidos encontram-se tanto nas despolimerizações parciais catalizadas pelo CaO, como nas despolimerizações completas por metanólise. Mostrou-se que estes ésteres feruloílicos eram suficientemente estáveis nas condições de metanólise “completa”, para que não ocorra a sua transesterificação total.

2) Os ω-hidroxiácidos ligados ao ácido ferúlico estão individualmente nas mesmas proporções aproximadas com que ocorrem como monómeros, após a despolimerização total da suberina. Isto sugere que existirá uma ligação sistemática destes ácidos-alcoóis ao ácido ferúlico. Excepção notável foi a ausência (pelo menos entre os dímeros identificados) de epoxiácidos, que são monómeros importantes, ligados como ésteres feruloílicos.

3) Se considerarmos os dímeros das despolimerizações parciais, a proporção de ω-hidroxiácidos encontrados ligados ao glicerol é inferior à sua proporção como monómeros individuais. No entanto, se a este valor adicionarmos os ω-hidroxiácidos ligados ao ácido ferúlico, a proporção de ω-hidroxiácidos encontrados como dímeros aproxima-se da sua proporção como monómeros nas despolimerizações completas. Isto sugere que os ω-hidroxiácidos se encontrarão ligados ao glicerol pelo seu grupo ácido e ao ácido ferúlico pelo seu grupo ω-hidroxilo.

4) Se em vez de despolimerizarmos a suberina por metanólise, o fizermos por etanólise, o grupo transesterificado na ligação éster é etilo e não metilo, originando-se portanto ésteres etílicos. A etanólise da cortiça originou ésteres etílicos dos ω-hidroxiácidos ligados como ésteres feruloílicos. Isto provou que a metade carboxilo do ω-hidroxiácido está também esterificada no polímero.

5) O ácido ferúlico aparece também como monómero nas misturas de despolimerização completa. No entanto, nas condições de metanólise utilizadas, o

ácido ferúlico está presente em quantidades pequenas, próximo de 0,5 % em massa da mistura suberínica. Isto é muito inferior ao "necessário" para ligar parte significativa ou total dos ω-hidroxilos disponíveis nos ω-hidroxiácidos. No entanto, há indícios suficientes para acreditar que a quantidade de grupos ácidos feruloílicos presentes possa ser bastante maior que os solubilizados nas metanólises em causa.

Existe evidência indirecta abundante de que estruturas do tipo ácido ferúlico estejam presentes em quantidades significativas nas paredes celulares suberificadas. Em primeiro lugar, na cortiça, o ácido ferúlico já foi solubilizado em quantidades apreciáveis, 5 a 10 % dos monómeros suberínicos, em condições de metanólise intensivas, elevada concentração de $NaOCH_3$ (0,5 M) e tempo de reacção muito prolongado (18 horas) (García-Vallejo *et al*., 1997). Noutras espécies também têm sido encontradas grandes quantidades de ácido ferúlico solubilizado conjuntamente com os ácidos suberínicos.

Os estudos de ^{13}C NMR no estado sólido feitos na suberina *in situ* na cortiça e nos tecidos de regeneração traumática da casca da batata, mostraram a existência em grande quantidade de carbonos com ressonância compatível com os da ligação dupla **C**=**C**, da parte propenóica dos fenilpropenóides como o ácido ferúlico. Na batata, a proporção destes grupos será mesmo maior que a dos carbonos metilénicos, -(**C**H_2)$_n$-, numa relação de dois para um (Stark *et al*., 1994). Estes carbonos oleofínicos e outros aromáticos estavam altamente imobilizados, significando provavelmente a sua integração numa estrutura polimérica rígida (Stark *et al*., 1994; Neto *et al*., 1995).

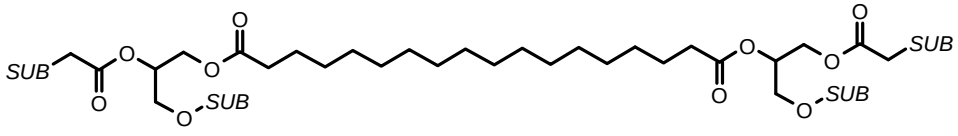
Na periderme traumática da batata, e usando a mesma técnica de ^{13}C NMR no estado sólido, em conjugação com a incorporação do precursor dos fenilpropanóides, a fenilalanina-amoníaco-liase, marcada com carbono 13 em várias posições da molécula, foi mostrado que a maior parte dos compostos aromáticos associados à suberina (ou, na interpretação dos autores em causa, na suberina), era um polímero baseado nos ácidos hidroxicinâmicos, nomeadamente o ácido ferúlico. Estes monómeros de ácido ferúlico estarão ligados entre si de forma semelhante à que se encontra nas lenhinhas (Bernards *et al*., 1995). A apresentação dos resultados dos estudos sobre a lenhina da cortiça feitos no âmbito deste projecto são feitos no ponto 3.3.3.

A existência do glicerol como monómero ligante dos ácidos suberínicos permite uma nova interpretação para a estrutura macromolecular da suberina. Nas interpretações anteriores, para dar a consistência tridimensional ao polímero, as ligações inter-monoméricas estavam dependentes da interesterificação linear ω-hidroxiácido a ω-hidroxiácido e da ligação e interpenetração extensivas dos monómeros alifáticos com estruturas aromáticas.

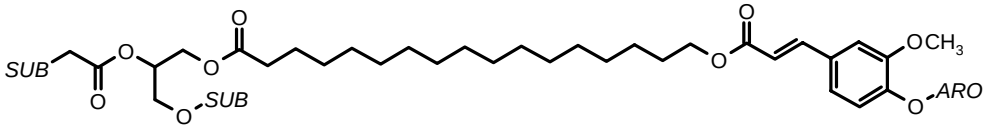
A partir da informação acumulada neste trabalho, parece-nos que duas estruturas básicas podem constituir o polímero, assegurando o seu desenvolvimento tridimensional, e também a ligação aos outros polímeros presentes na camada suberinizada das paredes celulares suberificadas, particularmente aos abundantes compostos aromáticos. Uma estrutura **glicerilo-diacilo-glicerilo** (Fig. 3.21) poderá ser a estrutura repetitiva básica do polímero. Os α,ω-diácidos, esterificados nos seus dois grupos carboxílicos terminais ao glicerol, permitem a continuação do polímero pela esterificação dos restantes hidroxilos glicerídicos a outros α,ω-diácidos, repetindo sucessivamente esta estrutura. Para se desenvolver deste modo, a suberina está dependente de uma proporção relativamente elevada de α,ω-diácidos nos seus monómeros constituintes. Este é o caso da suberina da cortiça.

A outra estrutura constitutiva da suberina poderá ser **glicerilo-hidroxiacilo--feruloílo**, integrando a estrutura gliceril-alifática e estabelecendo a ligação à parte aromática através da esterificação ao ácido ferúlico (Fig. 3.21). Assim, uma das funções principais dos ω-hidroxilos dos ω-hidroxiácidos na suberina será assegurar a ligação aos componentes aromáticos da parede. Em reforço desta ideia, um trímero de estrutura idêntica à acima proposta, embora com o ácido cafeico, o gliceril-22--hidroxidocosanoílo-cafeoílo foi encontrado entre os extractivos do tecido suberificado das fibras verdes de um algodão (Schmutz *et al*., 1994).

Figura 3.21. Estruturas hipotéticas constitutivas da suberina. [a] (acilo)-glicerilo-acilo-glicerilo-(acilo), [b] (acilo)-glicerilo-hidroxiacilo-feruloílo.



[a]



[b]

A partir da informação acumulada neste trabalho é nosso entendimento que o polímero dominante nas paredes celulares suberificadas seja uma estrutura glicerilo-alifática. Esta estrutura, embora com abundantes ligações periféricas ao, ou aos, polímeros aromáticos presentes, será independente enquanto polímero e possuirá um espaço físico individualizado dentro da parede celular. Para esta estrutura polimérica poli-éster e poli-glicerídica alifática deverá ser reservado o nome de **suberina.**

3.3.2.3. Metodologia experimental

Cortiça de reprodução de boa qualidade, crua, com 9 anos de idade foi obtida na forma de prancha. A parte da costa (resíduo floémico exterior) foi retirada e a cortiça cortada em pedaços de poucos mm^3. Apenas foram aproveitados os pedaços de tecido suberoso e livres de material lenticular. O tecido suberoso puro obtido deste modo foi móido num moínho de facas e seguidamente num moínho ultracentrífugo, crivado e a fracção 40-60 mesh recuperada para análise. Este pó de cortiça foi seco, em estufa a 45 °C e sob vácuo.

Este pó de cortiça foi extractado exaustivamente num aparelho Soxhlet com diclorometano (6 horas), etanol (15 horas) e água (24 horas). Dado que a metanólise envolve o refluxo numa solução metanólica, foi feita uma extracção complementar em metanol, para remover quaisquer materiais residuais solúveis neste solvente. As quantidades extractadas, em % do peso inicial seco, foram respectivamente : 5,5%, 4,8%, 4,1%, 0,5% (total 15%). A cortiça extractada foi seca a 50 °C durante 6 horas, e à temperatura ambiente, sob vácuo, sobre P_2O_5.

Metanólise catalisada pelo metóxido de sódio. Amostras de cortiça seca (100-120 mg) foram refluxadas em 5 mL de uma solução de $NaOCH_3$ em metanol durante 2 h, com agitação ligeira. A solução de $NaOCH_3$ foi preparada dissolvendo sódio metálico em metanol. A quantidade de $NaOCH_3$ foi calculada para cada reacção numa proporção de 0.1 mmole de sódio para 100 mg de cortiça, dando concentrações de $NaOCH_3$ em metanol de 20-30 mM. Depois da metanólise as misturas de reacção foram filtradas em cadinhos G3 e lavadas com pequenas porções de metanol aquecidas até 15 mL. Os filtrados metanólicos foram concentrados sob vácuo, e aliquotas retiradas para análise em GC-MS. Os resíduos foram secos e pesados. A extracção pela metanólise foi de 50,0 a 60,5%, baseada na massa inicial da cortiça livre de extractivos.

Análise GC-MS do extractado pela metanólise metóxido de sódio. Alíquotas dos filtrados metanólicos (cerca de 500 μL) foram secas sob N_2 e depois sob vácuo sobre P_2O_5. Os derivados trimetilsililados foram preparados com piridina/BSTFA (1:1), 15 minutos a 60 °C. Cromatografia gasosa com um detector FID (HP 5890 e GC-MS foram feitos nas mesmas condições cromatográficas: coluna, DB5-MS, 60 m, diâmetro interno 0.25 mm, espessura de filme 0.25 μm; pressão na cabeça da coluna 30 psig de

hélio; injector 300 °C; condições do forno, 100 °C, 5 minutos, 10 °C/minuto até 240 °C, 2 °C/minuto até 300 °C (15 minutos). Temperatura do detector FID, 300 °C. Condições dp GC-MS: linha de transferência, 300 °C, ionização por impacto electrónico a 70 eV. A quantificação dos compostos no GC-FID foi feita com o "software" HPChemStation.

Padrões de ácido quínico. Ácido quínico éter *pentakis* (trimetilsilílico) foi preparado com piridina/BSTFA a partir de ácido quínico (Aldrich), assim como o ácido quínico, éster metílico, éter *tetrakis* (trimetilsilílico) após metilação prévia com diazometano.

Metanólise catalizada pelo óxido de cálcio. A metanólise parcial foi feita com uma solução metanólica preparada adicionando 5 g de CaO a 250 mL de metanol, sob agitação e aquecimento suave durante 15 minutos, e filtração através de um cadinho G3. 5 g da cortiça livre de extractivos foi refluxada com esta solução durante duas horas, e filtrada. O metanol foi removido na sua maior parte num evaporador rotativo. O extracto foi recuperado com 50 mL de clorofórmio e 50 mL de água, e a fase aquosa foi extraída mais duas vezes com 50 mL de clorofórmio. As fases orgânicas combinadas foram divididas em duas volumes iguais. Uma das partes foi evaporada num evaporador rotativo e seca a 100 °C, para a determinação gravimétrica do extracto. Amostras de 5 mL foram retiradas da outra parte e filtradas em filtros de 0.2 μm de poro. Os filtrados foram evaporados sob N2 e secos sob vácuo à temperatura ambiente. O resíduo foi dissolvido em 100 μL de piridina e trimetilsililado com 100 μL de BSTFA, durante 30 minutos em estufa a 60 °C. As amostras foram imediatamente analisadas por GC-MS.

Análise GC-MS do extractado pela metanólise CaO. A separação cromatográfica e os espectros de massa foram feitos num GC-MS Fisons MD 800 equipado com um uma coluna revestida a alumínio SGE HT-5 (20 m x 0,22 mm x 0,1μm) nas condições seguintes: injector, 325 °C, temperatura inicial 180 °C (5 minutos), taxa de aquecimento 2.8 °C/minuto, temperatura final, 320 °C (10 minutos). Condições do espectrómetro de massa, temperatura da fonte, 200 °C, ionização por impacto electrónico a 70 eV.

Síntese do ferulato do ω-hidroxiácido em C16 (16-*O*-feruloiloxihexadecanoato de metilo). Ácido 16-hidroxihexadecanóico (Tokyo Kasei) foi quantitativamente metilado com diazometano. 90 mg (0,32 mmole) de 16-hidroxihexadecanoato de metilo, 62 mg (0,32 mmole) de ácido ferúlico e 2.8 mg de ácido *p*-toluenosulfónico foram dissolvidos em 1 mL de piridina seca, juntou-se 72 mg (0,35 mmole) de DCC (1,3-diciclohexilcarbodiimida) e a mistura foi agitada a 60 °C durante 18 horas. O rendimento da síntese, medido pelas áreas em GC-MS foi de 39%. A solução de piridina foi filtrada, evaporada e o resíduo dissolvido em clorofórmio (2 mL) e água (1 mL). A fase orgânica foi aplicada em placas de TLC e eluídas com clorofórmio-acetato de etilo (85:15). 21 mg de 16-*O*-feruloiloxihexadecanoato de metilo foram recuperadas na banda de Rf 0.6.

3.3.3. Lenhina e compostos aromáticos associados

3.3.3.1. Introdução

A cortiça tem sido descrita como um material composto por 3 componentes estruturais, suberina, lenhina e polissacáridos. A lenhina representa neste contexto os aromáticos poliméricos não extractáveis cujo conteúdo na cortiça é determinado no resíduo da saponificação como lenhina Klason. O seu valor situa-se entre 20 e 30% da cortiça inicial (Guillemonat 1960; Pereira 1981b, 1987, 1988; Marques e Pereira 1987). Valores mais baixos são no entanto apontados, tais como 12,6-18% (Ribas 1952) e 18-21% (Carvalho 1987), quando se procede a uma extracção prévia do resíduo da saponificação com etanol e/ou água.

A quantidade de produtos fenólicos libertados da cortiça pelos processos de despolimerização alcalinos, utilizados para a solubilização da suberina, é elevada, com excepção de métodos de catálise suave. Hergert e Kurth (1952) e Guillemonat (1960) contabilizaram estes compostos fenólicos como sendo 35,2% e 60% do total removido por saponificação. Várias espécies de compostos fenólicos têm sido referidos como componentes extractados da cortiça após saponificação. Hergert e Kurth (1952) referem os flobafenos, Ribas (1952) os taninos e ácidos tânicos, Hergert (1958) o ácido sinápico, Agulló e Seoane (1982) os ácidos ferúlico e 4-hidroxi-2-metoxibenzóico e Carvalho (1987) a vanilina. Este autor interpreta a presença de compostos fenólicos no extracto da saponificação como derivados da desagregação parcial da lenhina da cortiça. Guillemonat e Trainard (1963) identificam a presença dum éster alifático-aromático no extracto da saponificação da cortiça, o ferulato (4-hidroxi-3-metoxicinamato) do ácido felónico metilado (22-hidroxidocosanoato de metilo).

Em estudos degradativos por oxidação efectuados sobre tecido suberoso de regeneração traumática na casca da batata, Cottle e Kolattukudy (1980, 1982), Borg-Olivier e Monties (1993), Hammerschmidt (1985) e Lapierre *et al.* (1996) obtiveram *p*-hidroxibenzaldeído, vanilina e siringaldeído. A origem destes componentes poderá ser, neste caso, qualquer complexo polifenólico incluindo a lenhina. No entanto, Borg-Olivier e Monties (1993) e Lapierre *et al.* (1996) não detectaram pelo processo degradativo da tioacidólise (específico para lenhinas), unidades não metoxiladas equivalentes ao *p*-hidroxibenzaldeído obtido por oxidação. Estes autores consideram que os seus resultados comprovam a existência duma parte fenólica associada ao complexo suberínico visto que o processo de deposição dos fenólicos analisados acompanha o processo de suberificação traumática (Borg-Olivier e Monties 1993; Cottle e Kolattukudy 1982).

Poder-se-á afirmar que os fenólicos solubilizados pelos processos de despolimerização alcalina da suberina são constituídos por monómeros e oligómeros

provenientes, possivelmente, dum largo espectro de compostos fenólicos oligoméricos e poliméricos, nos quais a lenhina, os taninos (hidrolisáveis e condensados), os flobafenos e os flavonoides são os mais importantes. Fragmentos parciais ou totais destes componentes são libertados por acção do processo químico utilizado. A quantidade relativa libertada depende do processo utilizado e do tipo de ligações entre as espécies envolvidas, químicas covalentes (éster/éter) ou intermoleculares físicas entre as várias entidades oligo-poliméricas.

A natureza exacta dos componentes aromáticos na cortiça está longe daquilo que se conhece sobre os alifáticos, não se sabendo exactamente qual o limiar e o conteúdo exacto de lenhina e de outros materiais fenólicos (taninos condensados ou outros) que com ela porventura são analisados.

A proporção relativa da lenhina na arquitectura macromolecular da parede celular é importante. Parte da controvérsia gerada em torno da integração de aromáticos ou não na estrutura da suberina pode inclusivamente provir duma relação estreita, cuja existência parece ser um dado adquirido, entre os dois componentes estruturais, lenhina e suberina.

Para um conhecimento quantitativo mais exacto dos componentes estruturais na cortiça e um melhor conhecimento da relação e/ou ligação destes na arquitectura macromolecular da parede celular é necessário um conhecimento mais aprofundado da composição e estrutura da lenhina da cortiça. Pretendeu-se assim isolar e estudar a lenhina da cortiça, utilizando a técnica de extracção de Björkman (1954, 1956, 1957) e técnicas de FT-IR, pirólise analítica e cromatografia de exclusão em gel. Paralelamente pretendeu-se também estudar a cortiça com algumas destas técnicas.

No decurso destes estudos foi também isolada a lenhina da madeira de *Quercus suber* para efeitos comparativos com a lenhina da sua cortiça.

3.3.2.2. Resultados

Num primeiro ensaio foi isolada da cortiça, pelo processo de Björkman, uma lenhina MCL (Milled Cork Lignin) e um complexo lenhina-carbohidrato (LCC) com os rendimentos de 1,5% e 0,32% respectivamente. A cortiça e as lenhinas foram caracterizadas por espectroscopia de FT-IR, análise elementar, determinação de grupos metóxilo, pirólise analítica (Py/GC/FID) e determinação de monossacáridos por hidrólise ácida.

O rendimento obtido para a separação de MCL foi baixo comparativamente ao que se consegue na madeira onde os valores rondam os 7-10%.

A cortiça apresentou um conteúdo de 5,6% de metóxilos (OMe), 63,19% de carbono e 8,01% de hidrogénio. A MCL apresentou 8,2% OMe, 63,21% C e 6,99% H.

O espectro de FT-IR da MCL apresenta particularidades duma lenhina do tipo guaiacílico (G). A análise efectuada por FT-IR à cortiça demonstra, por comparação com lenhina de madeira de espruce (tipo G), que esta é constituída em 40% por um domínio aromático com características de lenhina. Este domínio aromático é constituído, segundo os resultados da pirólise, por 13% unidades p-hidroxifenilo (H), 86% unidades guaiacilo (G) e 1% unidades siringilo (S).

A lenhina de cortiça MCL isolada revela, pela sua cor e características espectrométricas, não ser uma lenhina pura tendo apenas sido enriquecida em 54% de aromáticos relativamente à cortiça. A parte não aromática da MCL contém ácidos suberínicos e polissacáridos (Fig. 3.22). A espectroscopia de FT-IR e a pirólise revelam a predominância de unidades guaiacilo (G) na estrutura da parte aromática representando estas 91% dos monómeros libertados na pirólise da MCL. O conteúdo de unidades p-hidroxifenilo (H) ronda os 10% e as unidades siringilo (S) 1%. A quantidade de ácido acético libertado nas pirólises da cortiça e da MCL é relativamente elevada, denunciando a presença de ligações éster. A relação entre hexoses/pentoses determinadas, pela pirólise, foi de 1/0,76 na cortiça, de 1/2,6 na MCL e 1/3,4 na LCC.

A separação de lenhina directamente da cortiça pelo processo de Björkman permitiu verificar que a cortiça contém aproximadamente 40% de aromáticos cuja composição é mais rica em unidades não metoxiladas (H) e que a lenhina da cortiça é do tipo G. No entanto, a lenhina separada não era pura (56% aromáticos), apresentando-se contaminada com quantidades elevadas dos outros componentes estruturais, suberina e polissacáridos. Desta forma procedeu-se à execução de um segundo ensaio onde previamente à separação da lenhina pelo mesmo processo de Björkman se despolimerizou e extractou a suberina por meio de uma reacção de trans-esterificação com metóxido/metanol.

Neste segundo ensaio separou-se do resíduo da metanólise (34,4% da cortiça) uma lenhina (MCLsap) , uma lenhina solúvel em éter etílico e um complexo lenhina-carbohidrato (LCCsap) com os rendimentos de 11,9%, 0,54% e 0,79% sobre o resíduo, correspondendo a 4,1%, 0,19% e 0,27% sobre a cortiça original pré-extractada. As lenhinas isoladas foram caracterizadas por espectroscopia de FT-IR, pirólise analítica (Py-GC-FID), análise elementar, determinação de grupos metóxilo, determinação de massa molecular e determinação de monossacáridos após hidrólise ácida.

A pré-eliminação dos ácidos suberínicos permitiu isolar da cortiça uma lenhina “pura”. Esta contrariamente à primeira lenhina isolada, densa e de cor castanha escura,

apresentava uma coloração castanha clara e uma densidade semelhante ao esperado para uma lenhina.

Os resultados obtidos na análise elementar, conteúdo de metóxilos e massa molecular média são apresentados no Quadro 3.8. A fórmula molecular calculada com os dados obtidos para a lenhina MCLsap separada, $C_{900}H_{874}O_{282}OMe_{85}$, apresenta um maior conteúdo de hidrogénio e um menor de metóxilos relativamente ao esperado para a lenhina da madeira de espruce (*Picea abies*) (Freudenberg 1968).

A análise por FT-IR revela que a lenhina da cortiça é do tipo G (Hergert 1971; Faix 1991), bastante semelhante à lenhina de madeira de espruce (Fig. 3.22). Pelo contrário, os polímeros aromáticos soluveis em éter revelaram-se bastante contaminados com alifáticos. A lenhina da cortiça evidencia, no entanto, um conteúdo de alifáticos ligeiramente superior ao evidenciado na lenhina de espruce, revela um maior conteúdo de carbonilos, e a existência de algumas ligações ester ou grupos ácidos residuais da (ou ligações a) suberina. A parte da lenhina solúvel em éter não evidencia características de lenhina apesar da presença de aromáticos na sua composição. O complexo lenhina-hidratos de carbono LCCsap revela uma parte aromática com características de lenhina do tipo G, e um conteúdo de hidratos de carbono elevado rondando os 13% pelo resultado da pirólise.

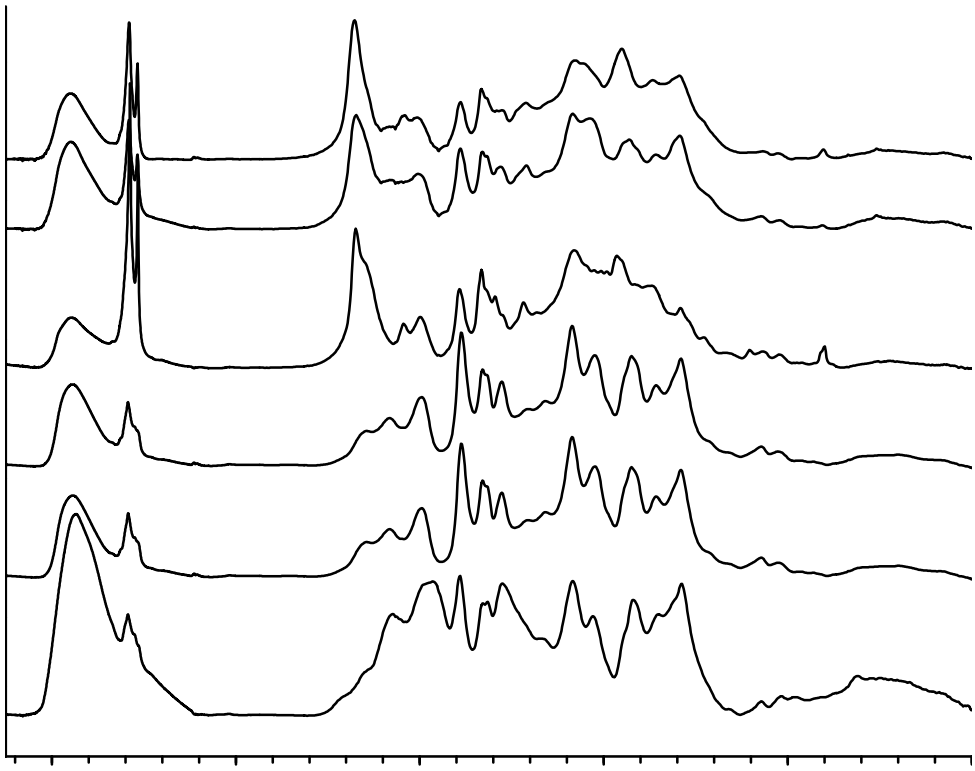
Quadro 3.8. Resultados da análise elementar, conteúdo de metóxilos e determinação de massas molares das lenhinas separadas e acetiladas (MCL, MCLsap e MCLsap soluvel em éter).

Amostra	Rendimento % da cortiça	%				Massa Molecular		
		C	H	N	OMe	Wt.av.MWt	No.av.MWt	Dispersão
MCL	1.50	63.21	6.99	--	8.20	19954	2119	9.42
MCLsap	3.70	62.82	6.04	0.71	13.95	9214	3070	3.00
MCLsap soluvel	0.17	69.03	8.72	0.16	13.19	3355	1304	2.57

A análise por pirólise analítica dos polímeros isolados (Fig. 3.23) mostrou para a lenhina da cortiça, tal como já revelado pela espectroscopia, o mesmo tipo de unidades fenólicas guaiacilo (G) que a lenhina de madeira de espruce, por exemplo: guaicol (17), 4-metilguaiacol (19), 4-etilguaiacol (21), 4-vinilguaiacol (23), eugenol (24), *trans*-isoeugenol (28), vanilina (30), homovanilina (31), acetoguiacona (32), álcool t*rans*-coniferílico (39), *trans*-coniferaldeído (40), etc, que representam 96% do total de

picos identificados. A composição em unidades H, G e S determinada para a lenhina da cortiça foi de 1% H, 97% G e 2% S apresentando 5% de contaminação com polissacáridos. A lenhina de espruce apresentou uma composição de 1% H, 99% G com 1% de polissacáridos. A fracção sóluvel em éter apresentou contaminações por derivados da suberina.

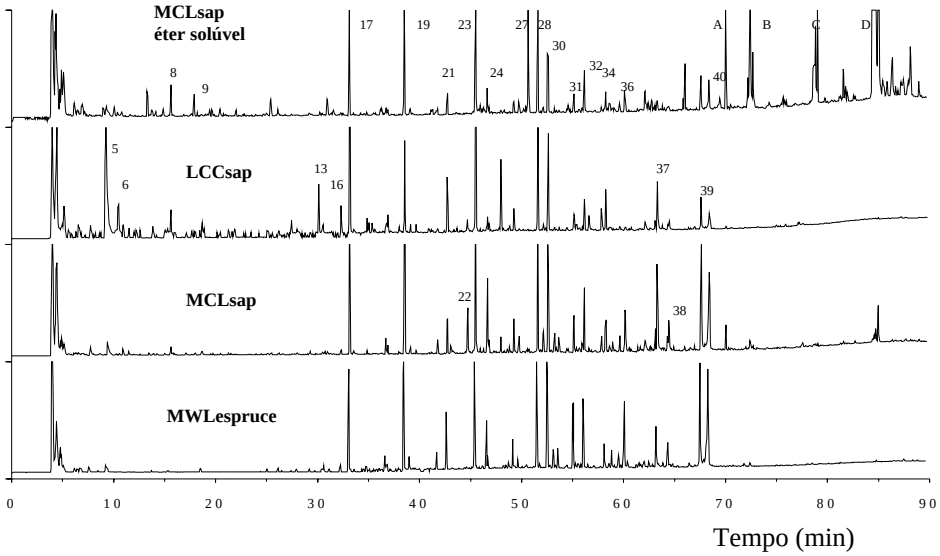
Figura 3.22. Espectros de FT-IR da cortiça e polímeros isolados da cortiça (MCL), do seu resíduo de saponificação (MCLsap, LCCsap e MCLsap éter solúvel) e da lenhina de espruce (*Picea abies*).



A distribuição de massa molecular das lenhinas separadas é relativamente diferente sendo a massa molecular média de 9000 para a lenhina pura (MCLsap) e 20000 para a lenhina MCL separada no primeiro ensaio (Quadro 3.8, Fig. 3.24). Ou seja, a lenhina separada no primeiro ensaio é bastante maior apresentando ligações entre os vários componentes estruturais. O menor rendimento obtido na pirólise da lenhina MCLsap permite ainda poder prever para a lenhina da cortiça separada após saponificação uma maior condensação entre unidades do que na lenhina de espruce.

Este facto poder-se-à dever a uma característica própria ou a alguma condensação durante o processo de isolamento.

Figura 3.23. Pirogramas das lenhinas isoladas do resíduo de saponificação e da lenhina de madeira de espruce.



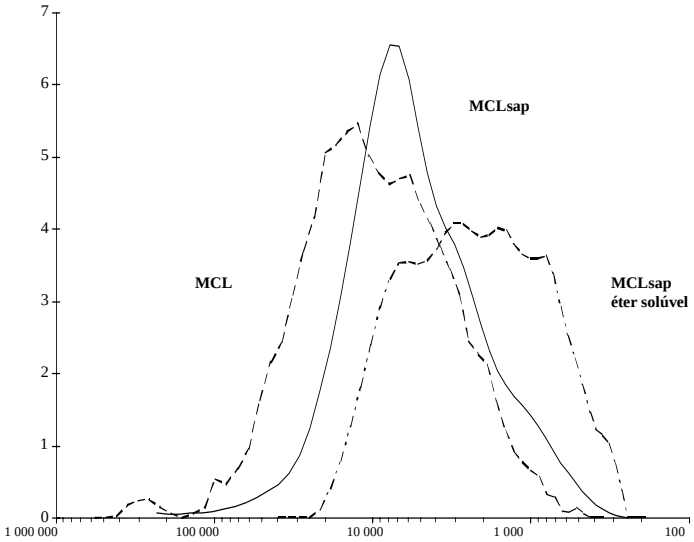
Na sequência dos estudos efectuados na caracterização química dos polímeros isolados da cortiça, a lenhina da madeira do sobreiro foi também isolada e caracterizada. Uma lenhina Björkman (Milled Wood Lignin) e dois complexos lenhina-carbohidrato foram isolados com os rendimentos de 8% para a MWL, 0,1% e 1,6% para as LCC's insolúvel e solúvel em acetona, respectivamente.

Os polímeros isolados foram caracterizados por espectroscopia de FTIR, pirólise analítica (Py-GC-FID) e determinação de grupos metoxilo. A lenhina da madeira de sobreiro é uma típica lenhina GS de folhosa com 1,4% de carbohidratos e uma composição em unidades aromáticas com 71,3% de guaiacilo (G), 28,4% de siringilo (S) e 0,3% de 4-hidroxifenilo (H). Os complexos lenhina-carbohidrato apresentaram uma composição em unidades aromáticas semelhante à MWL, com 9,2% e 68,1% de carbohidratos para as lenhinas insoluveis e soluveis em acetona.

A cortiça contém aprox. 40% de aromáticos com uma composição média de 13%H, 86%G e 1%S. Destes aromáticos faz parte uma lenhina do tipo G com a composição de aprox. 2%H, 95%G e 3%S, isolada com sucesso do resíduo de saponificação, e

outros compostos fenólicos ricos em unidades não metoxiladas (H). A lenhina da cortiça tem uma estrutura semelhante à lenhina de espruce mas mais condensada. A lenhina da cortiça de *Quercus suber* L. é diferente da lenhina da sua madeira, que apresenta uma lenhina GS de composição 1%H, 71%G e 28%S e da "lenhina" dos tecidos suberosos da casca da batata que apresenta uma relação G/S de 1/1.

Figura 3.24. Distribuição de massas moleculares das lenhinas separadas da cortiça (MCL) e do seu resíduod de saponificação (MCLsap e MCLsap éter solúvel)



3.3.3.3. Metodologia experimental

A amostra de cortiça de *Quercus suber* L utilizada foi recolhida como pó de lixagem de rolhas na indústria corticeira e corresponde a cortiça de reprodução de qualidade podendo-se considerar uma amostra da cortiça nacional. A amostra foi peneirada e recolhida a fracção 40-60 mesh. Esta foi elutriada de forma a ter um tecido suberoso puro. Foi extractada com diclorometano, etanol e água até à exaustão em regime contínuo em Soxhlet. Desta cortiça parte foi utilizada directamente na moagem para o processo de Björkman e outra na reacção de saponificação.

Para o primeiro ensaio a cortiça extractada foi seca sobre P_2O_5 em exsicador sob vácuo e depois moída durante 140 horas em moínho planetário de bolas Retsch. Foi depois extractada durante dois dias com solução dioxano/água (95:5) de acordo com o estipulado por Björkman (1956). Foi separado no final uma lenhina MCL e um complexo lenhina-hidratos de carbono LCC.

A cortiça e as lenhinas isoladas conjuntamente com lenhina MWL de espruce foram estudadas por técnicas de FT-IR (Faix 1992), pirólise analitica (Faix et al. 1990a, b; 1991 a, b; Meier e Faix 1992) utilizando um equipamento pyroprobe 100 e um GC com coluna DB-1701, 60 m, 0,25 mm, 0,1 μm de filme, análise elementar com equipamento Heraeus e determinação de metóxilos pelo método de Vieböck e Schwappach (1930). Os espectros de FT-IR foram obtidos com um aparelho Bio-Rad FTS-40 com pastilha de KBr. A cortiça e LCC foram sujeitas a hidrólise ácida total para estudo de açucares segundo Puls (1993).

Para a separação de lenhina da madeira de *Quercus suber* L. foram utilizados os mesmos procedimentos.

Para o segundo ensaio de separação de lenhina da cortiça esta foi após extracção saponificada com uma solução 0,3% de metóxido em metanol durante 5 horas após o qual foi filtrada e recolhido o resíduo que foi lavado com diclorometano, metanol e água. Este resíduo de saponificação foi utilizado nos mesmos procedimentos descritos acima para separar a lenhina e os complexos lenhina-hidratos de carbono MCLsap, MCLsap éter solúvel e LCCsap.

3.4. Propriedades mecânicas

3.4.1. Introdução

O comportamento mecânica da cortiça em compressão constitui um dos aspectos mais importantes para caracterizar a cortiça do ponto de vista das suas propriedades mecânicas. De facto, em muitas das suas aplicações, a cortiça e os seus aglomerados estão submetidos a esforços de tracção. Um exemplo tem a ver com o principal produto de cortiça, as rolhas: as rolhas são comprimidas para serem introduzidas no gargalo da garrafa e permanecem em compressão enquanto estão na garrafa. Também há compressão na cortiça quando é aplicada como revestimento de solo ou como base ou junta de peças.

Considerando a estrutura celular da cortiça é de esperar que ela se comporte em compressão como tal e, como a estrutura é anisótropa, que o comportamento em compressão também apresente anisotropia (Gibson e Ashby 1988). O comportamento em compressão da cortiça foi já estudado na situação mais simples em que a compressão é aplicada uniformemente numa única direcção (compressão uniaxial) (Rosa e Fortes 1988).

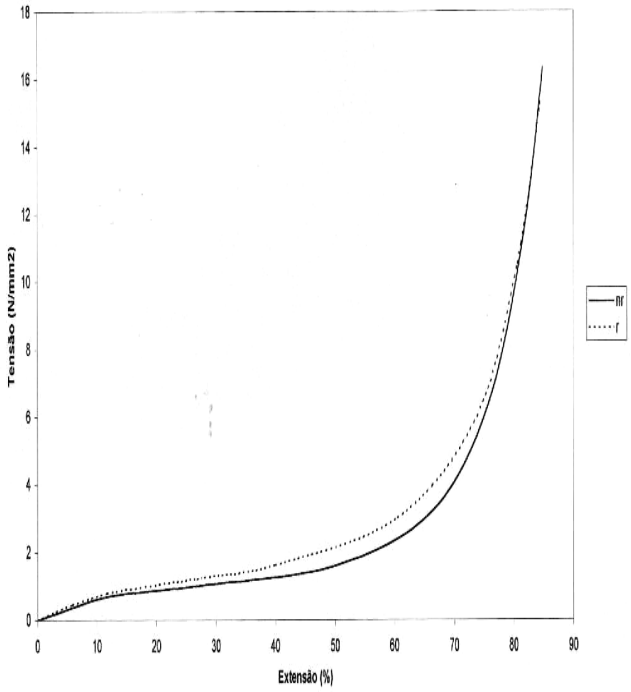
Na compressão da cortiça, e qualquer que seja a direcção de compressão, as curvas que representam a tensão aplicada em função da deformação obtida mostram a existência de três regiões que correspondem a diferentes mecanismos de deformação. A Figura 3.25 apresenta um exemplo de curvas de compressão tensão-extensão para a cortiça correspondendo a compressão segundo a direcção radial e segundo uma direcção na radial. A primeira região, para tensões pequenas até aproximadamente 1 MPa a que correspondem deformações até 8 %, é aproximadamente linear, com um declive elevado e constante. Esta região corresponde à deformação elástica, na qual se dá a flexão das paredes e arestas das células de cortiça. Se a compressão deixar de existir, as dimensões iniciais serão recuperadas. O declive da curva nesta região elástica é o módulo de Young (E) da cortiça. A segunda região corresponde a um patamar, com um declive pequeno e, muitas vezes, quase constante especialmente na zona de deformações até aproximadamente 50%. Esta região, que termina para valores de deformação da ordem de 70 % e tensões da ordem de 4 MPa, corresponde ao colapso das células. Para obter deformações maiores é necessário aplicar tensões de compressão cada vez mais elevadas. A curva apresenta nesta região um declive elevado e crescente e corresponde ao esmagamento das células e à densificação da estrutura.

Conhece-se já a anisotropia da cortiça em relação à compressão, com a curva de compressão na direcção radial localizada acima das correspondentes à compressão

nas outras duas direcções. O módulo de Young para a compressão radial é também superior aos módulos para a compressão nas direcções não radiais.

Nos estudos até agora efectuados foi observada variabilidade dos resultados entre amostras, mesmo se retiradas de um mesma prancha de cortiça. A influência de alguns parâmetros da cortiça, por exemplo, a taxa de crescimento ou o efeito da cozedura foram já estudados (Rosa, Pereira et al. 19). No entanto, não tinha ainda sido feito um estudo sistemático da variabilidade do comportamento em compressão da cortiça de diferentes origens.

Figura 3.25. Curvas de compressão da cortiça segundo a direcção radial (….) e não radial (──)



3.4.2. Resultados

As curvas de compressão dos provetes de cortiça apresentam as três regiões características das curvas de compressão dos materiais celulares: uma primeira região de declive decrescente que corresponde a nível celular à flexão das paredes celulares, seguida de outra região com declive aproximadamente constante em que ocorre o varejamento das paredes celulares e, finalmente, uma região de declive crescente correspondente ao esmagamento das células.

Fez-se o estudo da variabilidade do comportamento em compressão da cortiça assim como o estudo da influência de diferentes propriedades da cortiça nesse comportamento.

3.4.2.1. Variabilidade do comportamento em compressão

A variabilidade do comportamento em compressão foi analisado quanto à anisotropia e à variação na prancha, à variação entre cortiças de árvores diferentes do mesmo local, e entre cortiças de diferentes locais na mesma e em diferentes zonas de qualidade.

Efeito da anisotropia e variabilidade na árvore

Para uma mesma direcção de compressão verifica-se uma certa variabilidade entre provetes como alias é caracteristico dos materiais celulares naturais, sendo essa variabilidade maior na região final das curvas de compressão, a partir de extensões superiores a 50%. A fim der ser mais fácil a visualização do efeito da anisotropia da estrutura no comportamento mecânico da cortiça, apresentam-se na Figura 3.26 as curvas de compressão médias segundo as três direcções: radial (R), axial (A) e tangencial (T). A direcção radial da cortiça apresenta uma resistência à compressão que é superior à das outras duas direcções, quase em toda a extensão das curvas. As direcções axial e tangencial apresentam resistências mecânicas semelhantes.

Variabilidade entre árvores de um mesmo local

Nas Figuras 3.27 a 3.29 apresentam-se as curvas médias de compressão segundo as direcções radial, axial e tangencial da cortiça das 20 árvores do local 5A. As curvas apresentadas mostram que a variabilidade entre árvores de um mesmo local é grande e superior à variabilidade dentro de uma mesma árvore. Apesar desta grande variabilidade entre árvores consideraram-se curvas médias de compressão segundo as três direcções para as cortiças do local 5A (Figura 3.30). A análise mostra que a direcção radial continua a apresentar resistência superior à das outras duas direcções.

Variabilidade entre locais de uma mesma zona de qualidade da cortiça

Nas Figuras 3.31 e 3.32 apresentam-se as curvas médias de compressão segundo as direcções radial e não radial da cortiça das herdades 5A, 5B e 5C, que pertencem à mesma zona de qualidade da cortiça (zona 5). A análise das curvas mostra que a variabilidade entre a cortiça proveniente de diferentes locais de uma mesma região é semelhante à variabilidade entre árvores de um mesmo local. Apesar desta grande variabilidade dentro de um local consideraram-se curvas médias de compressão segundo as três direcções para as cortiças dos três locais 5A, 5B e 5C.

Variabilidade entre zonas de qualidade da cortiça

Nas Figuras 3.33 e 3.34 apresentam-se as curvas médias de compressão segundo as direcções radial e não radial das cortiças que pertencem às zonas de qualidade 5, 7, 9, 11 e 14. A análise mostra que a variabilidade entre as cortiças de diferentes zonas de qualidade é semelhante à variabilidade entre cortiças de diferentes locais de uma mesma zona de qualidade ou entre cortiças de várias árvores de um mesmo local.

Figura 3.26. Curvas de compressão tangencial, axial e radial da cortiça da árvore 5A10 (curvas médias obtidas com a compressão de diferentes provetes.

Figura 3.27. Curvas médias de compressão radial da cortiça das diferentes árvores do local 5A

Figura 3.28. Curvas de compressão axial da cortiça das diferentes árvores do local 5A

Figura 3.29. Curvas de compressão tangencial da cortiça das diferentes árvores do local 5A

Figura 3.30. Curvas médias de compressão das cortiças do local 5A, segundo as três direcções de compressão

Figura 3.31. Curvas médias de compressão radial da cortiça de três locais diferentes (5A, 5B e 5C) dentro da mesma região de qualidade

Figura 3.32. Curvas de compressão axial da cortiça de três locais diferentes (5A, 5B e 5C) dentro da mesma região de qualidade

Figura 3.33. Curvas médias de compressão radial da cortiça proveniente de zonas de qualidade diferentes (5, 7, 9, 11 e 14)

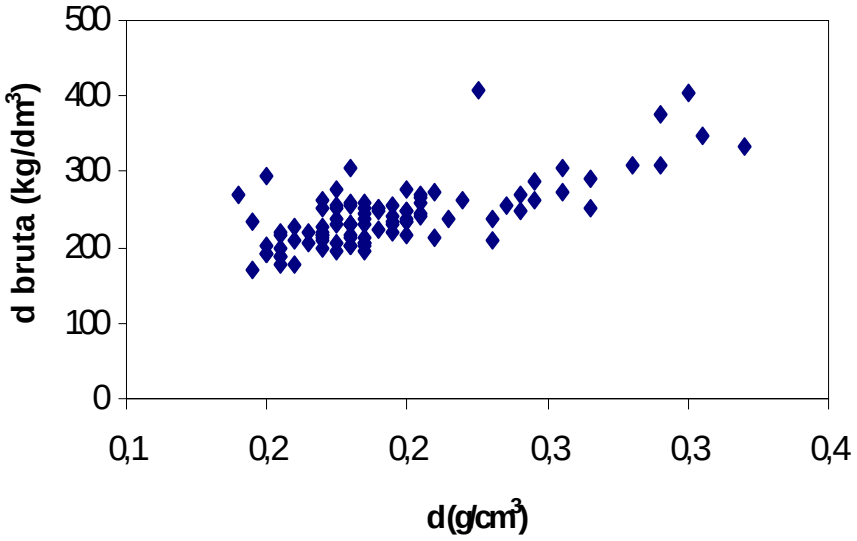
Figura 3.34. Curvas de compressão não radial da cortiça proveniente de zonas de qualidade diferentes (5, 7, 9, 11 e 14)

3.4.2.2. Influência de outros parâmetros tecnológicos na compressão

Estudou-se a influência da densidade, da porosidade, da classe de qualidade e da composição química da cortiça no seu comportamento mecânico em compressão.

Em relação à densidade, foi já referido (1.10) que a densidade bruta das pranchas não parecia ter correlação com o comportamento em compressão da cortiça. Aqui determinou-se a densidade dos provetes de cortiça analisados e é de referir que existe uma correlação significativa entre a densidade dos cubos de cortiça preparados a partir de uma prancha e a respectiva densidade bruta (Fig. 3.35). Na zona das cortiças de maior densidade, acima de 0,220 g/cm3, a densidade da cortiça é, com poucas excepções, próxima da densidade bruta das pranchas. Para valores de densidade inferiores, a densidade bruta da prancha é superior à densidade da cortiça, em média cerca de 20%.

Figura 3.35. Densidade bruta das pranchas de cortiça e densidade de cubos de cortiça delas retirados



O comportamento em compressão foi quantificado através do módulo de Young e das tensões para 20% e 30% de deformação (Fig. 3.36 a 3.38). Para o caso da tensão aplicada para deformações de 20% e 30%, verifica-se uma correlação linear com a densidade da cortiça, com coeficientes de correlação significativos tanto para a compressão radial como não radial (r^2 entre 0,63 e 0,83).

Para o comportamento elástico, verifica-se uma grande dispersão dos valores, não se encontrando uma relação entre o módulo de Young e a densidade da cortiça.

Figura 3.36. Tensão correspondente a 20% de extensão em compressão na direcção radial e em direcção não radial em função da densidade da cortiça

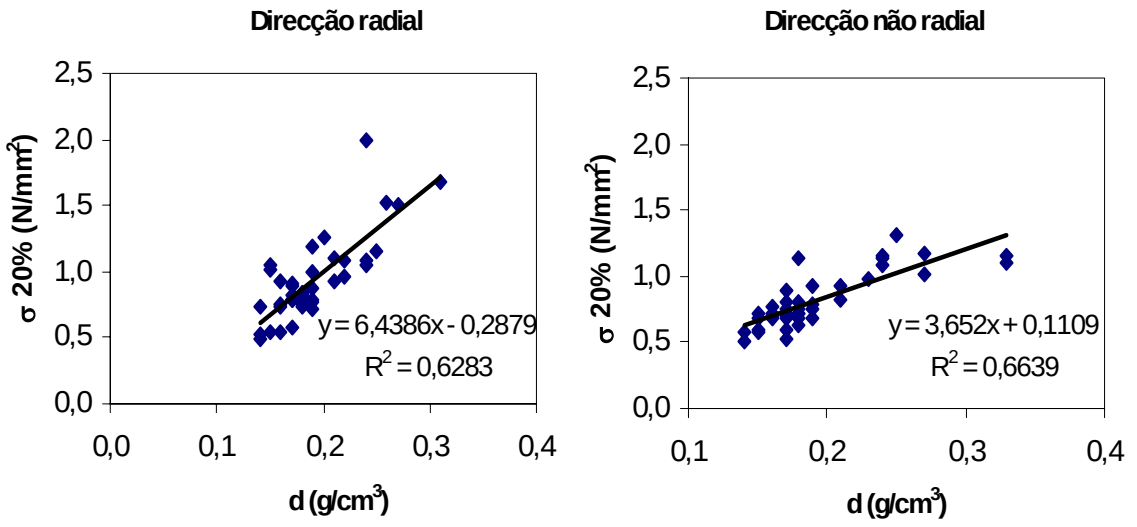


Figura 3.37. Tensão correspondente a 30% de extensão em compressão na direcção radial e em direcção não radial em função da densidade da cortiça

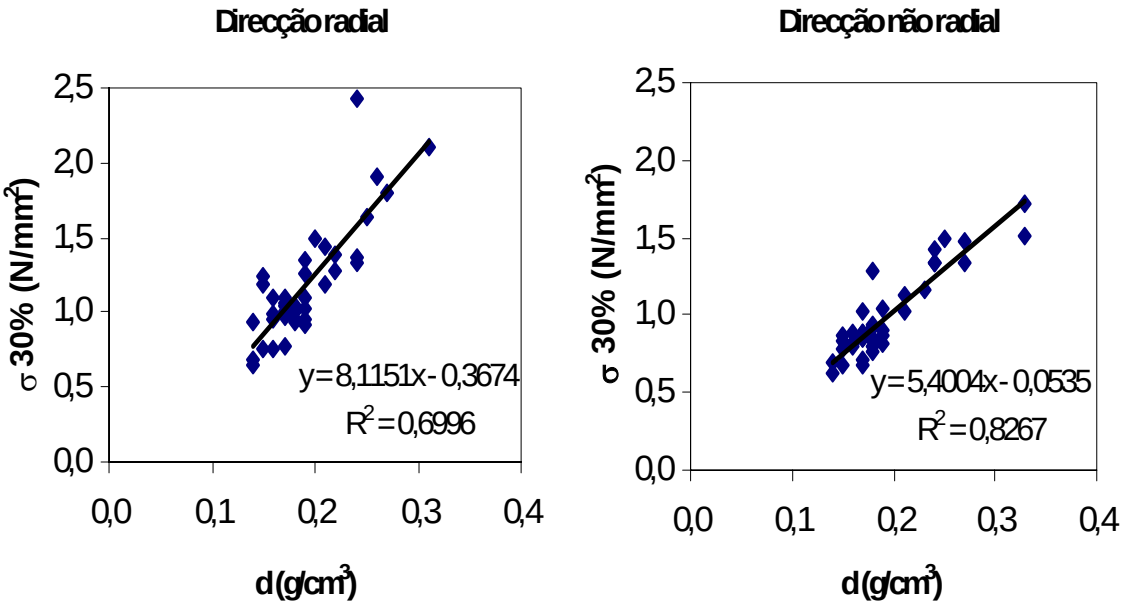
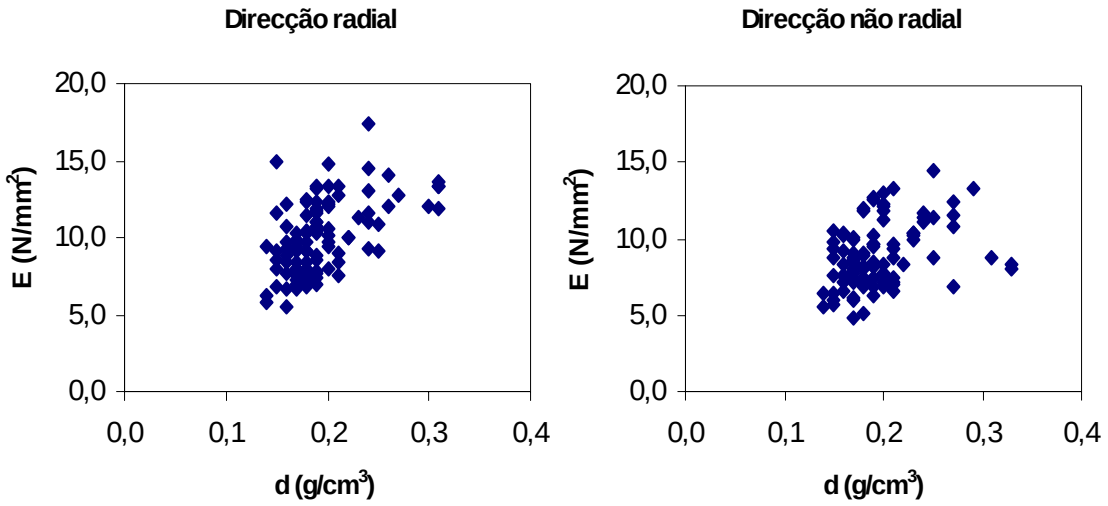


Figura 3.38. Módulo de Young da compressão na direcção radial e em direcção não radial em função da densidade da cortiça



A influência da porosidade no comportamento em compressão foi estudado através da sua relação com o coeficiente de porosidade total (CP, %) e com o coeficiente de porosidade relativos aos poros maiores que 2mm^2 (CP>2, %). Verificou-se que para ambos os parâmetros de porosidade, o módulo de Young não mostra qualquer tendência de variação tanto em compressão radial como não radial (Fig. 3.39).

Já a tensão necessária para a deformação de 20% e 30% mostra uma tendência para o aumento com a porosidade, embora a dispersão de valores seja elevada (Figura 3.40 e 3.41). Quer isto dizer que a cortiça com maior porosidade necessitará, em média, de maior pressão para ser comprimida para as deformações em causa na sua utilização para vinho.

Em relação à composição química não se verificou relação entre o teor de lenhina ou o teor de suberina nos parâmetros de compressão (Fig. 3.42 e 3.43).

Se se considerar as diferentes classes de qualidade da cortiça, verifica-se que o comportamento em compressão não apresenta relação com esta classificação, como se mostra na Figura 3.44 para o módulo de Young.

Figura 3.39. Módulo de Young da compressão na direcção radial e em direcção não radial em função da porosidade total da cortiça (CP, %) e da porosidade correspondente aos poros > 2 mm^2 (CP>2, %)

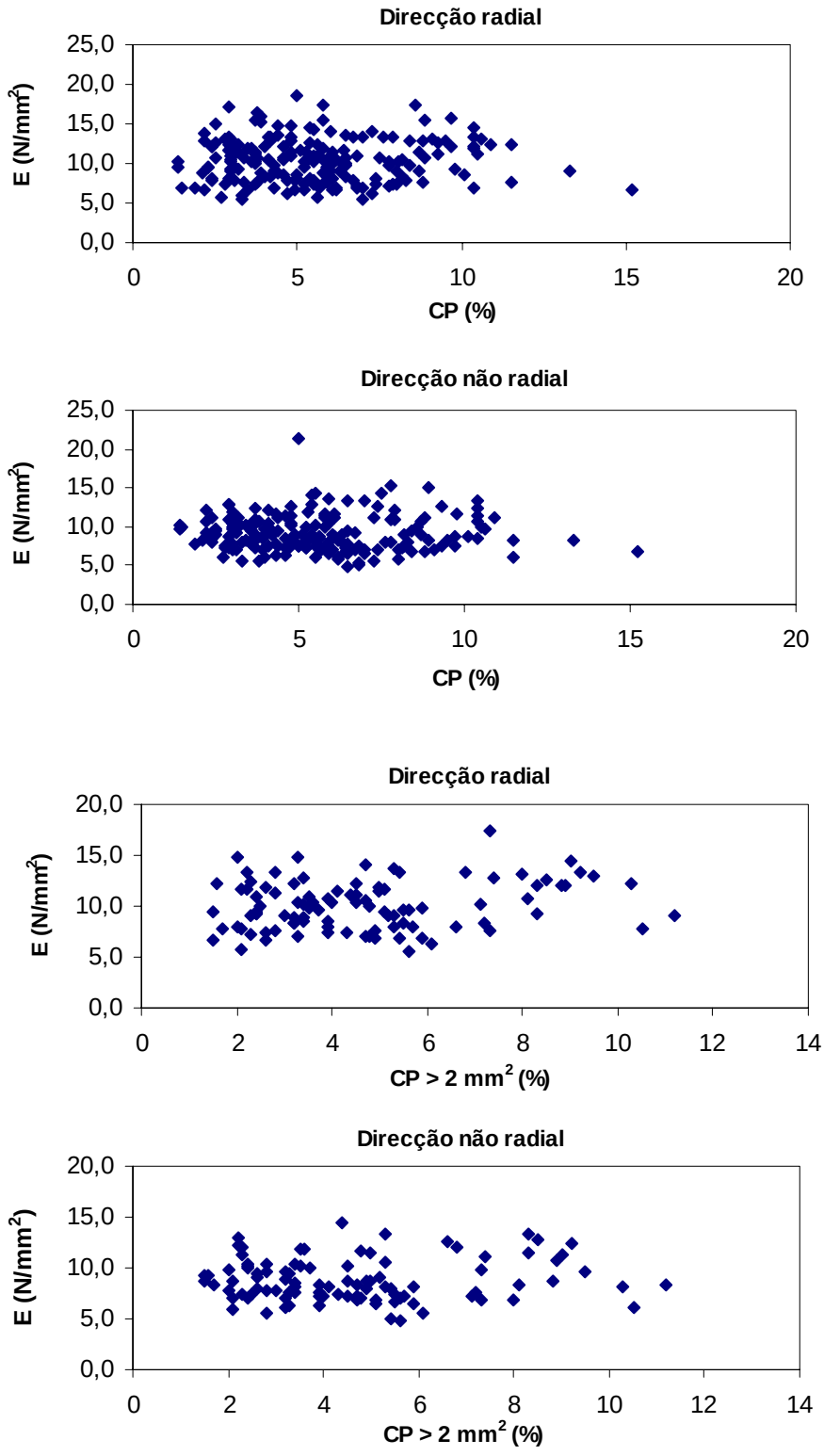


Figura 3.40. Tensão correspondente a 20% de extensão em compressão na direcção radial e em direcção não radial em função da porosidade total da cortiça (CP, %) e da porosidade correspondente aos poros >2 mm^2 (CP>2, %)

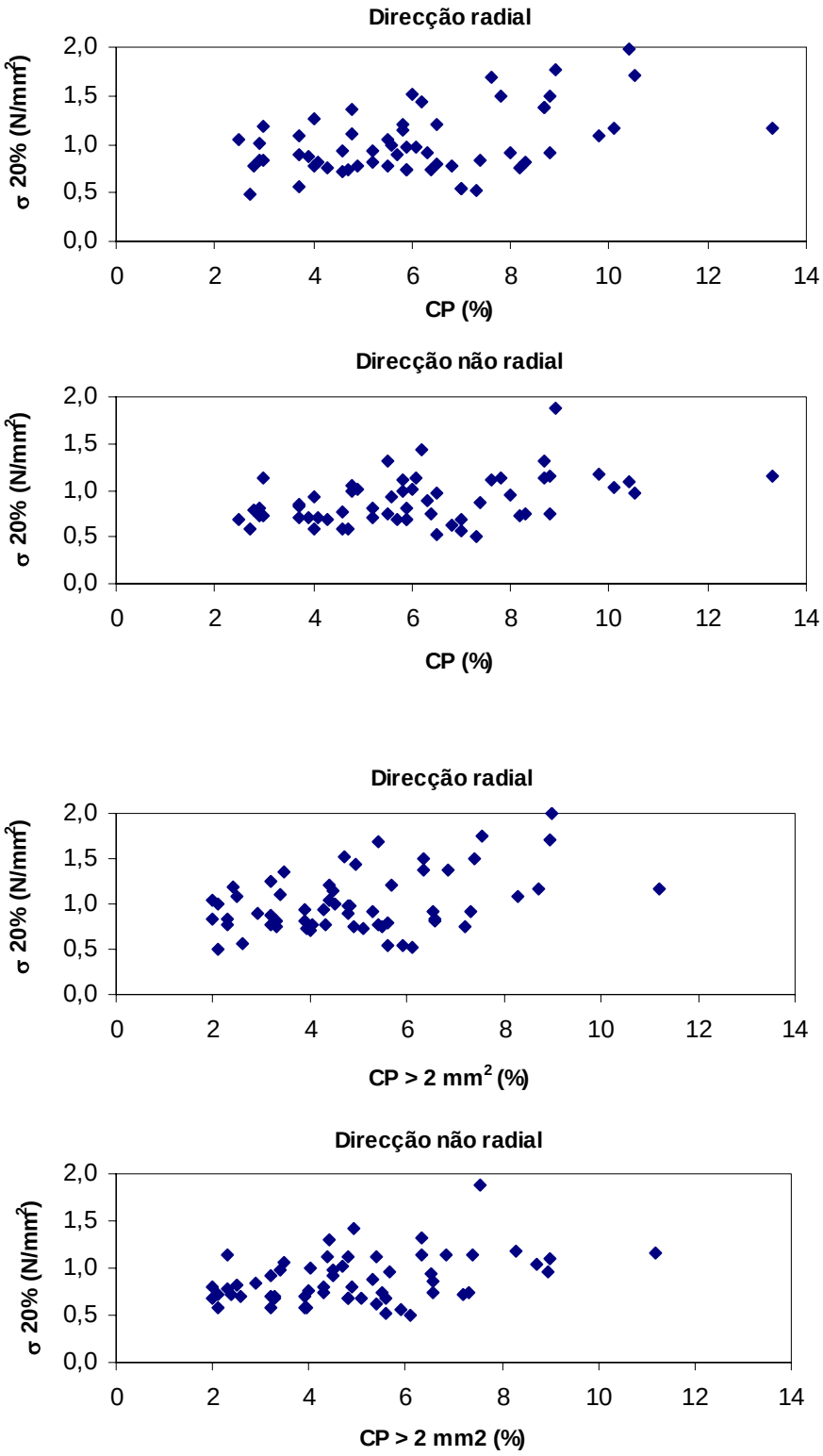


Figura 3.41. Tensão correspondente a 30% de extensão em compressão na direcção radial e em direcção não radial em função da porosidade total da cortiça (CP, %) e da porosidade correspondente aos poros >2 mm2 (CP>2, %)

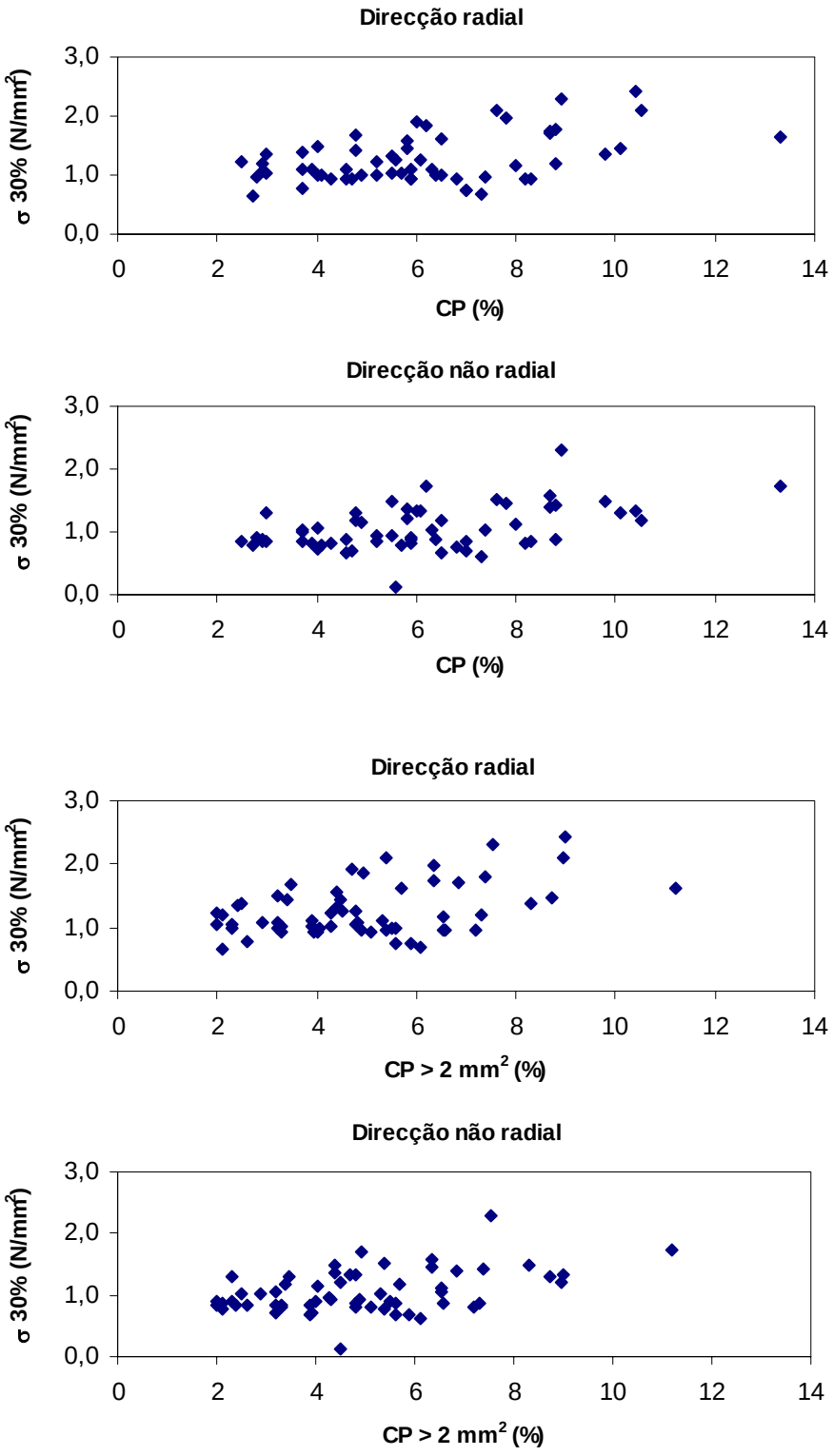


Figura 3.42. Módulo de Young, tensão correspondente a 20% e a 30% de extensão em compressão na direcção radial e em direcção não radial em função do teor de lenhina da cortiça

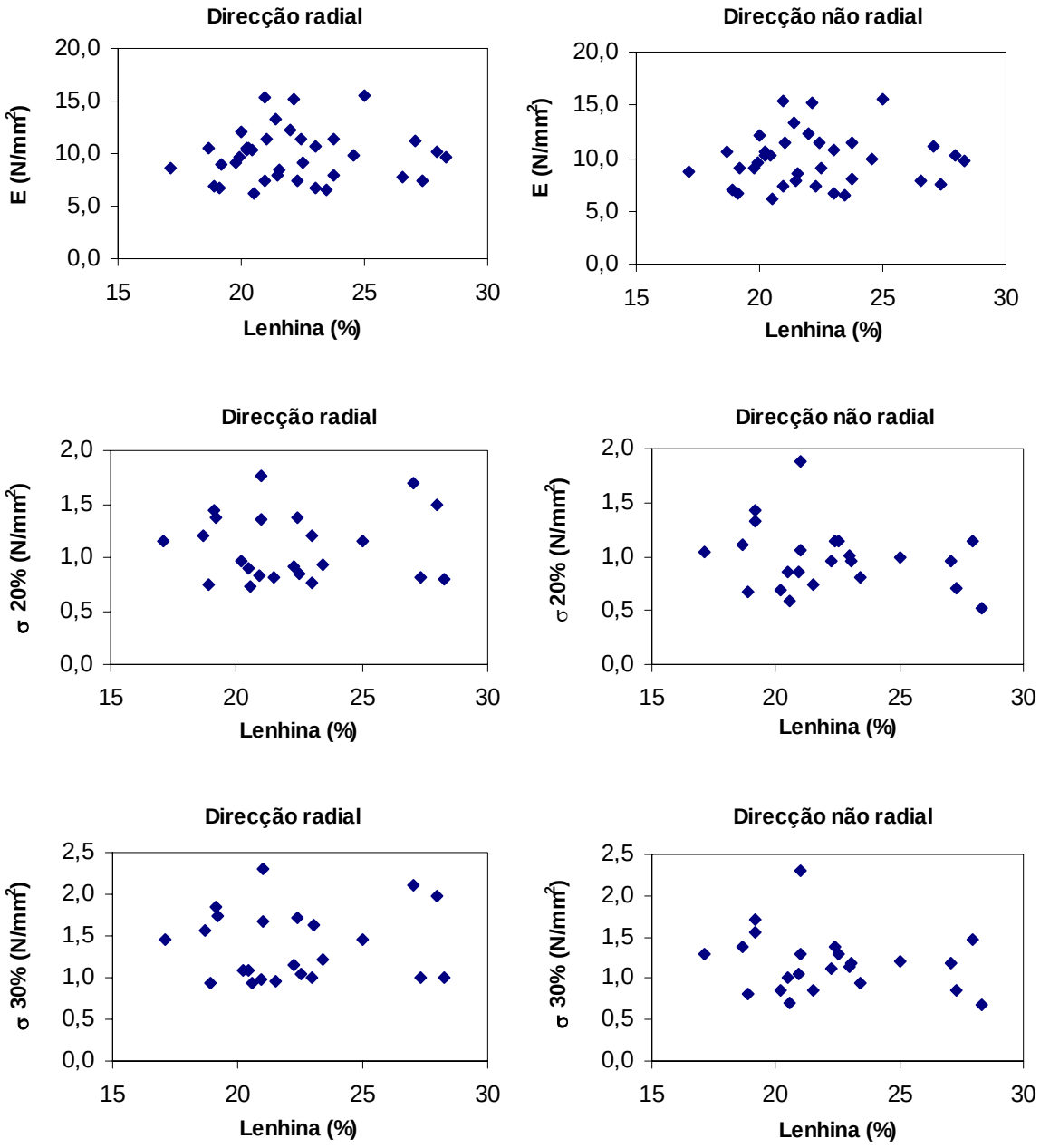


Figura 3.43. Módulo de Young, tensão correspondente a 20% e a 30% de extensão em compressão na direcção radial e em direcção não radial em função do teor de suberina da cortiça

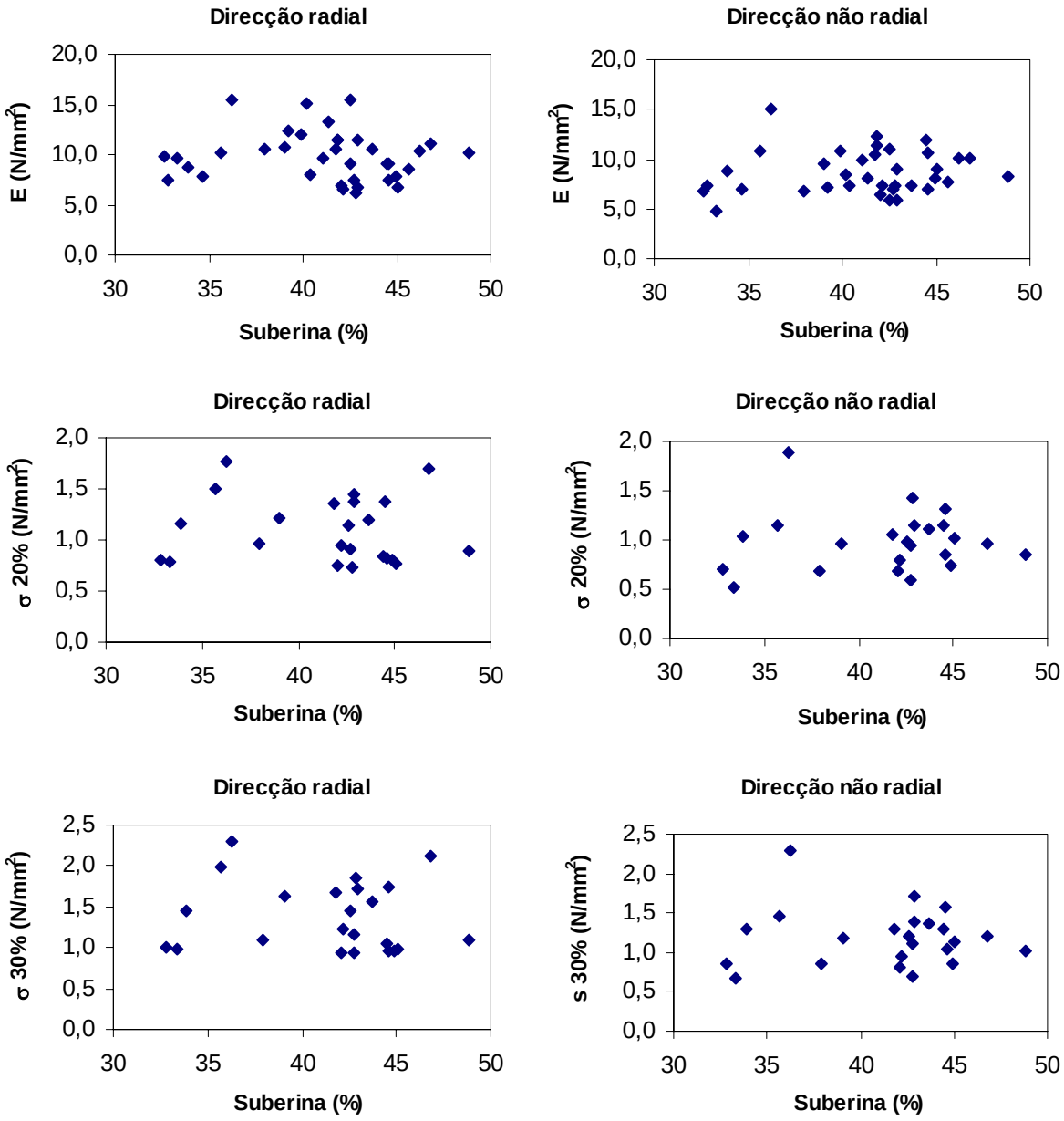
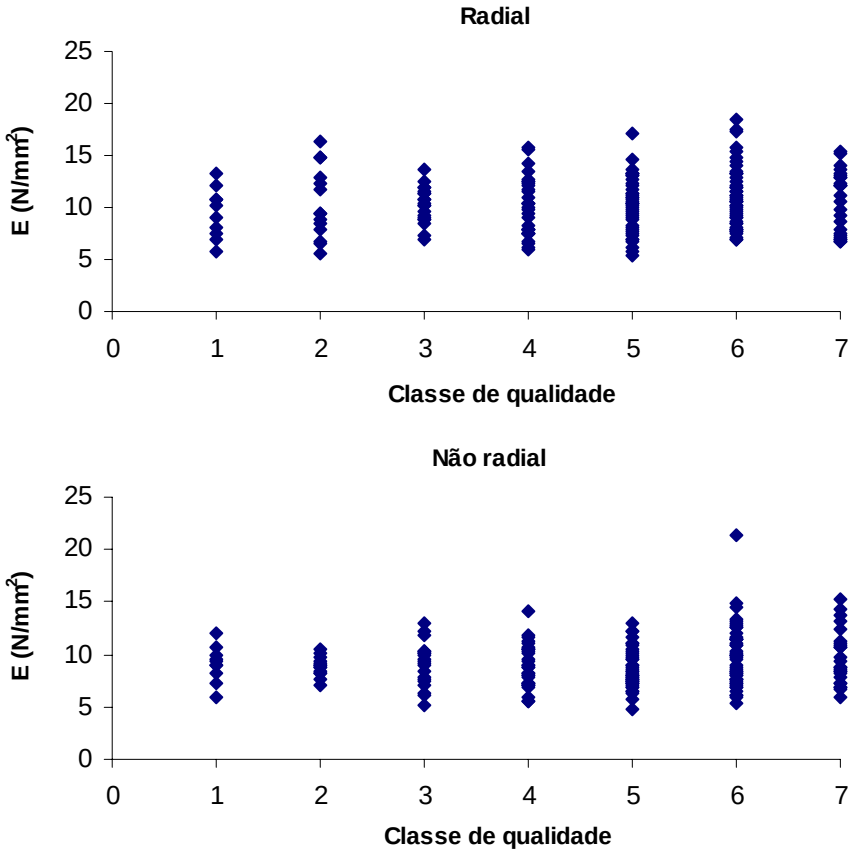


Figura 3.43. Módulo de Young para a compressão na direcção radial e em direcção não radial para cortiças de diferente classe de qualidade (1ª a 6ª classe e refugo (7))



3.4.3. Metodologia experimental

O comportamento mecânico da cortiça foi avaliado através da realização de ensaios de compressão em provetes cúbicos de cortiça preparados a partir das pranchas recolhidas nas diferentes árvores e locais de amostragem. Utilizaram-se cortiças de diferentes locais e zonas de qualidade. Assim analisou-se a cortiça das 20 árvores amostradas nos seguintes locais: 5A, 5B, 5C, 7A, 7B, 7C, 9A, 11B, 11C, 11D, 14A.

Os provetes foram cortados das pranchas de cortiça cozida, com uma serra, após retirar a costa e a barriga. Para estudar o efeito da anisotropia da estrutura da cortiça no comportamento mecânico, os provetes tinham a forma de cubos, com arestas paralelas às três direcções da árvore: radial (coincidente com o raio do tronco), axial (coincidente com o eixo da árvore) e tangencial (tangente ao tronco e, portanto, perpendicular às outras duas). Dado que as pranchas de cortiça tinham calibres diferentes, as arestas dos provetes utilizados tinham comprimentos entre 10 e 20 mm.

Antes de ensaiados, todos os provetes foram equilibrados ao ar, na atmosfera do laboratório. Determinou-se o teor de humidade, que variou entre 6 e 8 %.

Em alguns dos provetes fez-se a determinação da densidade, medindo-se o volume através do comprimento das arestas orientadas segundo cada uma das três direcções da cortiça, medido com uma craveira com precisão de 0,05 mm e fazendo para cada caso três medições.

Os ensaios de compressão foram realizados numa máquina universal de ensaios mecânicos Shimadzu, modelo AG-50KNE, cuja carga máxima é 50 kN e constante de rigidez 10^8 N/m. A carga é medida utilizando uma célula de carga com a capacidade de 5 000 N, sendo a precisão das cargas medidas de $\pm$ 0,25 N. Os ensaios foram feitos em condições previamente estudadas (Rosa e Fortes, 1988).

Num ensaio de compressão, o provete, com comprimento inicial L_0 é colocado entre dois pratos ligados rigidamente a dois travessões, um fixo e outro que se move com uma velocidade de deslocamento constante. No caso da máquina utilizada pode considerar-se que a variação de comprimento do provete, dL, é praticamente igual ao deslocamento do travessão. A máquina de ensaios fornece o registo da carga F aplicada ao provete em função do deslocamento do travessão, ou seja, equivalente à variação do comprimento do provete, dL. A partir deste registo é possível traçar curvas de tensão σ em função da extensão ε. A tensão σ é definida como $\sigma = F/A_0$, sendo F a carga aplicada e A_0 a área inicial da secção do provete perpendicular à direcção da aplicação da carga. A extensão ε é definida como ε (%) = dL/L_0 x 100, em que dL é a variação de comprimento do provete e L_0 o comprimento inicial. Todos os ensaios foram realizados à temperatura ambiente e a uma velocidade de extensão de 10^{-3} s^{-1} .

Para algumas cortiças fizeram-se ensaios de compressão segundo as três direcções da cortiça (radial, axial e tangencial). No entanto, para a maior parte das árvores e dado que o comportamento do material quando o ensaio é efectuado segundo as direcções axial e tangencial é semelhante (Gibson e Ashby 1988), efectuaram-se apenas ensaios segundo as direcções radial e uma direcção não radial (axial ou tangencial). Para cada situação efectuaram-se no mínimo três ensaios.

A partir da curva de compressão (tensão σ em função de extensão ε) calculou-se:

- o módulo de Young, E, definido como o declive da região inicial da curva de compressão
- a energia, W, por unidade de volume despendida na compressão, que corresponde à área sob a curva de compressão
- a extensão final correspondente à máxima carga aplicada (5 000 N)
- a tensão correspondente a extensões de 20% e de 30%

3.5. Bibliografia

Agulló, C. e E. Seoane. 1982. Hidrogenolisis de la suberina del corcho con LiBH4; Grupos carboxilo libres. *An. Quim*. 78C, 389-393. (1982)

Bernards, M., M. Lopez, J. Zajicek. e N. Lewis. 1995. Hydroxycinamic acid-derived polymers constitute the polyaromatic domain of suberin. *J. Biol. Chem.,* 270: 7382-7386.

Björkman, A. 1954. Isolation of lignin from finely divided wood with neutral solvents. *Nature* 174, 1057-1058.

Björkman, A. 1956. Studies on finely divided wood. Part 1. Extraction of lignin with neutral solvents. *Svensk Papperstidning* 59, 477-485.

Bjorkman, A. 1957. Studies on finely divided wood. part 5, The effect of milling. *Svensk Papperstidning*, 9 (1957), 329-335.

Borg-Olivier, O. e B Monties. 1993. Lignin, suberin, phenolic acids and tyramine in the suberized, wound induced potato periderm. *Phytochemistry 32*, 601-606.

Carvalho, J. 1987. Propriedades e composição química da cortiça. Texto do curso do Fundo Social Europeu “Técnicos para a Indústria Corticeira”, Instituto Superior Técnico, Lisboa.

Chayen, J., Bitensky, L. e R. Butcher. 1973. *Practical histochemistry.* John Wiley & Sons, Londres.

Cottle, W. e P. Kolattukudy. 1980. Aromatic constituents of potato suberin and their synthesis. *Plant Physiol*. (sup.) 65, 97.

Cottle, W. e P. Kolattukudy. 1982. Biosynthesis, deposition and partial characterization of potato suberin phenolics. *Plant Physiol*. 69, 393-399.

Crocker, E. 1921. An experimental study of the significance of "lignin" color reactions. *Ind. Eng. Chem.,* 13(7): 625-627.

Faix, O. 1991. Classification of lignins from different botanical origins by FT-IR spectroscopy. *Holzforschung* 45, 21-27.

Faix, O., D. Meier e I. Fortmann. 1990a. Thermal degradation products of wood. Gas chromatographic separation and mass spectrometric characterization of monomeric lignin derived products. *Holz Roh-Werkstoff* 48, 281-285.

Faix, O., D. Meier e I. Fortmann. 1990b. Thermal degradation products of wood. A collection of electron-impact (EI) mass spectra of monomeric lignin derived products. *Holz Roh-Werkstoff* 48, 351-354.

Faix, O., I. Fortmann, J. Bremer e D. Meier. 1991a. Thermal degradation products of wood. Gas chromatographic separation and mass spectrometric characterization of polysaccharide derived products. *Holz Roh-Werkstoff* 49, 213-219.

Faix, O., I. Fortmann, J. Bremer e D. Meier. 1991b. Thermal degradation products of wood. A collection of electron-impact (EI) mass spectra of polysaccharide derived products. *Holz Roh-Werkstoff* 49, 299-304.

Freudenberg, K. 1968. The constitution and biosynthesis of lignin. *In:* The constitution and biosynthesis of lignin. Eds. K. Freudenberg e A. C. Neish. Springer-Verlag, Berlin.

García-Vallejo, M.C., Conde, E., Cadahía, E. e Simón, F. 1997. Suberin composition of reproduction cork from *Quercus suber*. *Holzforschung*, 51: 219-224.

Gibson,L.J. e M.F.Ashby.1998. Cellular solids:Structure and properties.Cambridge Univ. Press, Cambridge

Graça, J. 1990. *Constituintes químicos da cortiça e de outros tecidos suberosos*. Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.

Guillemonat, A e Trainard J.C.1963. Sur la constitution chimique du liège. 4e mémoire: structure de la phellochryséine. *Bull. Soc. Chim. France* 142-144.

Guillemonat, A. 1960. Progrès récents dans l'étude de la constitution chimique du liège*. Ann. Fac. Sci. Marseille* 30, 43-54.

Hammerschmidt, R. 1985. Determination of natural and wound-induced potato tuber suberin phenolics by thioglycolic acid derivatization and cupric oxide oxidation. *Potato Res*. *28*, 123-127.

Hergert, H. 1958. Chemical composition of cork from white fir bark. *For. Prod. J*. 8, 335-339.

Hergert, H. e E. Kurth. 1952. The chemical nature of the cork from Douglas fir bark. *TAPPI* 35, 59-66.

Hergert, H.L. 1971.Infrared spectra.. In: Lignins-Occurence, Formation, Structure and Reactions. Eds. K.V. Sarkanen and C.H. Ludwig. Wiley interscience. New York. pp. 267-297.

Jensen, W. 1962*. Botanical histochemistry.* Freeman & Company, São Francisco.

Johansen, D. 1940. *Plant microthecnique.* McGraw Hili, Nova lorque.

Lapierre, C., B. Pollet e J. Negrel. 1996. The phenolic domain of potato suberin: structural comparison with lignins. *Phytochemistry 42*, 949-953.

Lillie, R. 1977. *Conn's biological stains.* The Williams & Wilkins Company, Baltimore.

Marques, A. V. e H. Pereira. 1987. On the determination of suberin and other structural components in cork from *Quercus suber* L. *An. Inst. Sup. Agron*. 42, 321-335.

Mata, M.L., C.M. Moiteiro, M.R. Tavares e M.J. Curto. 1990. *Aproveitamento dos produtos químicos dos resíduos da indústria corticeira para aplicação em química intermédia*. II Congresso Florestal Nacional, Vol. 2., pp. 1017-1019, Porto.

Meier, D. and O. Faix.1992. Pyrolysis-Gas Chromatography-Mass Spectrometry. In: Methods in Lignin Chemistry. Eds: S.Y. Lin, C.W. Dence. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg. pp. 176-199.

Natividade, J. 1934. Cortiças. Contribuição para o estudo do melhoramento da qualidade. *[Publ.] Dir. G. Ser:. Flor. Aquic.,* 1(1): 1-143.

Neto, C., J. Rocha, A. Gil, N. Cordeiro, A. Esculcas, S. Rocha, I. Delgadillo, J. de Jesus e A. Ferrer-Correia. 1995. ^{13}C solid state nuclear magnetic resonance and Fourier transform infrared studies of the thermal decomposition of cork. *Solid State Nucl. Magn. Reson.*, 4: 143-151.

Pereira, H, Baptista, C. e J. Graça. 1992. The effect of growth rate on the structure and compressive properties of cork. *IAWA Bull*. n.s. 13(4): 389-396

Pereira, H. 1979. Química da cortiça. III. Extracções da cortiça com solventes orgânicos e água. *Cortiça*, 509, 57-59.

Pereira, H. 1981. Química da cortiça. IV. Determinação da suberina em cortiça virgem e em cortiça de reprodução de *Quercus suber* L. *Cortiça*, 516, 233-235.

Pereira, H. 1981. Studies on the chemical composition of virgin and reproduction cork of *Quercus suber* L. *An. Inst. Sup. Agronomia,* 40: 17-25.

Pereira, H. 1987. Composição química da raspa em pranchas de cortiça de produção amadia. *Cortiça*, 587, 231-233.

Pereira, H. 1988. Chemical composition and variability of cork from *Quercus suber* L. *Wood Sci. Technol*. 22, 211-218.

Pereira, H.; Rosa, M. e M. Fortes. 1987. The celular structure of cork from *Quercus suber* L. *IAWA Bull. n.s.,* 8(3): 213-218.

Puls, J. 1993. Substrate analysis of forest and agricultural waste. In: Bioconversion of forest and industrial plant residues. Ed. A. Strub. CAB International, Wallingford. pp. 13-32

Ribas, I. 1952. Étude sur la constitution chimique du liège. *Chim. Ind*. 68, 333-350.

Rosa, M.E. e M.A. Fortes. 1988. Rate effects on the compression and recovery of dimensions of cork. *J.Mat. Science* 23:879-885

Schmutz, A., T. Jenny e U. Ryser. 1994. A caffeoyl-fatty acid-glycerol ester from wax associated with green cotton fibre suberin. *Phytochemistry*, 36: 1343-1346

Sitte, P. 1962. Zum Feinbau der Suberinschichten im Flaschenkork. *Protoplasma, 54: 555-559*.

Sitte, P.1955. Der Feinbau verkorkten Zellwände. *Mikroskopie,* 10: 178-200.

Stark, R., W. Sohn, R. Pacchiano, Jr., M. Al-bashir e J. Garbow. 1994. Following suberization in potato wound periderm by histochemical and solid-state ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Methods. *Plant Physiol*., 104: 527-533.

Van Wisselingh, C. 1892. Sur la lamelle subéreuse et la subérine. *Arch. Néerl. Sci. Exact. Natur.,* 26: 305--353.

Vieböck, F. und A. Schwappach. 1930. Eine neue Methode zur maβanalytischen Bestimmung der Methoxy- und Athoxy- gruppe. *Ber*. *63*, 2818-2823

Cap. 3. Considerações finais

Este projecto permitiu obter resultados originais que constituem um avanço em relação ao conhecimento das características e da variabilidade da produção de cortiça em Portugal, assim como em relação a metodologias de análise e ao conhecimento fundamental do material cortiça.

Alguns dos resultados permitem também uma aplicação prática como instrumento de gestão da produção da cortiça e da respectiva comercialização.

Por outro lado, os resultados permitiram apontar vários aspectos interessantes e importantes que necessitam de estudos mais detalhados, deste modo contribuindo para definir linhas de investigação relevantes nesta área.

1. Caracterização da qualidade tecnológica das cortiças

Um dos resultados importantes deste projecto é a própria amostragem efectuada, a colecção de amostras de cortiça preparadas e a base de dados constituída com as características determinadas (do local, da árvore e da cortiça). De facto, neste projecto fez-se, pela primeira vez em todo o país, uma amostragem sistemática de cortiças onde se avaliaram todos os parâmetros tecnológicos relevantes para a sua caracterização e estabelecimento da sua qualidade tecnológica, constituindo os locais e as árvores de amostragem uma rede permanente que possibilitará estudos futuros. O resultado distingue-se, deste modo, de tentativas anteriores de caracterização da produção da cortiça, ou porque apenas alguns parâmetros foram medidos, ou por que não foi mantida a ligação da amostra de cortiça à árvore amostrada ou porque os pontos de amostragem não foram concebidos para permitirem estudos posteriores.

A qualidade tecnológica da cortiça tem que ser definida tendo em conta a sua utilização. Para o caso da cortiça, o produto que actualmente determina a rentabilidade da fileira é a rolha da cortiça natural, pelo que esta constitui a finalidade primeira da produção de cortiça como matéria-prima.

Um primeiro parâmetro a considerar para a adequação da cortiça à fabricação deste produto é o calibre das pranchas. A porosidade da prancha constitui outro parâmetro que intervém para o estabelecimento da qualidade da cortiça, assim como a sua classe de qualidade como definida pela prática industrial actual. Outras características influenciam o desempenho dos produtos de cortiça: a densidade, o comportamento mecânico em compressão e a composição química. O seu efeito é mais complexo e

eles não são independentes, quer entre si, quer com os parâmetros já anteriormente mencionados, desconhecendo-se ainda alguns aspectos da sua actuação

A caracterização da qualidade tecnológica das cortiças pode ser compilada numa ficha caracterizadora, quer individualmente por cada amostra de cortiça, quer como valor médio para uma produção de diferentes árvores.

A ficha geral para um local de amostragem (herdade), que inclui a média ou a distribuição dos valores dos diferentes parâmetros medidos nas cortiças produzidas, pode ser utilizada como caracterizadora da produção e da qualidade tecnológica da produção para o respectivo local de amostragem.

Estas fichas, para além da caracterização completa que oferecem, permitem ao produtor avaliar a qualidade tecnológica da sua produção e, portanto, do seu valor como matéria-prima para a indústria. Para este caso serão particularmente interessantes os seguintes parâmetros:

- o calibre, a porosidade e a classificação comercial, para o estabelecimento da qualidade tecnológica que é utilizada na comercialização
- o crescimento médio anual em 8 anos, como instrumento de gestão para optimizar os ciclos de produção
- a produção por unidade de área descortiçada para prever a produção, em peso da cortiça

A amostragem efectuada permite caracterizar genericamente a produção de cortiça em Portugal tendo como base as 680 amostras recolhidas, assim como a exploração das árvores para produção de cortiça. Verificou-se que na maioria dos casos se tratava de povoamentos de regeneração natural e que, no total, 30% das árvores possuíam um perímetro à altura do peito inferior a 120 cm, em princípio indicativo de uma fase jovem de produção. O coeficiente de descortiçamento médio para o total das árvores foi 2,2 o que é bastante inferior ao valor 3 permitido por lei.

Verificou-se a existência de cortiças com 5 idades de criação diferentes, desde 9 anos até 16 anos, embora a maior parte das amostras recolhidas corresponda às idades de produção de 9 e 10 anos, respectivamente 50,9% e 31,4% do total.

Embora se trate de uma amostragem limitada, e que de modo algum se poderá generalizar para o total do país, os valores que se determinaram no projecto sobre a biometria das árvores e o tipo e extensão do descortiçamento constituem dos poucos elementos quantificados publicados sobre o montado e a exploração da cortiça. Dada a sua importância, nomeadamente como elemento de monitorização e de gestão para o montado, pensamos que deveria ser alargada a respectiva rede de pontos

amostrados, aumentando assim a base de dados e permitindo o conhecimento mais geral sobre o montado e a exploração de cortiça em Portugal.

Verificou-se que 55% da produção total corresponde a cortiças com a melhor adequação para o fabrico de rolhas (27-40 mm) e que 27% possuem já um calibre demasiado elevado (> 40 mm).

As cortiças de boa qualidade (1ª - 3ª) correspondem a 18%, as cortiças de qualidade média (4ª - 5ª) a 37%, as cortiças de qualidade fraca (6ª classe) a 33% e o refugo a 12% do total. Confirma-se, assim, a ideia de que só uma pequena parte das cortiças produzidas são de boa qualidade, o que mostra as potencialidade de um trabalho de melhoramento conduzido no sentido de aumentar a qualidade da cortiça do sobreiro.

Para grande parte dos parâmetros analisados nas cortiças verificou-se uma grande variabilidade entre árvores do mesmo local, variabilidade essa que se sobrepõe à variabilidade encontrada entre locais. A maior variabilidade encontrada foi em relação à porosidade das cortiças e portanto à sua classe de qualidade comercial, onde coeficientes de variação da média em cada local são frequentemente perto de 40%

Também a composição química, especialmente em relação aos componentes não estruturais, e o comportamento mecânico em compressão mostram uma variabilidade entre árvores acentuada, com coeficientes de variação da média na zona dos 20%.

Já a variação da densidade bruta da cortiça entre árvores da mesma herdade não é muito elevada e os coeficientes de variação da média são, em geral, aproximadamente 10%. Também o crescimento da cortiça mostra que a variação existente dentro do local de amostragem, resultante da diferença entre árvores, não é muito elevada e corresponde, em geral, a um coeficiente de variação da média de 6%.

Verificou-se haver uma diferença estatisticamente significativa entre o crescimento da cortiça para os diferentes locais. Este facto aponta para que no crescimento da cortiça intervenham factores ambientais e de técnica suberícola. O estudo destes aspecto, para além do aprofundamento do conhecimento sobre o crescimento da cortiça, possui um efeito prático importante pois pode constituir um instrumento de gestão para o montado, ou seja para optimizar os ciclos de produção de cortiça.

De facto verificou-se que o aumento do ciclo de produção de 9 para 10 anos, nos casos em que tal foi feito, não parece ter tido como base justificativa a existência de menores acréscimos médios da cortiça e foi provavelmente desnecessário numa óptica de optimização da produção. Verificou-se, em média, para todos os casos estudados, uma diminuição da produção em peso da cortiça por área descortiçada e por ano com o número de anos do ciclo: 0,96 kg/m^2.ano para um ciclo de 9 anos, 0,87 kg/m^2.ano para um ciclo de 10 anos e 0,80 kg/m^2.ano para um ciclo de 11 anos.

Também algumas das afirmações empíricas correntes no mundo suberícola não se confirmaram quando se realizou a sua quantificação e análise de significância estatística. Assim, por exemplo,

- expansão da cortiça com a cozedura não está significativamente correlacionada com a espessura em cru da cortiça nem com a sua porosidade ou com a densidade bruta da cortiça

- a porosidade não se mostrou significativamente correlacionada com o calibre da cortiça.

- a porosidade também não parece influenciar significativamente a densidade bruta das cortiças

Verifica-se, no entanto, uma correlação significativa entre a densidade e o calibre da cortiça, correspondendo as menores densidades aos maiores calibres. A correlação da densidade e o crescimento de 8 anos completos da cortiça é também significativo, com as menores densidades a corresponder aos maiores crescimentos.

De referir que, com base na amostragem realizada, a tradicional divisão de Portugal e das áreas do montado em diferentes zonas de qualidade não parece fazer sentido qualquer que seja o parâmetro utilizado para a sua definição. Propõe-se assim que se deixe esta classificação. Face aos resultados encontrados será interessante a eventual distribuição do montado por zonas correspondendo a diferentes crescimentos de cortiça e, portanto, diferentes produtividades mássicas. Para tal será necessário um estudo orientado no sentido da determinação da influência dos factores edáficos e climáticos no crescimento da cortiça.

Resta ainda referir o potencial encontrado para a optimização da gestão da produção de cortiça, nomeadamente em termos de definição de ciclo de extracção, para o que o desenvolvimento de modelos de produção se reveste de grande importância.

2. Metodologia para a análise de qualidade

A classificação qualitativa da cortiça é uma das operações importantes de todo o processo de transformação industrial e o valor comercial, tanto da cortiça como dos produtos corticeiros é determinado pela sua qualidade. Compreende-se, assim, que a qualidade da matéria-prima cortiça seja a chave de todo o processo industrial e económico do sector corticeiro.

No entanto, a classificação da cortiça é feita por observação visual, processo que constitui um dos pontos fracos do sector corticeiro, pois para as mesmas designações de classe de qualidade a classificação não é igual entre operadores e, sobretudo,

pode ser muito diferente entre classificadores de unidades industriais diferentes. A não definição da qualidade da cortiça de forma quantificada e constante dá origem, por vezes, a situações de conflito comercial e impede a determinação do valor real das cortiças transaccionadas.

O facto de não se terem estabelecido padrões de qualidade claramente definidos e quantificados constitui um factor de desvantagem da cortiça face a outros produtos concorrentes e propicia uma menor confiança por parte dos utilizadores.

Neste projecto mostrou-se a possibilidade de fazer a quantificação da qualidade na cortiça utilizando duas técnicas diferentes: a análise de imagem e a análise química por espectroscopia de infra-vermelho.

As técnicas de análise de imagem permitem caracterizar e quantificar os objectos presentes na massa de cortiça e que dela se distinguem visualmente (em geral designados poros) através de diferentes parâmetros. De facto, as técnicas de análise de imagem aplicadas à observação das superfícies da cortiça permitem quantificar os parâmetros que caracterizam a porosidade das pranchas, sendo possível utilizar os resultados para estabelecer uma separação das cortiças em diferentes classes de qualidade ou para estabelecer classes de qualidade para a classificação de cortiça. Mostrou-se, por exemplo, que o coeficiente de porosidade, por si só, permite distinguir em geral as cortiças de diferentes classes industriais.

No entanto existe variação do coeficiente de porosidade entre cortiças da mesma classe de qualidade industrial, resultante normalmente da presença de outros defeitos, nomeadamente a terra, o prego, o bofe e as galerias de insectos. A introdução de outros parâmetros quantificados na análise de imagem como elementos de restrição para a definição de classes de qualidade, permitiria melhorar a concordância com a classificação visual por operador. Também a análise e a determinação de outros defeitos permitirá uma melhor caracterização da aptidão tecnológica das pranchas de cortiça o que, conjugado com a caracterização rigorosa da porosidade que é possível fazer utilizando as técnicas agora desenvolvidas, permitirá estabelecer critérios de classificação em classes de qualidade para pranchas de cortiça de natureza objectiva e quantificada.

Uma análise sobre a adequação da classificação das pranchas de cortiça em 6 classes de qualidade e refugo impõem-se também, sendo de interesse estudar outro tipo de classificação, por exemplo com um menor número de classes de qualidade e quais os impactos em termos de rendimento mássico e qualitativo que tal facto originará na indústria, nomeadamente na produção de rolhas.

São estas as linhas de investigação que, na sequência dos trabalhos efectuados, nos parecem adequadas para o desenvolvimento dos trabalhos de caracterização da porosidade da cortiça e da sua classificação.

Por outro lado, a qualidade industrial de uma cortiça é, em grande parte, determinada pela proporção entre a massa suberosa propriamente dita, o tecido lenticular dos poros e o tecido floémico presente (prego). Como a composição química destes três materiais é diferente, pode-se encarar que uma análise química permita distinguir diferentes proporções entre eles e, portanto, diferentes qualidades para a cortiça. As técnicas espectroscópicas são particularmente adequadas para o efeito pois são relativamente rápidas, exigem pequena quantidade de material, são reprodutíveis e podem ser aplicadas com carácter de rotina.

Mostrou-se neste trabalho que a absorção no infravermelho dos diferentes constituintes da cortiça os permite distinguir claramente, utilizando para o efeito picos característicos dos respectivos espectros. No entanto, para fins de classificação de qualidade, a análise das cortiças por espectroscopia de infravermelho tem a limitação de apenas medir as diferenças de composição em termos dos tecidos suberoso, lenticular e floémico presentes. De facto, a classificação industrial tem em conta outros parâmetros como sejam a extensão e as características da porosidade, a homogeneidade da espessura, ou a presença de outros defeitos, que não estão, ou podem não estar, em relação com a proporção dos diferentes tecidos nas pranchas de cortiça.

No entanto, demonstrou-se a possibilidade de reconhecer claramente por técnicas espectroscópicas no infra-vermelho (FTIR) três grupos de qualidade de cortiça, cuja utilização pode ser aplicada à análise qualitativa de pó de cortiça. Nestes estudos, a análise por FTIR permitiu distinguir as cortiças de qualidade boa, as cortiças de qualidade média/fraca e as cortiças de qualidade muito fraca.

Por outro lado, as diferenças de absorvância dos picos entre as várias cortiças analisadas são por demais evidentes, o que sugere a possibilidade de se poder estudar a composição química das cortiças por espectroscopia de infra-vermelho (FTIR). Esta possibilidade será altamente vantajosa, porque as análises químicas pelos métodos tradicionais são caras e demoradas e, portanto, pouco adequadas a estudos da composição química de um elevado número de cortiças. Para tal impõe-se um estudo sobre a calibração e a validação da metodologia espectroscópica para fins de análise da composição química da cortiça. Quando existir, esta metodologia constituirá um instrumento de análise importante para estudar a variabilidade química da cortiça e dos possíveis factores (climáticos, genéticos, por exemplo) nela intervenientes.

3. Conhecimento fundamental da cortiça

No âmbito deste projecto PAMAF fizeram-se alguns avanços significativos em áreas importantes para o conhecimento fundamental da cortiça.

A nível da composição química da cortiça foi obtida pela primeira vez evidência directa da natureza glicerídica da estrutura da suberina. Isto permitiu novas hipóteses sobre a estrutura do polímero, substituindo modelos anteriores para a suberina baseados apenas no conhecimento dos monómeros de cadeia hidrocarbonada longa. A natureza de parte dos compostos aromáticos poliméricos associados à suberina foi pela primeira vez conclusivamente provada ser uma lenhina gaiacílica típica. Novas pistas foram abertas sobre a natureza da parte dos poli-aromáticos com teor baixo de grupos metoxilo. Foi descoberto que o ácido ferúlico poderá desempenhar um papel importante na ligação entre a suberina e os poli-aromáticos. O conhecimento dos extractivos “gordos” e “cerosos” da cortiça foi melhorado.

Alguns destes contributos constituiram mesmo novidade absoluta no estudo dos materiais suberificados para além da cortiça.

Apesar dos progressos feitos, o conhecimento fundamental da cortiça continua incompleto em muitas das suas áreas. O polímero constituinte fundamental da cortiça, a suberina, continua a ser, no que diz respeito à sua estrutura macromolecular, em grande parte desconhecido. Também parte dos compostos poli-aromáticos que nas paredes celulares estão associados à suberina, continuam também a não ser conhecidos, assim como as formas de interligação entre estes vários conjuntos poliméricos. De igual modo, uma parte significativa da grande quantidade de compostos que integram os extractivos continua ainda por identificar, sobretudo no que diz respeito as compostos solúveis em soluções alcoólicas e aquosas. O modo como estes compostos poliméricos e extractáveis se distribuem e associam nas paredes celulares suberificadas está ainda por esclarecer. Destaca-se, particularmente, que a natureza exacta e a composição das lamelas ultra-estruturais claro-escuro da camada suberínica da parede celular não é ainda conhecida, apesar das hipóteses existentes.

Estas lacunas no conhecimento fundamental da cortiça criam fragilidades que têm prejudicado o desenvolvimento do sector corticeiro e que podem contribuir para o seu declínio. Efectivamente, a compreensão das razões das propriedades e comportamentos do tecido suberoso da cortiça é ainda muito limitada. Sabemos que essas propriedades da cortiça decorrem necessariamente das suas células suberificadas, da sua forma e dimensão, arranjo tridimensional, estrutura das paredes celulares, e dos compostos químicos que as integram, particularmente a suberina. Não sabemos, no entanto, qual a relação que existe entre estes vários componentes e as

propriedades, tais como a elasticidade, impermeabilidade, condutibilidade e muitas outras de interesse tecnológico que a cortiça possui. Este desconhecimento tem impedido uma definição adequada da "qualidade" na cortiça, assim como complicado o planeamento dos caminhos para obter a melhoria dessa qualidade.

A falta de um conhecimento fundamental aprofundado da cortiça tem tido muitas outras consequências negativas para a indústria da cortiça. Por exemplo, na comparação em termos de vantagens e desvantagens do desempenho tecnológico com materiais sucedâneos, nomeadamente sintéticos, cuja composição e propriedades são bem conhecidos. Um dos casos com mais impacto económico para todo o sector corticeiro é o das rolhas de cortiça natural. O caso do "gosto a rolha" ou de outros defeitos que alegadamente a rolha pode "transmitir" ao vinho, têm sido divulgados sem que se saiba exactamente se são constituintes da rolha que estão na sua origem e os porquês do seu aparecimento.

Em contrapartida, um conhecimento aprofundado da composição química, estrutura e propriedades da cortiças, para além da defesa que constituirá para o material, poderá levar a outras aplicações de interesse tecnológico. Estão em causa, para além de outros usos industriais do material tal qual, também do desenvolvimento de materiais híbridos ou de a cortiça ser fonte de produtos químicos para usos específicos. Os casos de sucesso dos aglomerados cortiça-borracha ou da utilização das cortiças de alta qualidade para usos de alto valor acrescentado são casos que mostram o potencial existente.

Para o aprofundamento do conhecimento fundamental da cortiça, nomeadamente nas suas vertentes da composição química, estrutura e propriedades fisico-mecânicas, as bases estão lançadas. São conhecidas e estão disponíveis hoje as técnicas analíticas, que depois de devidamente aplicadas ao caso da cortiça, podem dar resposta a muitas das lacunas existentes no seu conhecimento fundamental. Algumas das técnicas necessárias para levar por diante esta investigação envolvem no entanto custos elevados, nomeadamente de equipamento.

As equipas de investigação participantes neste projecto têm o conhecimento, a capacidade e a vontade para continuar estes estudos sobre o conhecimento fundamental da cortiça. Através de projectos de investigação, têm conseguido meios para continuar alguns destes trabalhos. No entanto, os financiamentos assim conseguidos são insuficientes para a tarefa e sem garantias de continuidade. Para além disto, o esforço associado à gestão dos contratos de investigação é muito elevado, do qual uma parte significativa é ingloriamente desperdiçado em tarefas administrativas e burocráticas. Deste modo, um avanço maior ou menor no conhecimento fundamental na área do matetrial cortiça estará assim em boa parte dependente de opções políticas de definição de objectivos de investigação e dos quantitativos e formas de financiamento a eles atribuídos.

Cap.4. Divulgação dos resultados

A este projecto de investigação estão associadas publicações e teses de doutoramento, mestrado e trabalhos de fim de curso de licenciatura como a seguir se discrimina. A associação ao projecto refere-se à utilização de material amostrado, de resultados directamente obtidos nos trabalhos do projecto ou a aplicação de metodologias para o desenvolvimento das quais o projecto contribuiu.

Até agora encontram-se finalizadas 2 teses de doutoramento, 1 tese de mestrado e 9 trabalhos de fim de curso de licenciatura. Publicaram-se ou estão em impressão 10 artigos em revistas internacionais com painel de avaliação ("referee") e 5 artigos em revistas nacionais ou em actas de congressos. Refere-se que algumas teses estão ainda em curso assim como diversos artigos em fase de preparação pelo que o impacto deste projecto na produção científica e técnica nesta área será maior.

1. Artigos em revistas internacionais com painel de avaliação

Marques, A. V., H. Pereira, D. Meier & O. Faix. 1996. Isolation and characterization of a guaiacyl lignin from saponified cork of *Quercus suber* L. *Holzforschung* 50: 393-400.

Graça, J. & H. Pereira. 1997. Cork suberin: a glyceryl based polyester. *Holzforschung* 51: 225-234.

Graça, J. & H. Pereira. 1998. Feruloyl esters of w-hydroxyacids in cork suberin. *Journal of Wood Chemistry and Technology* 18: 207-217.

Marques, A. V., H. Pereira, D. Meier & O. Faix. 1999. Structural characterization of cork lignin by thioacidolysis and permanganate oxidation. *Holzforschung* 53: 167-174.

Graça, J. & H. Pereira. 1999. Methanolysis of bark suberins: analysis of glycerol and acid monomers. *Phytochemical analysis* 10: 1-7.

Graça, J. & H. Pereira. 1999. Glyceryl-acyl and aryl-acyl dimers in Pseudotsuga menziesii bark suberin. *Holzforschung* 53: 397-402.

Gonzalez-Adrados, J. R., F. Lopes & H. Pereira. 1999. The quality of cork planks with classification models based on defect characterization. *Wood Science and Technology*. No prelo.

Lopes, F. & H. Pereira. 1998. The definition of quality classes for champagne cork stoppers in the high quality range. *Holz als Roh-und Werkstoff*. No prelo.

Cumbre, F., F. Lopes & H. Pereira. 1999. The effect of water boiling on annual ring width and porosity of cork. *Wood and Fiber Science*. No prelo.

Ferreira, A., F. Lopes & H. Pereira. 1999. Caractérisation de la croissance et de la qualité du liège dans une région de production. *Annals Forest Science*. No prelo.

2. Publicações em revistas nacionais ou em actas de congressos

Ferreira, A., F. Lopes & H. Pereira. 1997. Variabilidade da produção e qualidade da cortiça na região de Alcácer do Sal. Em: *Sobreiro e cortiça*. Ed. H. Pereira. Centro de Estudos Florestais, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa. pp. 70-78.

Ferreira, A., C. Mendes, F. Lopes & H. Pereira. 1997. Relação entre crescimento da cortiça e condições climáticas na região da bacia do Sado. Em: *Sobreiro e cortiça*. Ed. H. Pereira. Centro de Estudos Florestais, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa. pp. 156-161.

Lopes, F. & H. Pereira. 1997. Caracterização de pranchas de cortiça com diferente classificação industrial. Em: *Sobreiro e cortiça*. Ed. H. Pereira. Centro de Estudos Florestais, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa. pp. 332-340.

Pereira, H. 1999. PAMAF nº4053 *Caracterização da qualidade tecnológica das cortiças portuguesas* (poster). 1ª Jornada "O ISA e a investigação no âmbito do PAMAF". Instituto Superior de Agronomia.

Pereira, H. 1999. O calibre e a porosidade como parâmetros da qualidade tecnológica da cortiça em prancha. *Revista Florestal* 11 (2): 46-50.

3. Teses de Doutoramento

José Afonso Rodrigues Graça. 1998. *A suberina da cortiça. Lípidos macromoleculares estruturais das paredes celulares suberificadas da cortiça de Quercus suber L.* Instituto Superior de Agronomia. *Orientadora: Helena Pereira*

António Jorge Velez Marques. 1998. *Isolamento e caracterização estrutural da lenhina da cortiça de Quercus suber L.* Instituto Superior de Agronomia. . *Orientadora: Helena Pereira*

Javier Vasquez Piqué. Em curso. *Avaliação precoce da qualidade da cortiça*. Instituto Superior de Agronomia. *Orientadores: Angelo Oliveira e Helena Pereira*

Fernando Lopes. Em curso. *Variação da qualidade e produção de cortiça dentro e entre árvores. Modelos de produção para o sobreiro*. Instituto Superior de Agronomia. *Orientadores: Helena Pereira e Margarida Tomé*

4. Teses de mestrado

Fernando António Silva Lopes. 1999. *Aplicação de técnicas de análise de imagem na avaliação da qualidade de pranchas e rolhas de cortiça*. Mestrado em Engenharia dos Materiais Lenhocelulósicos. Instituto Superior de Agronomia. *Orientadora: Helena Pereira*

5. Trabalhos de fim de curso de licenciatura

Alexandra Maria Rodrigues Ferreira. 1997. *Caracterização da qualidade e do crescimento de cortiças da região de Alcácer do Sal*. Licenciatura em Engenharia Florestal. Instituto Superior de Agronomia. *Orientadora: Helena Pereira*

Marina González León. 1997. *Caracterización de la regeneración natural de algunas parcelas permanentes del proyecto PAMAF/INIA 4053*. Licenciatura em Engenharia Florestal. Instituto Superior de Agronomia. *Orientadora: Helena Pereira*

Sónia Maria Calado Martins. 1998. *Caracterização da qualidade e do crescimento de cortiças provenientes da margem esquerda do Tejo*. Licenciatura em Engenharia Florestal. Instituto Superior de Agronomia. *Orientadora: Helena Pereira*

Cristina Alexandra Martins Pereira. 1998. *Caracterização da qualidade e do crescimento de cortiças da região do vale do Sorraia, sudoeste alentejano e serra algarvia*. Licenciatura em Engenharia Florestal. Instituto Superior de Agronomia. *Orientadora: Helena Pereira*

Isabel Maria Rodrigues Pais. 1998. *Caracterização da qualidade e do crescimento de cortiças da região do vale do Sorraia, sudoeste alentejano e serra algarvia*. Licenciatura em Engenharia Florestal. Instituto Superior de Agronomia. *Orientadora: Helena Pereira*

Ana Catarina Ferro Fialho. 1998. *Estudo sobre a formação de felogenes traumáticas em árvores jovens e adultas de sobreiro. Efeito do descortiçamento na fenologia*. Licenciatura em Biologia Vegetal Aplicada. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. *Orientadora externa: Helena Pereira. Orientadora interna: Maria Amélia Martins-Loução*

Tiago Beja Godinho Malhoa da Costa. 1998. *Avaliação precoce da qualidade da cortiça amadia nas características do entrecasco de ramos jovens de sobreiro*. Licenciatura em Engenharia Florestal. Instituto Superior de Agronomia*. Orientadores: Helena Pereira e José Graça*

Carla Filipa Chaves Moreira Taco. 1998. *Relações entre a morfologia externa do entrecasco e a qualidade da cortiça amadia*. Licenciatura em Engenharia Florestal. Instituto Superior de Agronomia. *Orientadores: Helena Pereira e José Graça*

Maria Francisca Magalhães Pavia Cumbre. 1999. *Avaliação da qualidade tecnológica de pranchas de cortiça por amostragem em pilha*. Licenciatura em Engenharia Florestal. Instituto Superior de Agronomia. . *Orientadores: Helena Pereira e Margarida Tomé*