

a. Título: Caracterização e valoração das cascas de árvores da Amazônia como fonte de compostos fenólicos e antioxidantes naturais

b. Bolsa de Doutorado

c. Universidade Federal de Lavras/ Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais

d. Nome do aluno (a):

- Elesandra da Silva Araujo
- Mestra.
- Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4712913746458218>
- Endereço profissional: Universidade Federal de Lavras – UFLA, S/N, Departamento de Ciências Florestais. Laboratório de Anatomia da Madeira. Campus Universitário. 37200000 - Lavras, MG – Brasil

e. Orientador do projeto:

- Fábio Akira Mori
- Doutor. Professor Titular do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras-MG.
- Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3628820404874943>
- Endereço profissional: Universidade Federal de Lavras – UFLA, S/N, Departamento de Ciências Florestais. Laboratório de Anatomia da Madeira. Campus Universitário. 37200000 - Lavras, MG – Brasil.
- Cx Postal 3037

f. Detalhamento do projeto:

- **Introdução e justificativa**

O conhecimento da composição anatômica e química das cascas do caule é uma importante ferramenta para diferenciação e descrição de árvores, cuja junção com os estudos químicos permitem o direcionamento a potenciais usos não madeireiros e a valorização das espécies florestais.

É possível produzir produtos com alto valor agregado a partir da casca de árvores (Jansone et al., 2017) e diversas pesquisas tem relatado a eficiência das cascas e seus compostos na produção de painéis MDP (Soratto et al.,2013), em biorrefinarias (Lima et al., 2013; Sartori et al., 2016; Neiva et al., 2018) e, principalmente, na extração de compostos fenólicos (Conde et al. 1996; Sen et al.,2011; Vázquez et al.,2012; Mota et al.,2017; Sartori et al., 2018; Neiva et al., 2018).

Os extratos vegetais ricos em compostos fenólicos são atualmente requeridos devido ao seu princípio como antioxidantes e bioativos (Carmo et al.,2016), que por sua vez, atuam na prevenção da oxidação excessiva que é a causa de muitas doenças (Mármol et al.,2018). Os antioxidantes são muito utilizados na indústria alimentícia, principalmente para a preservação de alimentos (Sillero et al., 2019), e para suprir essa demanda, inúmeros antioxidantes sintéticos encontram-se disponível no mercado.

Porém, existe um interesse crescente na comercialização de novas fontes naturais de antioxidantes (Mármol et al.,2018), em decorrência do aumento dos efeitos alérgicos causados pelos componentes sintéticos. Neste cenário de busca, as cascas de árvores são matérias primas potenciais, por serem biomassas geralmente ricas em extrativos fenólicos.

Além disso, as cascas são também as principais fontes de taninos, que são empregados em diversos processos e produtos sustentáveis. Segundo Shirmohammadli; Efhamisisi; Pizzi (2018), esses polifenóis são principalmente utilizados no curtimento de couro, na fabricação de bebidas, como coagulantes para tratamento de água e na síntese de adesivos para madeiras.

Desta forma, o conhecimento da composição das cascas de diferentes espécies é o passo inicial para a oferta futura desses compostos naturais para uso em produtos de base sustentável. No Brasil, as principais espécies já estudadas quanto aos componentes da casca se encontram no Bioma Cerrado e Caatinga. Em relação à região Amazônica, pouco se conhece do potencial das cascas das espécies arbóreas, sendo que a Amazônia em extensão é o maior Bioma brasileiro.

O Bioma Amazônia ocupa uma área de 4.196.943 Km<sup>2</sup>, que corresponde mais de 40% do território nacional, sendo constituído principalmente por uma floresta tropical (Instituto brasileiro de florestas, 2019). E, suas ricas florestas abrigam por volta de 2.500 espécies de árvores (Ministério do meio ambiente, 2019).

Em algumas comunidades extrativistas da Amazônia, as cascas das árvores de diversas espécies são comercializadas, devido seus princípios ativos e etnomedicinais. Essa atividade vem gerando renda e mantendo a floresta em pé devido à redução da extração madeireira. Contudo, em áreas de florestas secundárias oriundas de perturbações os recursos não madeireiros geralmente são inutilizados pelos moradores.

Deste modo, o presente estudo visa investigar as cascas de *Byrsonima* sp., *Croton* sp. e *Tapirira* sp., as quais têm elevada ocorrência em florestas secundária do Norte do Brasil. Essas espécies foram selecionadas por apresentarem cascas de coloração fortemente avermelhada (Figura 1), característica típica associada a presença de compostos fenólicos, os quais podem promover a valorização das cascas dessas espécies como matéria-prima.

- **Objetivo geral**

Caracterizar as cascas de três espécies arbóreas que ocorrem em floresta secundária da Amazônia e direcionar usos com base em seus compostos fenólicos.

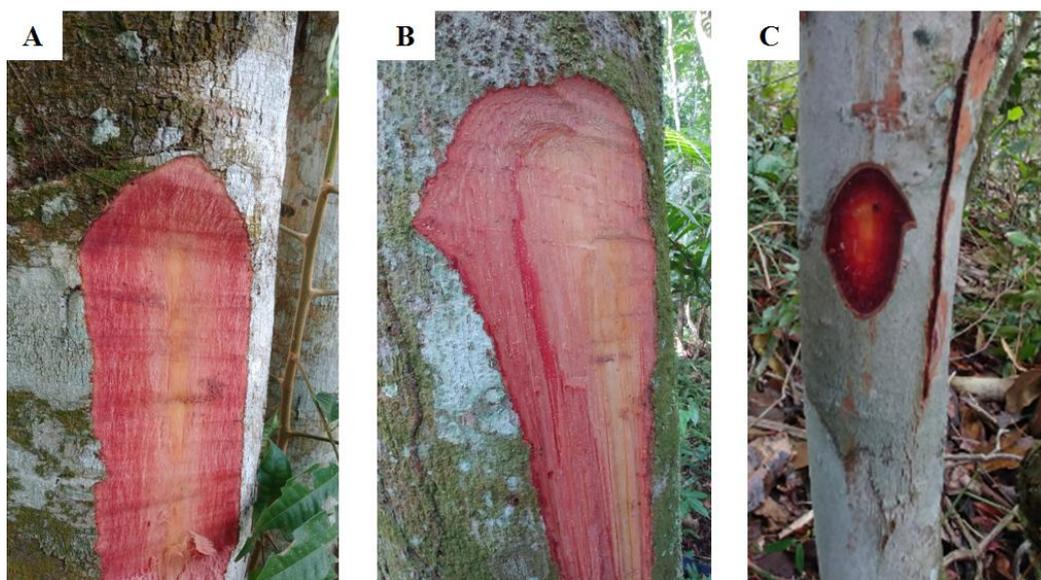
- **Objetivos específicos**

- ✓ Conhecer a composição anatômica e química das cascas de *Byrsonima* sp., *Croton* sp. e *Tapirira* sp.
- ✓ Quantificar os compostos fenólicos e o potencial da atividade antioxidante dos extratos das cascas.
- ✓ Avaliar a influência do período de frutificação do vegetal no teor de compostos fenólicos nas cascas.
- ✓ Averiguar o rendimento em taninos condensados nas cascas de cada espécie.
- ✓ Verificar a possibilidade do uso de seus taninos na produção de adesivo natural para madeira, com base no índice de Stiany do extrato das cascas.

- **Metodologia**

Serão estudadas as cascas das espécies *Byrsonima* sp. (Muruci do mato), *Tapirira* sp (Tatapiririca) e *Croton* sp. (Muravuvuia), Figura 1.

**Figura 1.** Detalhes do caule (cascas) das espécies que serão estudadas (A) *Byrsonima* sp (Muruci do mato); (B) *Tapirira* sp (Tatapiririca) e (C) *Croton* sp (Muravuvuia).



Fonte: Acervo pessoal.

➤ **Amostragem**

A coleta será realizada das árvores com e sem frutos em duas áreas de florestas secundárias de aproximadamente 25 e 40 anos. A área mais nova fica localizada na Universidade Federal Rural da Amazônia, em Belém do Pará. A outra se localiza no município de São João da Ponta, na região nordeste do Estado do Pará.

As cascas serão coletadas de aproximadamente seis árvores de cada espécie com diâmetro entre 10 a 30 cm. A remoção das cascas será feita com auxílio de facão da região da base do tronco da árvore até um metro acima do solo, as quais serão secas ao ar livres e depois encaminhadas ao Laboratório de Anatomia da Madeira do Departamento de Ciências Florestais (DCF) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Minas Gerais.

➤ Identificação das espécies

Serão coletados materiais botânicos para identificação das espécies no herbário João Murça Pires do Museu Paraense Emílio Goeldi e na Universidade Federal Rural da Amazônia, localizados em Belém, Estado do Pará. Durante a coleta, os indivíduos de cada espécie receberão placa metálica com código para monitoramento do processo de regeneração da casca.

➤ Caracterização anatômica da casca

As cascas de cada espécie serão caracterizadas macroscopicamente e microscopicamente. A biometria dos elementos da casca será realizada em amostras maceradas com uma solução de ácido acético e peróxido de hidrogênio 1:1 (v/v) a 60 °C por aproximadamente 48 h. As amostras de cascas serão impregnadas com polietileno glicol (PEG) 1500 (Quilhó et al., 2000). Secções transversais, tangenciais e radiais de aproximadamente 16µm de espessura serão obtidas em micrótomo de deslize, modelo Leica SM 2000. Os cortes serão corados em dupla coloração de crisoidina (1%) / azul de astra (1%), desidratados em série alcoólica e montados em Entellan.

Os detalhes macroscópicos da superfície transversal das cascas serão observados em microscópio estereoscópio com sistema de imagem. As observações microscópicas e aquisição dos dados serão realizadas em microscópio óptico Olympus BX41TF, acoplado a uma câmera digital Pixelink PL-A662. Serão feitas 180 medições para cada parâmetro microscópico, utilizando software WinCELL-PRO. Imagens dos cortes histológicos serão obtidas usando um microscópio acoplado a um sistema de captura de imagens (CX31, Olympus, Tokyo, Japan). A descrição anatômica seguirá a terminologia de (Angyalossy et al., 2016).

➤ Caracterização química somativa da casca

As cascas secas serão reduzidas em moinho martelo e peneiradas até uma granulometria de 60 mesh. Amostras compostas das cascas de cada espécie serão preparadas para quantificação das cinzas, extrativos totais, suberina e lignina total. As análises serão feitas em triplicata seguindo os procedimentos apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Análises químicas somativa a serem realizadas nas cascas das espécies em estudo e suas respectivas normas.

Análise	Procedimento
Teor de Cinzas	TAPPI (T 211 om-93)
Extrativos totais	TAPPI (T 204 om-88 e T207 om- 93)
Suberina	Pereira, 1988
Lignina Klason	TAPPI T222 om-88
Lignina solúvel	TAPPI UM 250

➤ Índice de Stiasny e rendimento em taninos condensados

Serão obtidos estratos de cada espécie em triplicata via banho-maria utilizando-se 100g de casca moída e 1500 mL de água, relação licor/casca 15:1(v/m), sem e com adição de 3% de sulfito de sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) em relação à massa seca, com duração de 3h de extração à temperatura de 70°C. Após extração a solução será filtrada em coador (1mm<sup>2</sup>), peneira (200 mesh) e cadinho forrado com lã de vidro de porosidade 01 acoplado em bomba a vácuo, respectivamente. O filtrado será concentrado por evaporação em chapas de aquecimento até atingir o volume de 150 mL, os quais serão armazenados em frascos de vidro em ambiente refrigerado.

Para determinação do Índice de Stiasny, serão utilizados duas amostras de 20g do extrato concentrado, 10 mL de água destilada, 4 mL de formaldeído (37 %, m/m) e 2 mL de ácido clorídrico (HCl) 10 N, que irão reagir sob aquecimento em sistema de refluxo por 35 minutos. Posteriormente o extrato será filtrado em cadinho de porosidade 01 e secado em estufa a temperatura de  $103 \pm 3$  °C até massa constante para cálculo do Índice de Stiasny, conforme Equação 1.

(1)

$$\text{Índice de Stiasny (\%)} = \left( \frac{\text{massa seca do precipitado}}{\text{massa seca de 20g do extrato}} \right) * 100$$

De posse do Índice de Stiasny, irá multiplicar o seu valor pelo rendimento em sólidos totais de cada tratamento, obtendo-se assim o rendimento gravimétrico de taninos condensados em porcentagem. Pela diferença entre o rendimento em sólidos e o rendimento em taninos condensados se determinará o rendimento de componentes não tânicos.

➤ Rendimento da extração, fenóis totais, flavonoides e taninos condensados

Amostras de 0,5g da casca (base seca) serão extraídas em solução de Etanol/Água 1:1 (v/v) utilizando banho ultrassônico a 50°C durante 60 min. A solução será filtrada em cadinho de vidro sinterizado nº 2 e o filtrado terá seu volume completado para 50 mL com água deionizada. O residuo sólido retido na filtração será seco e o rendimento de extração calculado com relação à massa do material inicial.

Do extrato será determinado os teores de fenóis totais, flavonoides totais e taninos condensados a partir da leitura de absorbâncias em espectrofotômetro biospectro SP-22. O teor de fenóis totais será determinado pelo método Folin-Ciocalteu utilizando ácido gálico como padrão (Singleton et al., 1965) e seu resultado será expresso em mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) / g de extrato seco da casca. Os flavonoides totais serão quantificados por ensaio colorimétrico de cloreto de alumínio com padrão de catequina (Zhishenet al. 1999) e os taninos condensados pelo método de vanilina-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Abdalla et al., 2014). Ambos os resultados serão expressos em mg de equivalentes de catequina (CE)/g de extrato da casca.

➤ Análise quantitativa dos extratos por HPLC

A técnica de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) será utilizada na determinação do perfil e quantificação de compostos fenólicos do extrato da casca. Serão utilizados os padrões de ácido gálico, ácido caféico, ácido clorogênico, ácido rosmarínico, ácido transcinâmico, catequina, vanilina, quercetina, ácidos: ferúlico, p-cumárico, o-cumárico e m-cumárico. Para as análises cromatográficas, amostras e solventes serão filtrados utilizando membranas de 0,45µm.

Será utilizado cromatógrafo de alta eficiência Shimadzu®, equipado com quatro bombas de alta pressão LC-20AT, detector de arranjo de diodos SPD-M20A, degaseificador DGU-20A5, interface CBM-20A, forno CTO-20AC e injetor automático com autoamostrador modelo SIL-20A. O comprimento de onda utilizado será de 280 nm, fluxo de 1,0 mL min<sup>-1</sup>, temperatura da coluna de 35 °C e volume de injeção de 20 µL. Para o cálculo da concentração dos compostos fenólicos será empregado equações da reta específicas para cada padrão utilizado.

➤ Atividade antioxidante do extrato da casca

Os extratos provenientes da análise de compostos fenólicos serão liofilizados e utilizados na determinação da atividade antioxidante pela estabilização do radical livre 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate (DPPH). A análise será realizada segundo metodologia descrita por Teixeira (2012), com modificações. Amostras de 0,0125 g (extratos das cascas liofilizadas e BHT) serão solubilizadas em 25 mL de etanol, posteriormente diluídos nas concentrações de 25, 50, 100, 150, 200, 250 e 500  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e mantidos ao abrigo de luz e calor overnight.

A solução etanólica de DPPH com concentração de 40  $\text{mg L}^{-1}$  será preparada e mantida ao abrigo de luz. Serão adicionados a tubos de ensaio 0,3 mL de amostras nas concentrações de 25, 50, 100, 150, 200, 250 e 500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , seguido da adição de 2,7 mL da solução de DPPH. Simultaneamente, serão preparados o controle negativo e o branco. O controle negativo será preparado pela adição de 0,3 mL de etanol e 2,7 mL de solução de DPPH, e o branco (para cada concentração), pela adição de 2,7 mL de etanol e 0,3 mL da solução das amostras. As misturas permaneceram ao abrigo de luz por 60 minutos; após esse período, serão realizadas leituras de absorbância em espectrofotômetro UV/ Vis (Shimadzu UV-160 1 PC) a 515 nm. Todas as análises serão realizadas em triplicata. A atividade antioxidante será expressa em termos da concentração inibitória do extrato da casca necessária para reduzir em 50% (IC50) a concentração inicial do radical livre DPPH.

- **Atividades previstas**

As atividades estão divididas em quatro categorias, sendo: coleta e preparo do material, posteriormente as análises anatômicas e químicas, e finalmente a obtenção dos dados e produções científicas. No Quadro 1, as atividades de cada categoria encontram-se em detalhes.

**Quadro 1.** Atividades a serem realizadas.

<b>OBTENÇÃO E PREPARO DO MATERIAL</b>
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Coletas das cascas no início do período vegetativo.</li> <li>2. Coletas das cascas no final do período vegetativo.</li> <li>2. Secagem natural.</li> <li>3. Encaminhamento do material para análises.</li> <li>4. Moagem e peneiramento para análise química.</li> <li>5. Preparo de corpo-de-prova de cada indivíduo para estudo anatômico.</li> </ol>
<b>ANÁLISES ANATÔMICAS</b>
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Estudo macroscópico.</li> <li>2. Maceração para estudo da biometria dos elementos anatômicos.</li> <li>3. Impregnação com PEG para obtenção de cortes transversais, tangenciais e radiais.</li> <li>4. Confeção de lâminas histológicas.</li> <li>5. Obtenção de imagens dos três planos de cada espécie.</li> <li>6. Medições de fibras, elementos de vaso e esclerides.</li> </ol>
<b>ANÁLISES QUÍMICAS</b>
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Quantificação somativa (teor de cinzas, extrativos totais, polissacarídeos e lignina).</li> <li>2. Teor de suberina.</li> <li>3. Extração e quantificação de fenóis totais e flavonoides.</li> <li>4. Quantificação da atividade antioxidantes do extrato das cascas.</li> <li>5. Extração e quantificação de taninos condensados.</li> <li>6. Análise do índice de Stiasny para produção de adesivo.</li> </ol>
<b>OBTENÇÃO DOS DADOS E PRODUÇÃO CIENTÍFICA</b>
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Análises dos dados.</li> <li>2. Elaboração dos artigos e tese.</li> <li>3. Publicação dos artigos e defesa da tese.</li> </ol>

- **Detalhamento da infraestrutura física e tecnológica**

Os materiais botânicos serão depositados no herbário João Murça Pires do Museu Paraense Emílio Goeldi, localizado em Belém do Pará. As análises anatômicas e químicas serão realizadas na Universidade Federal de Lavras, em Minas Gerais. No Quadro 2, consta em detalhes a infraestrutura física e tecnológica de cada departamento da UFLA a ser utilizado.

**Quadro 2.** Infraestrutura física e tecnológica do Departamento de Ciências Florestais (DCF), Departamento de Química (DQI) e Departamento de Biologia (DBI) da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

DCF/UFLA	DQI/UFLA	DBI /UFLA
Banho-maria. Chapa aquecedora Espectrofotômetro biospectro Estufa de esterilização Forno mufla Manta aquecedora Micrótomo de deslize Microscópio óptico Moinho martelo Peneira vibratória Rotavapor Sistema de imagem Software WinCELL-PRO	Cromatógrafo de alta eficiência Shimadzu  Espectrofotômetro UV/Vis  Liofilizador	Estereoscópio  Sistema de captura de imagens (CX31, Olympus, Tokyo, Japan)

- **Linhas gerais do cronograma a ser cumprido**

**Quadro 3.** Cronograma com todas as atividades semestrais a serem executadas durante o projeto.

ATIVIDADES	2019	2020		2021		2022		2023
	2º semestre	1º semestre						
Planejamento geral	■	■						
Coleta de material no campo			■	■	■			
Encaminhamento para análises			■	■	■			
Preparo dos materiais				■	■	■		
Estudo anatômico macroscópico					■	■	■	
Estudo anatômico microscópico				■	■	■	■	
Quantificação da química somativa				■	■	■		
Quantificação de suberinas					■	■	■	
Extração de compostos fenólicos				■	■	■		
Quantificação de compostos fenólicos				■		■	■	
Quantificação da atividade antioxidante						■	■	
Extração de taninos condensados						■	■	
Avaliação do Índice de Stiasny						■	■	
Análise dos dados						■	■	
Elaboração de artigos e tese				■	■	■	■	■
Defesa de Tese								■

Período de execução das atividades



- **Planilha de orçamento com estimativa dos gastos previstos**

**Quadro 4.** Valores estimados das despesas de cada categoria do projeto.

<b>Categoria de despesa</b>	<b>Itens*</b>	<b>Valor estimado (R\$)</b>
Uso e consumo	Reagentes, embalagens, material para ensaios, combustível, correios etc.	10.370,00
Serviço de Terceiros Pessoa Física	Parabotânico (mateiro).	1.000
Viagens	Passagens, alimentação e manutenção de veículo.	8.140,00
Equipamentos	Banho ultrassom, agitador, estufa, freezer etc.	18.490,00
<b>Subtotal</b>		<b>R\$ 38.000,00</b>

\* O orçamento detalhado como descrição e valor de cada item encontra-se anexado em planilha Excel.

- **Resultados esperados e impacto previsto do projeto**

Com o desenvolvimento deste projeto, espera-se obter o conhecimento da composição das cascas de *Byrsonima sp.*, *Croton sp.* e *Tapirira sp.*, visando:

- (i) Atribuir valor às cascas por meio do direcionamento de sua utilização na indústria química, alimentícia e farmacêutica, como antioxidantes naturais, bem como, nos diversos produtos (curtimento de couros, adesivos para madeira e coagulantes) à base de taninos.
- (ii) Contribuir com a produção sustentável das indústrias por meio da oferta de novas espécies florestais para extração de compostos fenólicos.
- (iii) Incluir essas biomassas no extrativismo sustentável de produtos florestais não madeireiros, e assim contribuir com o desenvolvimento econômico local nas comunidades da região Amazônica, e conseqüentemente, com a conservação das espécies.

- **Referências**

Abdalla, S., Pizzi, A., Ayed, N., Bouthoury, F.C., Charrier, B., Bahabri, F. MALDI-TOF analysis of Aleppo pine (*Pinus halepensis*) bark tannin. **Bioresources**. 9, 3396–3406, 2014.

Angyalossy, V., Pace, M. R., Evert, R. F., Marcati, C. R., Oskolski, A. A., Terrazas, T., Baas, P., et al. IAWA List of Microscopic Bark Features. **IAWA Journal**. 37, 517–615, 2016.

Carmo, J.F., Miranda, I., Quilhó, T., Vicelina, S., Carmo, F.H.D.J., Latorraca, J.V., Pereira, H. Chemical and structural characterization of the bark of *Albizia niopoides* trees from the Amazon. **Wood Sci. Technol.** 50, 677–692, 2016.

Conde, E., Cadahía, E., Díez-Barra, R., García-Vallejo, M.C. Polyphenolic composition of bark extracts from *Eucalyptus camaldulensis*, *E. globules* and *E. rudis*. **HolzRoh**. 54, 175–181, 1996.

Instituto Brasileiro de Florestas. 2019. **Bioma Amazônico**. Paraná. <https://www.ibflorestas.org.br/bioma-amazonico.html>.

Jansone, Z., Muizniece, I., Blumberga, D. Analysis of wood bark use opportunities. **Energy Procedia**. 128, 268–274, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.09.070>.

Lima, M. A., Lavorente, G. B., da Silva, H. K., Bragatto, J., Rezende, C. A., Bernardinelli, O. D., Polikarpov, I. Effects of pretreatment on morphology, chemical composition and enzymatic digestibility of eucalyptus bark: a potentially valuable source of fermentable sugars for biofuel production – part 1. **Biotechnology for Biofuels**. 6, 75, 2013. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-75>.

Mármol, I., Quero, J., Jiménez-Moreno, N., Rodríguez-Yoldi, M. J., & Ancín-Azpilicueta, C. A systematic review of the potential uses of pine bark in food industry and health care. **Trends in Food Science & Technology**, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.007>.

Ministério do meio ambiente. 2019. **Biomassas: Amazônia**. <http://www.mma.gov.br/biomassas/amazonia>.

Mota, G.S., Sartori, C.J., Miranda, I., Quilhó, T., Mori, F.A., Pereira, H. Bark anatomy, chemical composition and ethanol-water extract composition of *Anadenanthera peregrina* and *Anadenanthera colubrina*. **Plos One**. 12, 1–14, 2017.

Neiva, D.M., Araújo, S., Gominho, J., Carneiro, A., de, C., Pereira, H. Potential of *Eucalyptus globulus* industrial bark as a biorefinery feedstock: chemical and fuel characterization. **Ind. Crops Prod.** 123, 262–270, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.070>.

Pereira, H. Chemical composition and variability of cork from *Quercus suber* L. **Wood Sci. Technol.** 22, 211–218, 1988. <https://doi.org/10.1007/BF00386015>.

- Quilhó, T., Pereira, H., Richter, H.G. Within-tree variation in phloem cell dimensions and proportions in *Eucalyptus globulus*. **IAWA J.** 21:31–40,2000.
- Sartori, C., Mota, S., Ferreira, J., Miranda, I., Mori, F.A. Chemical characterization of the bark of *Eucalyptus urophylla* hybrids in view of their valorization in biorefineries. **Holzforschung.** 70, 1–10, 2016 <https://doi.org/10.1515/hf-2015-0258>.
- Sartori, C.J., Mota, G.S., Miranda, I., Mori, F.A., Pereira, H. Tannin extraction and characterization of polar extracts from the barks of two *Eucalyptus urophylla* hybrids. **BioResources.** 13, 4820–4821,2018.
- Sen, A., Quilhó, T., Pereira, H. Bark anatomy of *Quercus cerris* L. var. *cerris* from Turkey. **Turkish Journal of Botany.** 35, 45–55,2011.
- Shirmohammadli, Y., Eshamisi, D., Pizzi, A. Tannins as a sustainable raw material for green chemistry: A review. **Ind. Crops Prod.** 126:316–332,
- Singleton, V.L., Rossi Jr, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Am. J. Enol. Vitic.** 16, 144–158,1965. <https://doi.org/10.12691/ijebb-2-1-5>.
- Sillero, L., Prado, R., Andrés, M.A., Labidi, J. Characterisation of bark of six species from mixed Atlantic forest. **Ind. Crops Prod.** 137,276–284, 2019.
- Soratto, D.B., Cunha, A.B., Vital, B.R., Carneiro, A.C.O., Costa, F.R. Efeitos da adição de cavaco com casca na qualidade de painéis MDP produzidos com *Eucalyptus* sp. **Revista Ciência da Madeira.** 4,10–12,2013. <http://dx.doi.org/10.12953/2177-6830.v04n01a04>.
- Teixeira, M. L. *Citrumelo Swingle*: Caracterização Química, Atividade antioxidante e antifúngica dos óleos essenciais das cascas frescas e secas. **Magistra.** 24,194–203,2012.
- Vázquez, G., Santos, J., Freire, M.S., Antorrena, G., González-Álvarez, J. Extraction of antioxidants from eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark. **Wood Science and Technology.** 46,443–457,2012. <https://doi.org/10.1007/s00226-011-0418-y>.
- Zhishenet, J., Mengcheng, T., Jinming, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chem.** 64, 555–559,1999. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(98)00102-2).