

ESTUDOS AMBIENTAIS PARA AVALIAÇÃO DAS RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DA ESPÉCIE RAPANEA FERRUGINEA SUBMETIDAS A DIFERENTES CONDIÇÕES DE INCIDÊNCIA SOLAR POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR-ATR)

ENVIRONMENTAL STUDIES TO ASSESS PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF THE SPECIES RAPANEA FERRUGINEA SUBMITTED TO DIFFERENT CONDITIONS OF SOLAR INCIDENCE BY INFRARED SPECTROSCOPY WITH FOURIER TRANSFORMED (FTIR-ATR)

Evandro Faria Lins¹
Maria Regina de Aquino-Silva²
Kumiko Koibuchi Sakane³

Resumo: Com os avanços da tecnologia, a utilização de programas de computador se tornou cada vez mais presente nas pesquisas científicas. A espectroscopia no infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR-ATR), aliada à análise computacional, é uma importante técnica empregada em estudos ambientais para caracterização de sistemas biológicos. Essa técnica estuda as ligações químicas presentes nas moléculas ao interagirem com a radiação na faixa do infravermelho do espectro eletromagnético (10^{-6} a 10^{-3} m) transformando-se em energia vibracional, representada graficamente na forma de um espectro infravermelho. Este estudo objetivou a análise qualitativa e quantitativa de lignina, clorofila e amido em amostras de folhas de *Rapanea ferruginea* (nome popular: capororoca) sujeitas a diferentes condições de incidência solar. Para estabelecimento das diferentes condições de incidência solar foram confeccionadas quatro armações em madeira forradas com tela sombrite nas porcentagens de 30%, 50%, 70% e 85% de sombreamento. As mudas foram divididas em cinco grupos, sendo cada grupo disposto sob uma armação, exceto um que foi disposto a pleno sol (sem armação). A coleta das amostras foi realizada após decorrido um mês do início do experimento. Os espectros infravermelhos das amostras foram obtidos na faixa de 4.000 a 450cm^{-1} . As razões de absorvância entre as bandas de absorção do anel aromático (1.609cm^{-1}), C-N-C (1.159cm^{-1}) e C-O (1.034cm^{-1}) com a banda de estiramento de C-H (2.917cm^{-1}) foram consideradas para determinar as quantidades de lignina, clorofila e amido, respectivamente. A partir da quantificação desses três constituintes, a condição mais favorável ao desenvolvimento da planta é a de 70% de sombreamento, seguida pela de 50% de sombreamento, 30% de sombreamento, 85% de sombreamento e por último é a de pleno sol.

Palavras-chave: Análise computacional. Espectroscopia no Infravermelho. Radiação solar. Respostas fisiológicas de plantas.

Abstract: With the advances in technology, the use of computer programs has become increasingly present in scientific research. Fourier-transform infrared spectroscopy

¹ Engenheiro Ambiental no Serviço Autônomo de Água e Esgoto de Jacaref. Mestre em Bioengenharia pela Universidade do Vale do Paraíba. E-mail: evandroflins@hotmail.com.

² Professora da Universidade do Vale do Paraíba. Doutora em Ecologia e Recursos Naturais pela Universidade Federal de São Carlos. E-mail: mregina@univap.br.

³ Professora da Universidade do Vale do Paraíba. Doutora em Física pela Universidade de São Paulo. E-mail: kumiko@univap.br.

(FTIR-ATR) combined with computational analysis is an important technique used in environmental studies to characterize biological systems. This technique studies how the chemical bonds present in the molecules interact with the radiation in the infrared range of the electromagnetic spectrum (10^{-6} to 10^{-3} m) turning into vibrational energy, graphically represented in the form of an infrared spectrum. This study aimed to qualitative and quantitative analysis of lignin, starch and chlorophyll in leaf of *Rapanea ferruginea* (common name: capororoca) subject to different conditions of sunlight. To establish the different conditions of sunlight were made four frames in wood lined with shading screen in percentages by 30%, 50%, 70% and 85% shading. The seedlings were divided into five groups, each group being arranged in a frame, except one that was willing to full sun (frameless). The sample collection was carried out after expiry of a month from the beginning of the experiment. The infrared spectra of the samples were obtained in the range 4.000 to 450cm^{-1} . The absorbance ratio between the aromatic ring of the absorption band (1.609cm^{-1}) C-N-C (1.159cm^{-1}) and C-O (1.034cm^{-1}) with the C-H stretching band (2.917cm^{-1}) were considered to determine the amounts of lignin, starch and chlorophyll, respectively. From the quantification of these three constituents, the most favorable condition for the development of the plant is 70% shading, followed by 50% shading, 30% shading, 85% shading and last is the full sun.

Key words: Computational analysis. Infrared Spectroscopy. Solar radiation. Plant physiological responses.

Data de submissão: 03.06.2021

Data de aprovação: 14.04.2022

Identificação e disponibilidade:

(<https://revista.univap.br/index.php/revistaunivap/article/view/2624>,
<http://dx.doi.org/10.18066/revistaunivap.v28i58.2624>).

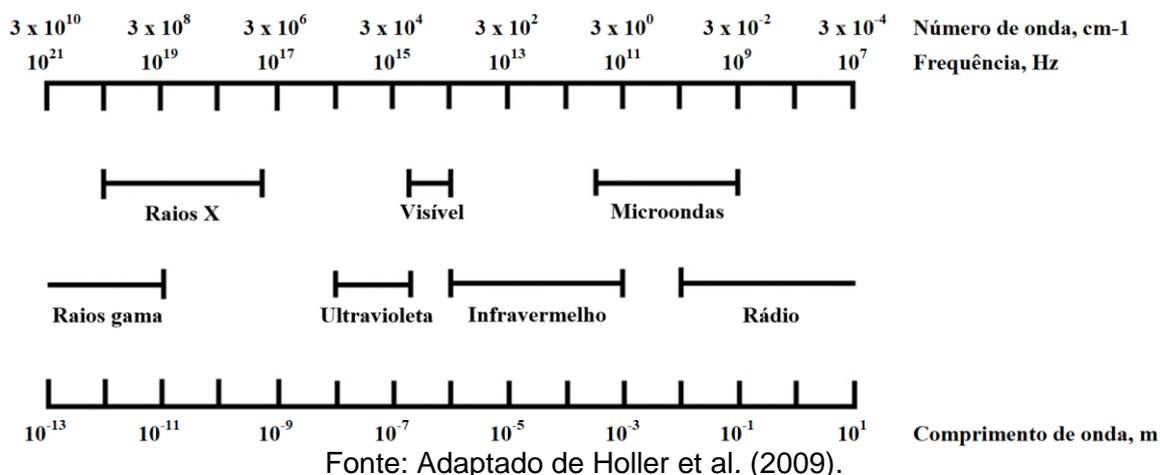
1 INTRODUÇÃO

Avanços tecnológicos realizados nas últimas décadas tornaram a Espectroscopia no Infravermelho uma ferramenta muito útil para a investigação de moléculas em sistemas biológicos. A utilização de espectrofotômetros⁴ juntamente com tecnologias de informação e comunicação permitem obter uma coleção de espectros de boa qualidade de amostras em seus múltiplos estados físicos (líquido, solução, pó, filme e gás) de maneira muito facilitada, sem quase nenhuma preparação e em um pequeno intervalo de tempo (Stuart, 1997). Conforme Mihoubi et al. (2017) é possível se obter espectros no infravermelho de amostras de pequeno tamanho e as coletas feitas muito rapidamente, não precisando de reagentes e sem produzir quaisquer resíduos ao meio ambiente.

A espectroscopia vibracional no infravermelho surge das vibrações dos átomos em moléculas que interagem com a radiação na faixa de 10^{-6} a 10^{-3} m correspondente à região de infravermelho do espectro eletromagnético (Figura 1).

⁴ Instrumentos utilizados para medidas de absorção no Infravermelho de diversos tipos de amostras (Holler et al., 2009).

Figura 1 - Regiões do espectro eletromagnético.



A radiação infravermelha se converte, quando absorvida, em energia de vibração molecular. Somente as vibrações que levam à alteração do momento dipolar da molécula são observadas nos espectros infravermelhos. O espectro vibracional aparece como uma série de bandas que representam os diferentes níveis de energia vibracional (Silverstein et al., 2006).

É muito pouco provável que duas substâncias distintas apresentem o mesmo espectro infravermelho, o que permite a comparação entre uma substância desconhecida ao composto padrão. No entanto, é importante mencionar que certos grupos de átomos absorvem a radiação infravermelha mais ou menos na mesma região, denominadas bandas características de grupos, fornecendo informações estruturais úteis para determinação de um composto após consulta às tabelas de correlações (SILVERSTEIN et al., 2006).

Uma das características importantes dos espectrofotômetros utilizados na Espectroscopia no Infravermelho atualmente é a sua capacidade de se medir em apenas uma amostra um número elevado de variáveis. Um único espectro infravermelho na região média, número de onda na faixa de 4.000 – 200cm⁻¹, contém mais de 3.600 comprimentos de onda, que por sua vez torna-se indispensável a utilização de ferramentas e programas de computador para processar matematicamente os espectros e deles extrair informações relevantes. Ademais, o emprego de recursos computacionais é importante para se garantir que as operações matemáticas forneçam os resultados de modo rápido e eficiente.

Sistemas biológicos tais como proteínas, polipeptídios, lipídios, biomembranas, carboidratos, ácidos nucleicos, fármacos, tecidos e microrganismos têm sido caracterizados com sucesso por diversos autores (Alvarez-Ordóñez et al., 2011; Güler & Nalbant, 2018; Hiri et al., 2016; Kasim et al., 2014; Maquelin et al., 2006; Movasaghi et al., 2008) utilizando-se técnicas espectroscópicas no infravermelho juntamente programas de computador. Experimento realizado com árvores em áreas de reflorestamento por Lins *et al.* (2011) demonstrou que essa técnica permitiu a diferenciação de diferentes espécies de plantas (taxonomia) e de amostras de uma mesma espécie vegetal sujeita a condições ambientais distintas; como também o estudo realizado por Kasim et al. (2014), em que através da avaliação do espectro infravermelho de árvores de oliveira foi possível quantificar a concentração de nitrogênio, clorofila e amido presente em suas folhas.

Segundo Curran (1989), medidas dos constituintes químicos da folha de plantas,

são capazes de fornecer indicadores de produtividade, taxa de decomposição de serrapilheira e disponibilidade de nutrientes no espaço e no tempo com base nos níveis de clorofila, lignina e nitrogênio respectivamente. Fazendo-se estimativas é possível estudar a qualidade da vegetação e a ciclagem de nutrientes em escala local para uma escala global.

É sabido que as plantas são de grande importância para a vida no planeta e utilizam a luz solar como fonte de energia por meio de um processo denominado fotossíntese (Braga *et al.*, 2005). Entretanto, não apenas como fonte de energia para as plantas, a radiação atua como fator de estímulo ao seu desenvolvimento e às vezes como um fator estressante, tornando-se, portanto, aspecto determinante para, por exemplo, germinação, crescimento direcionado e forma externa da planta (Larcher, 2000).

Segundo Larcher (2000, p. 114) se nenhum outro fator ambiental, como por exemplo temperatura e disponibilidade de água, está limitando as trocas gasosas de dióxido de carbono e oxigênio, então a fotossíntese acompanha linearmente a disponibilidade de radiação até o ponto de saturação.

Ainda segundo Larcher (2000), muitos autores atestam que folhas que recebem maiores quantidades de radiação solar possuem maior capacidade fotossintética sobre folhas de sombra, exceto em casos específicos, como por exemplo quando há exposição da folha à radiação excessiva, que acarreta na destruição e consequente perda de clorofila. Quanto maior a quantidade de radiação interceptada e absorvida pelas superfícies assimiladoras da folha maior será a quantidade de matéria seca produzida pela planta, isto é, maior conteúdo de carbono das substâncias vegetais (principalmente polissacarídeos, proteínas e lipídios).

A *Rapanea ferruginea* é uma espécie de planta da família Myrsinaceae que ocorre em todo o território brasileiro, em quase todas as formações vegetais, sendo mais frequente na floresta pluvial da encosta atlântica. Seus frutos são avidamente consumidos por várias espécies de pássaros, o que faz com que seja muito utilizada em plantios mistos para recuperação/reflorestamento de áreas degradadas de preservação permanente (Lorenzi, 2002).

A Figura 2 apresenta detalhes da capororoca: flores, frutos, folhas e ramos utilizados para reconhecimento da espécie em campo.

Figura 2 - Flores, frutos, folhas e ramos de capororoca.



Fonte: Ramos et al. (2008).

Conforme o Instituto Brasileiro de Florestas (2016) a capororoca é uma espécie vegetal pioneira, típica de ambiente rústicos, isto é, são aquelas encontradas no estágio inicial de regeneração de um ambiente degradado. Em geral são as que nascem/crescem primeiro, têm um crescimento mais rápido, porém com ciclo de vida menor, são árvores de porte mais baixo e com maior capacidade de adaptação a ambientes de solo pobre em nutrientes e de insolação direta. Árvores pioneiras como a capororoca são fundamentais nos processos de reflorestamento, pois suas copas fazem sombra e fornecem mais condições para que outras espécies menos adaptadas ao Sol se desenvolvam, criando assim um ambiente sombreado e fresco para o restabelecimento da floresta definitiva.

O objetivo do presente trabalho foi realizar por meio de espectroscopia no infravermelho com Transformada de Fourier e programas de computador a análise qualita e quantitativa possíveis alterações de lignina, clorofila e amido presentes em amostras de folha da espécie de planta *Rapanea ferruginea* submetidas a diferentes taxas de incidência solar.

2 METODOLOGIA

No experimento foram utilizadas 30 mudas de capororoca com altura média de 50 centímetros. Para realização do experimento, projetou-se um ambiente controlado de mesma condição para todas as mudas, exceto para a variável solar. As mudas foram divididas em 5 grupos, cada grupo contendo 6 mudas, submetidas a uma taxa (porcentagem) de incidência solar, conforme Tabela 1.

Tabela 1 - Relação de grupo de mudas por incidência solar.

Grupo de mudas	Tela de sombreamento	Incidência solar
1	sem tela	pleno sol (100%)
2	30%	70%
3	50%	50%
4	70%	30%
5	85%	15%

Fonte: Produção do próprio autor.

Para fazer o sombreamento foram montadas 4 armações em madeira, com tamanho de 1m x 1m x 1m, forradas com telas de *nylon* preto (sombrite), nas porcentagens de sombreamento correspondentes aos grupos de 2 a 5 (Figura 3), conforme indicação do fabricante, não sendo necessária a montagem de armação para a condição de pleno sol (Figura 4).

Considerando a necessidade de manutenção de um ambiente controlado de estudo, o experimento foi montado em um jardim experimental localizado no município de Jacareí, Estado de São Paulo, mais especificamente nas coordenadas 23°16'34,31"S e 45°55'13,25"O, onde todos os cuidados para isolamento e conservação das plantas e amostras foram tomados.

Figura 3 - Mudas de capororoca no interior das caixas com tela sombrite.



Fonte: Produção do próprio autor.

Figura 4 - Mudas de capororoca a pleno sol (sem sombreamento).



Fonte: Produção do próprio autor.

Foi realizada uma coleta de folhas das mudas de capororoca após transcorrido um mês do início do experimento. A coleta das folhas foi realizada, retirando-se uma ou no máximo duas folhas da parte superior da planta, que em geral recebe maior quantidade de radiação solar. Foram desconsideradas para coleta folhas recém-formadas ou com más condições fitossanitárias.

Depois de coletadas, as folhas foram lavadas em água corrente, secas com papel toalha e inseridas em sacos de papel com identificação da amostra.

Para que as amostras fossem inseridas no aparelho para obtenção de seus espectros no infravermelho foi preciso remover praticamente toda água presente na mesma. Para isso, anteriormente às análises, as amostras foram colocadas em estufa a temperatura de 50°C por 24 horas. Não é recomendável temperaturas superiores a 50°C para não comprometer a estrutura das biomoléculas.

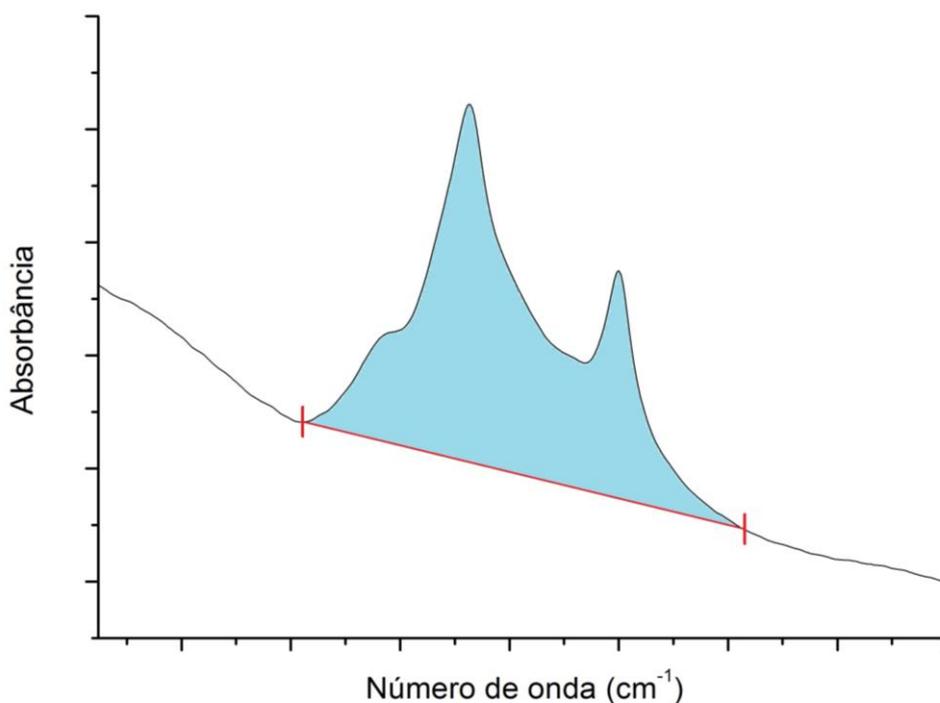
Após secagem, foram selecionadas as amostras de folhas de apenas três mudas de cada um dos cinco grupos. As amostras selecionadas de cada um dos grupos foram maceradas juntas em um almofariz de porcelana com auxílio de um pistilo e logo em seguida, grupo por grupo, foram inseridas na porta amostra do espectrofotômetro para obtenção de seu espectro no infravermelho respectivo. Foi obtido o espectro na faixa de 4.000 a 450 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} , com 12 varreduras a temperatura ambiente. O espectrofotômetro utilizado foi o *Spectrum 400* com transformada de Fourier (FT-IR), tecnologia de refletância total atenuada (ATR), da marca *PerkinElmer*.

Os espectros infravermelhos das amostras foram previamente processados com *software Spectrum 5.3 (PerkinElmer)*, onde foram feitas correções de linha de base, suavização espectral utilizando o algoritmo *Savitzky Golay* (9 pontos), normalização e colocação em modo de absorbância.

A análise quantitativa foi realizada por meio das razões de absorbância, isto é, quantidade de absorbância no infravermelho das bandas de absorção da molécula. De acordo com Kasim et al. (2014) existe uma correlação direta entre absorbância e o número de moléculas de material absorvente de radiação ou concentração. O valor

da absorvância foi medido utilizando o *software Spectrum* a partir do cálculo da área entre os dois vales que limitam a banda do espectro (Figura 5). As razões de absorvância entre as bandas de absorção do anel aromático (1.609cm^{-1}), C-N-C (1.159cm^{-1}) e C-O (1.034cm^{-1}) com a banda de estiramento de C-H (2.917cm^{-1}) foram consideradas para determinar as quantidades de lignina, clorofila e amido, respectivamente, presentes nas amostras de folha de capororoca.

Figura 5 - Área de absorvância (hachura azul) de uma banda do espectro (sem escala).



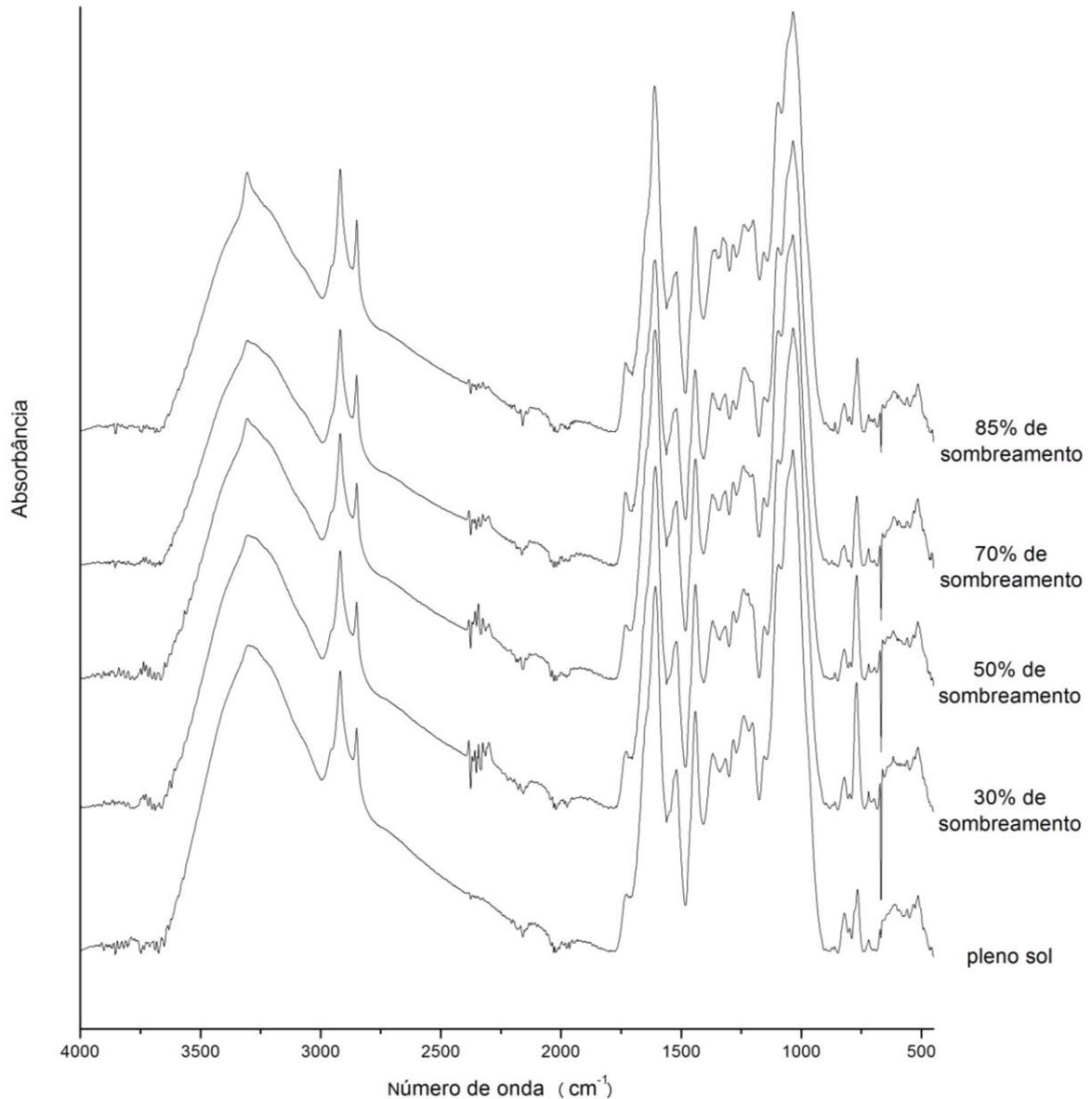
Fonte: Produção do próprio autor.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para obtenção de espectros no infravermelho de qualidade para este estudo foi imprescindível a secagem das amostras em estufa, pois garante que bandas de absorção de moléculas importantes para análise da composição molecular da amostra não sejam sobrepostas por bandas intensas de moléculas de água, em virtude do seu elevado potencial de absorção da radiação infravermelha. Como exemplo temos a banda de absorção correspondente ao estiramento simétrico da ligação O-H nas moléculas de água (H_2O) que ocorre em $\sim 3.400\text{cm}^{-1}$ e que poderia sobrepor a banda de estiramento da ligação N-H, presente em proteínas, de suma importância para avaliação de compostos orgânicos.

A Figura 6 apresenta os espectros no infravermelho das amostras de capororoca submetidas a diferentes taxas de incidência solar.

Figura 6 - Espectros no infravermelho das amostras de capororoca.



Fonte: Produção do próprio autor.

A inspeção visual dos espectros da Figura 6 demonstra variações pouco aparentes no contorno e intensidade das bandas de interesse entre os espectros. As bandas de absorção, cujas diferenças são mais facilmente observáveis, são apenas aquelas referentes à presença de dióxido de carbono (CO_2) e de água (H_2O) nas amostras, que ocorrem respectivamente na região de 3.400 e 2.300cm^{-1} , ambas desconsideradas na análise deste estudo. Uma investigação mais apurada do espectro aliada a uma vasta consulta à literatura e cálculos matemáticos realizados por computador (correções de linha de base, suavização espectral, normalização e colocação em modo de absorbância) foram necessários para se identificar as alterações nas respostas das folhas à radiação solar.

No âmbito da análise quantitativa, a Tabela 2 apresenta as razões de absorbância $A_{1.609\text{cm}^{-1}}/A_{2.917\text{cm}^{-1}}$ (quantidade de lignina), $A_{1.159\text{cm}^{-1}}/A_{2.917\text{cm}^{-1}}$ (quantidade de clorofila) e $A_{1.034\text{cm}^{-1}}/A_{2.917\text{cm}^{-1}}$ (quantidade de amido) obtidas no experimento. A

Figura 7 apresenta o gráfico das quantidades de lignina, clorofila e amido em relação a cada uma das taxas de incidência solar.

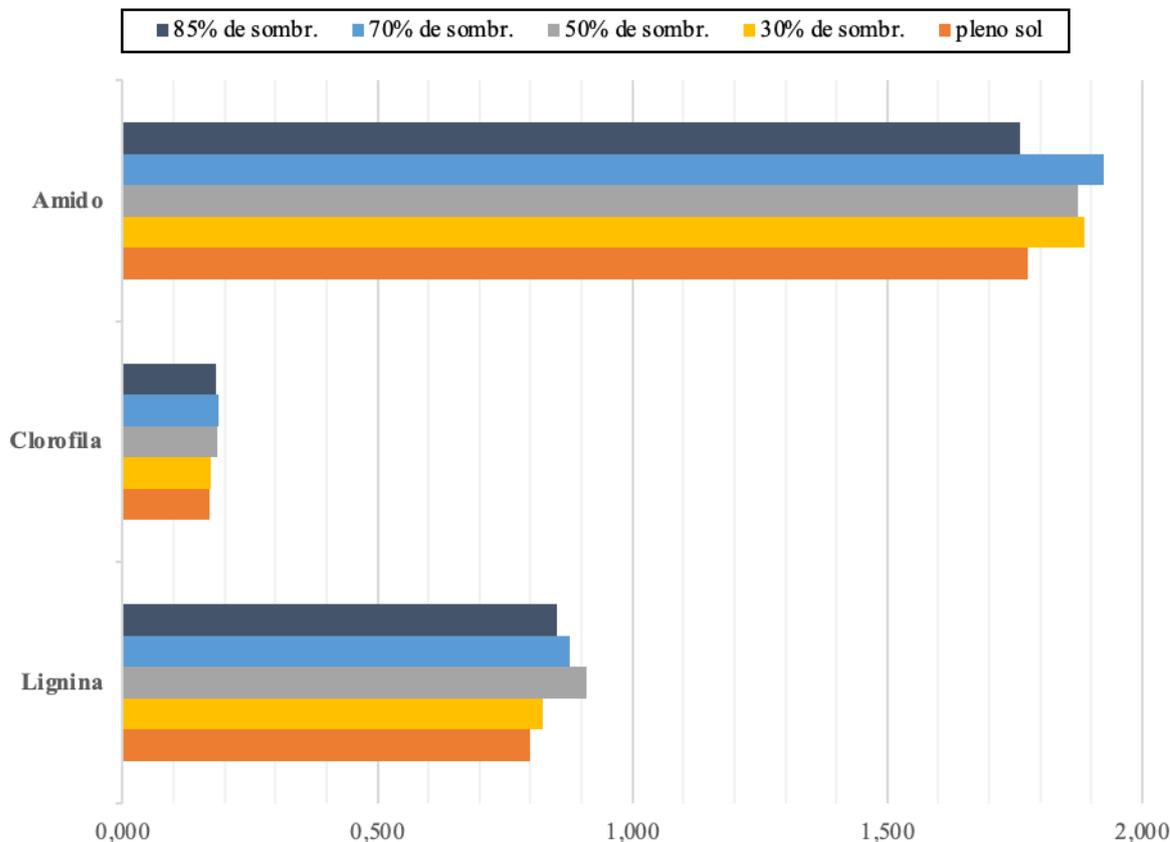
A partir da análise da Tabela 2 e do gráfico constante da Figura 7, é possível verificar que a condição de incidência solar que mais favoreceu o incremento, isto é, o aumento da concentração de lignina presente nas folhas de capororoca em um mês de experimento, foi a de 50% de sombreamento (0,910), seguida pela de 70% de sombreamento (0,876), 85% de sombreamento (0,852), 30% de sombreamento (0,824) e por último a de pleno sol (0,799). Já com relação à clorofila, a condição mais favorável foi a de 70% de sombreamento (0,190), seguida pela 50% de sombreamento (0,186), 85% de sombreamento (0,184), 30% de sombreamento (0,173) e por último a de pleno sol (0,171). E com relação ao amido a mais favorável foi a de 70% de sombreamento (1,923), seguida pela de 30% de sombreamento (1,887), 50% de sombreamento (1,873), pleno sol (1,775) e por último a de 85% de sombreamento (1,761). Aplicando-se uma valoração de 0 a 5 para cada condição de incidência solar nas análises de lignina, clorofila e amido, onde 5 representa a condição mais favorável e 0 a menos favorável, temos que no somatório final a condição de incidência solar mais favorável (maior valor) para esses três constituintes das folhas é a de 70% de sombreamento, seguida pela de 50% de sombreamento, 30% de sombreamento, 85% de sombreamento e por último, no caso a mais desfavorável (menor valor), é a de pleno sol.

Tabela 2 - Razões de absorvância para quantificação de lignina, clorofila e amido presentes na amostra de folha de capororoca após um mês de experimento.

Incidência solar	$A1.609\text{cm}^{-1}/2.917\text{cm}^{-1}$ (lignina)	$A1.159\text{cm}^{-1}/2.917\text{cm}^{-1}$ (clorofila)	$A1.034\text{cm}^{-1}/2.917\text{cm}^{-1}$ (amido)
pleno sol	0,799	0,171	1,775
30% de sombreamento	0,824	0,173	1,887
50% de sombreamento	0,910	0,186	1,873
70% de sombreamento	0,876	0,190	1,923
85% de sombreamento	0,852	0,184	1,761

Fonte: Produção do próprio autor.

Figura 7 - Quantidade de lignina, clorofila e amido em relação às diferentes taxas de incidência solar.



Fonte: Produção do próprio autor.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de espectroscopia no infravermelho com Transformada de Fourier para análise qualita e quantitativa de lignina, clorofila e amido presentes em amostras de folhas de capororoca sujeitas a cinco condições distintas de incidência solar (pleno sol, 30% de sombreamento, 50% de sombreamento, 70% de sombreamento e 85% de sombreamento), com o auxílio do programa de computador *Spectrum 5.3* (*PerkinElmer*), demonstrou que a condição mais favorável ao desenvolvimento da planta (isto é, aquela que apresentou maior concentração desses três constituintes) é a de 70% de sombreamento, seguida pela de 50% de sombreamento, 30% de sombreamento, 85% de sombreamento e por último, no caso a mais desfavorável, é a de pleno sol.

As constatações da presente pesquisa comprovam que é possível realizar o estudo da vegetação por meio de espectroscopia no infravermelha para avaliação do seu desenvolvimento e qualidade, podendo esta metodologia, por exemplo, ser empregada na análise da recuperação de áreas degradadas.

REFERÊNCIAS

- Alvarez-Ordóñez, A., Mouwen, D. J. M., López, M. & Prieto, M. (2011). Fourier transform infrared spectroscopy as a tool to characterize molecular composition and stress response in foodborne pathogenic bacteria. *Journal Of Microbiological Methods*, 84(3), 369-378.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2011.01.009>.
- Braga, B., Hespanhol, I., Conejo, J. G. L., Mierzwa, J. C., Barros, M. T. L., Spencer, M., Porto, M., Nucci, N., Juliano, N. & Eiger, S. (2005). *Introdução à Engenharia Ambiental: O desafio do desenvolvimento sustentável* (2. ed.). Pearson.
- Curran, P. J. (1989). Remote sensing of foliar chemistry. *Remote sensing of environment*, 30(3), 271-278.
- Güler, G. & Nalbant, A. (2018). Flow Cytometry and FTIR spectroscopy for detection of early apoptosis in human T cells. In *Multidisciplinary Digital Publishing Institute Proceedings* (Vol. 2, No. 25, p. 1558).
<http://dx.doi.org/10.3390/proceedings2251558>.
- Hiri, A., Luca, M., Ioele, G., Balouki, A.; Basbassi, M., Kzaiber, F., Oussama, A. & Ragno, G. (2016). Chemometric classification of citrus juices of Moroccan cultivars by infrared spectroscopy. *Czech Journal of Food Sciences*, 33(2), 137-142. <http://dx.doi.org/10.17221/284/2014-cjfs>.
- Holler, F. J., Skoog, D. A. & Crouch, S. R. (2009). *Princípios de análise instrumental* (6 ed.). Bookman.
- Instituto Brasileiro de Florestas. (2016). *Capororoca - Rapanea ferruginea*.
<http://ibflorestas.org.br/loja/mudas/muda-30a60-capororoca.html>.
- Kasim, N. E., Abou-Rayya, M. S., Elbahy, G. M. S. & Mahmoud, T. M. (2014). Using Infrared Absorption Spectroscopy in Studying Nitrogen, Chlorophyll and Starch Contents in Manzenillo Olive Leaves Before Harvest Stage. *World Applied Sciences Journal*, 31(7), 1337-1340.
- Larcher, W. (2000). *Ecofisiologia vegetal*. RiMA.
- Lins, E. F., Praxedes, W. C., Trevisan, D. C., Santos, P. M., sakane, K. K. & Aquino-Silva, M. R. (2011). Espectroscopia no Infravermelho para Estudos Ambientais. *Anais eletrônicos do 15º Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, 11º Encontro Latino Americano de Pós-Graduação, 5º Encontro Latino Americano de Iniciação Científica Júnior*. Univap, 2011. Disponível em:
http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2011/anais/arquivos/RE_0742_1049_01.pdf.
- Lorenzi, H. (2002). *Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil* (vol.3). Instituto Plantarum.

- Maquelin, K., Choo-Smith, L. P., Kirschner, C., Ngo-Thi, N.A., Naumann, D. & Puppels, G.J. (2006). *Handbook of vibrational spectroscopy*. John Wiley & Sons. <http://dx.doi.org/10.1002/0470027320.s8106>.
- Mihoubi, W., Sahli, E., Gargouri, A. & Amiel, C. (2017). FTIR spectroscopy of whole cells for the monitoring of yeast apoptosis mediated by p53 over-expression and its suppression by *Nigella sativa* extracts. *Plos One*, 12(7). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0180680>.
- Movasaghi, Z., Rehman, S. & Rehman, I. U. (2008). Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, 43(2), 134-179. <http://dx.doi.org/10.1080/05704920701829043>.
- Ramos, V. S., Durigan, G., Franco, G. A. D. C., Siqueira, M. F. & Rodrigues, R. R. (2008). *Árvores da Floresta Estacional Semidecidual: Guia de identificação de espécies*. Edusp.
- Silverstein, R. M., Webster, F. X. & Kiemle, D. J. (2006). *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos* (7. ed.). LTC.
- Stuart, B. (1997). *Biological Applications of Infrared Spectroscopy: Analytical Chemistry by Open Learning*. John Wiley & Sons.