

CARACTERIZACIÓN DE FRACCIONES DE LIGNINA EXTRAÍDAS DEL LICOR NEGRO CON SOLVENTES ORGÁNICOS

Aura M. González¹,
Juan P. Herrera^{1y2}, Antonio Rodríguez M.².

RESUMEN

La lignina es fraccionada por precipitación ácida del Licor Negro y por extracción sucesiva con solventes orgánicos, en orden ascendente a su polaridad. Se realizó un estudio comparativo entre los distintos extractos, con respecto a la concentración de lignina, contenido de grupos fenólicos y conductividad de las muestras de lignina. Se observó la afinidad de la lignina precipitada a pH 2 por los solventes de baja polaridad y parámetro de *Hildebrand* cercano a 9.

Palabras clave: Lignina, Licor negro, solventes orgánicos.

¹ Laboratorio Análisis instrumental Facultad de Ingeniería Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela.
gonzaura@ula.ve;

¹ y ² Laboratorio de Bioquímica Adaptativa, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela.
herjuanp@yahoo.com; antoniorod@cantv.net

CHARACTERIZATION OF LIGNIN FRACTIONS TAKEN FROM BLACK LIQUOR WITH ORGANIC SOLVENTS

Aura M. González¹,
Juan P. Herrera^{1y2}, Antonio Rodríguez M.².

ABSTRACT

Lignin is fractioned by acid precipitation from black liquor and by successive extraction with organic solvents, in upward order of their polarity. A comparative study among different extracts was carried out, with regard to lignin concentration, phenolic content and conductivity of lignin samples. The affinity of precipitated lignin at pH 2 for low polarity solvents and *Hildebrand* parameter close to 9 were observed.

Key words: Lignin, black Liquor, organic solvents.

¹ Laboratorio Análisis instrumental Facultad de Ingeniería Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela.
gonzaura@ula.ve;

^{1 y 2} Laboratorio de Bioquímica Adaptativa, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela.
herjuanp@yahoo.com; antoniorod@cantv.net

INTRODUCCIÓN

El licor negro proviene del proceso de pulpado de la planta Smurfit-Mocarpel, ubicada en San Felipe, estado Yaracuy; Venezuela, los productos principales consisten en una pulpa color café y el denominado licor negro, los cuales son separados por procesos de lavado y filtración, en donde la pulpa recibe un tratamiento químico riguroso, para la eliminación de la lignina por medio un tratamiento Kraft a baja sulfidez. Un factor importante para el desarrollo del proceso Kraft ha sido la recuperación del licor agotado del proceso de cocción, el licor negro eliminado de la pulpa en el lavador contiene el 95-98% de los productos químicos cargados en el digestor (hidróxidos, ácidos, ligninas y otros productos), razón por la cual no puede ser desechado directamente al ambiente.

La lignina es un polímero amorfo, que contiene de 5 a 500 unidades fenilpropanoicas. Este producto tiene diversas aplicaciones, por lo tanto, es conveniente seleccionar la vía económica factible para convertir la lignina en productos comerciales según Casey, J. (1990), Rojas, O. y Salager J. (1993). Su heterogeneidad estructural ha sido estudiada por diversos métodos en algunos de estos estudios, la lignina fue manipulada para ser fraccionada antes de su caracterización; dicho fraccionamiento se realizó por extracciones sucesivas con solventes orgánicos o por ultrafiltración del licor negro (Casey, J. 1990). La lignina presente en el licor negro puede ser separada por precipitación, mediante la reducción del pH. Dependiendo de su aplicación, este compuesto polimérico puede ser separado en forma más o menos pura, manteniendo en su estructura grupos fenólicos, alcoholes primarios y secundarios, carboxilatos, grupos metoxilos y carbonilos (Romero, L. 1992).

La lignina es soluble en algunos solventes de características definidas; esta técnica de separación consiste en emplear un solvente para extraer la lignina, aprovechando la afinidad de éste polímero con el solvente empleado. Se han realizado estudios con respecto a la solubilidad de la lignina en diversos solventes, utilizando el parámetro de solubilidad de Hildebrand $((\text{cal}/\text{cc})^{1/2})$, donde se determinó que el mejor solvente empleado para la extracción de la lignina tenía valores de parámetro de Hildebrand cercanos a 11 y que la solubilidad de la lignina aumenta en una mezcla en comparación con un solvente puro (Sun, R.R., Tomkinson J.J., Lloyd Jones, G.G. 2000.). Se ha determinado que las ligninas de alto peso molecular son extraídas con solventes, cuyo parámetro de Hildebrand era cercano a 11 y tienen una alta capacidad para formar enlaces de hidrógeno. Otros estudios arrojaron que el contenido de ácidos carboxílicos y grupos fenólicos disminuyen cuando el peso

molecular aumenta, mientras que el contenido de grupos metoxil aumenta cuando aumenta el peso molecular (Sun, R.R., Tomkinson J.J., Lloyd Jones G.G. 2000).

El parámetro de solubilidad de Hildebrand totaliza las fuerzas de Vander Walls en un valor de solubilidad más simple. El parámetro de solubilidad es un valor numérico que indica el comportamiento de la solvencia relativa de un solvente específico (Meister, J., Lathia, A. y Chang, F. 1991).

En esta investigación se planteó como objetivo principal la obtención de fracciones de lignina, mediante el tratamiento con ácidos y solventes orgánicos. La lignina es separada a partir del licor negro proveniente de la planta Smurfit-Mocarpel (San Felipe, estado Yaracuy, Venezuela), la cual utiliza el proceso Kraft para la obtención de pulpa a partir de fibras largas de *Pinus caribaea*. El tratamiento con ácidos se basa en disminuir el pH del licor negro, logrando separar los derivados de la lignina. Para la extracción con solventes orgánicos, estos fueron seleccionados basándose en parámetros de solubilidad que favorezcan la extracción de la lignina, como es el caso del parámetro de Hildebrand y la polaridad de los solventes. Las fracciones obtenidas se analizaron, empleando técnicas espectroscópicas y de conductividad, repitiendo las mediciones para tres grupos de alícuotas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Precipitación de la lignina

El Licor negro generado en la planta Smurfit-Mocarpel tiene un pH de 11,8, una densidad de 1,04(g/ml) y un porcentaje de sólidos de 10% (p/v). Estas muestras fueron almacenadas a temperatura ambiente en recipientes de plástico previamente lavados y esterilizados. Para la precipitación a pH 2, las muestras de licor negro se calentaron a 50 °C en constante agitación; se agregó, en pequeñas cantidades, ácido sulfúrico (H₂SO₄) 1 N, hasta alcanzar un pH igual a 2. La suspensión obtenida al precipitar la lignina es llevada a centrifugación a 2500 rpm por 20 minutos, con la finalidad de separar el precipitado. El precipitado obtenido es lavado con ácido sulfúrico 0,1 N y con agua destilada. Finalmente, el precipitado es llevado a la estufa a 50 °C, por 24 horas. Esta operación se repite varias veces hasta obtener una cantidad apreciable de muestra según Rojas, O. (1993).

La segunda técnica de precipitación: al licor negro se le agregó hidróxido de sodio 0,1M (mismo volumen de licor negro) e hidróxido de sodio 0,5% m/v

(el doble del volumen de licor negro). La solución resultante es calentada en un baño de María, aproximadamente a 50° C por 1 hora. Para precipitar la lignina, se adicionó a la solución ácido acético (CH₃COOH) 20% v/v hasta alcanzar un pH igual a 3, en constante agitación. La suspensión es llevada a la centrífuga, a una velocidad de 3000 rpm, durante 15 minutos. El precipitado es lavado con agua destilada caliente. El precipitado obtenido es llevado a la estufa, a 50° C por 24 horas, obteniendo, de esta forma, la lignina precipitada completamente seca.

Para el secado del licor negro, éste es concentrado, con la ayuda de un rotavapor, manteniendo la temperatura en 50° C aproximadamente; una vez realizada la concentración, el licor negro es llevado a la estufa a 50° C, hasta secado total.

Extracción con solventes

Las muestras de lignina fueron secuencialmente fraccionadas, partiendo de diez gramos de muestra inicial (esta operación se realizó por triplicado por muestra). A la muestra se le añaden 50 ml del primer solvente, el de menor polaridad. Este sistema es sometido a agitación durante algunos minutos; luego se decanta el sobrenadante y se almacena; al residuo sólido se le añade el mismo solvente y se repite todo el procedimiento anterior hasta alcanzar un sobrenadante incoloro.

Al obtener todo el sobrenadante, correspondiente al primer solvente empleado, es llevado al rotavapor, a 50° C aproximadamente y se concentra, para posteriormente ser llevado a la estufa a 50° C. De esta forma, se elimina todo el solvente, y se obtiene la fracción de lignina extraída.

La porción de la muestra que no fue solubilizada es secada en la estufa, con la finalidad de eliminar los residuos del solvente utilizado. Una vez secada la muestra se realiza la siguiente extracción, adicionando el solvente que sigue en el orden ascendente de polaridad. Todo el procedimiento se repite para cada uno de los solventes a emplear, guardando siempre el fondo (sólido) para la siguiente extracción.

Para la extracción realizada con agua, las muestras son calentadas en un horno microondas durante 30 segundos, con la finalidad de aumentar la solubilidad de la fracción.

Análisis de las fracciones

La concentración de grupos fenólicos en cada uno de los extractos obtenidos

se determinó mediante técnicas espectrofotométricas, en las cuales se incluye un barrido de longitud de onda en un rango de 200 a 600nm en un espectrofotómetro UV mini 1240 Shimadzo. Las muestras se solubilizaron en hidróxido de sodio 0,01N.

La lignina contiene grupos hidroxyl aromáticos que reaccionan con el reactivo Folin. Este método nos permitirá tener un estimado de la concentración de dichos grupos en la muestra evaluada. El contenido de fenoles totales es analizado a 765 nm espectrofotométricamente. A 500 µl de muestra, se permite que reaccione con 2,5 ml de Folin diluido 1/10. La mezcla se agita por 3 minutos y luego se añade 2 ml de Na₂CO₃ al 7,5 %. La intensidad del color desarrollada a las 2 horas se mide a 765 nm ante un blanco preparado de la misma manera con agua. La concentración de fenoles es determinada a partir de una curva de calibración usando fenol como estándar de 0-200 mg/L.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El barrido de absorbancia para las ligninas obtenidas por los distintos métodos de precipitación, así como para el licor negro, se pueden apreciar en la Figura.1. Las curvas presentan un comportamiento similar y evidencian la presencia de lignina, debido a la formación de una meseta para una longitud de onda entre 270-290nm, que identifica los grupos no condensados (anillos aromáticos) como lo reportaron González, A.M., Salager, J. L., Brunetto, M. R., Galignani, M., Burguera, M., Burguera J. L., et al (2000) y Acevedo, González y Rodríguez, (2005).

En la Figura.1, se aprecia, que la mayor absorbancia corresponde a la lignina precipitada a pH 3; esta lignina es más pura que la del licor negro, ya que la del licor negro, no sólo presenta lignina sino también gran parte de las impurezas del proceso de digestión según Rojas, O. y Salager, J. L. (1991). Si se observa la lignina precipitada a pH 2 tiene semejanza con el espectro de pH 3, ya que en estos casos las técnicas de precipitación permiten separar gran cantidad de lignina de los productos provenientes de la digestión.

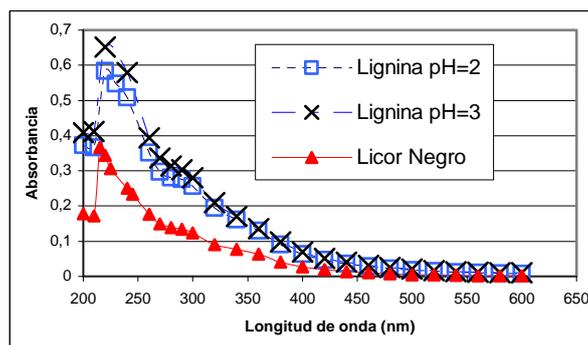


Figura 1. Absorbanza de las muestras de Licor Negro, lignina pH 2 y lignina pH 3, disueltas en hidróxido de sodio 0,01N

En la Figura 2, se presentan los barridos de absorbanza de cada uno de los extractos de licor negro obtenidos al emplear los distintos solventes. La absorbanza presentada por cada extracto es comparada con el espectro de su muestra de origen (licor negro), siendo las soluciones utilizadas de la misma concentración.

Como se aprecia en la Figura 2, la mayor absorbanza la presenta el extracto obtenido con agua, en comparación con las restantes fracciones, a lo largo de todo el barrido. Este resultado indica que la extracción por parte de este solvente involucra una gran variedad de compuestos presentes en el licor negro. Debe recordarse que el licor negro en sí es polar y el agua siendo un solvente polar permite la extracción de compuestos de alta polaridad.

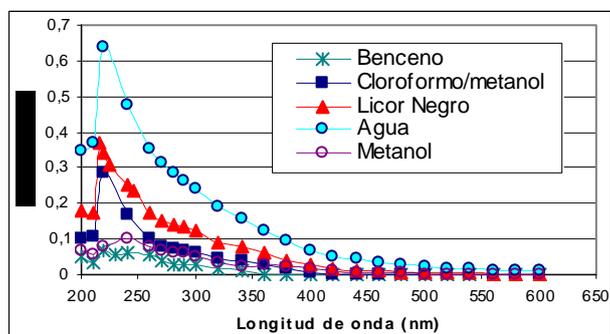


Figura 2. Barrido de absorbanza de licor negro y de los extractos de licor negro obtenidos con los distintos solventes

El benceno demuestra ser un solvente más selectivo, ya que presenta una absorbancia mínima entre 0 y 0,1, para una zona comprendida entre 0 y 370nm, siendo prácticamente nula para el resto del barrido. Las mezclas cloroformo/metanol parecen ser mejor que el mismo metanol que, siendo un solvente polar, no presenta un alto poder de extracción para el licor negro.

En la Figura. 3, se observa la pequeña meseta en la zona de 270 a 290 nm, para los extractos de benceno, cloroformo/metanol y lignina a pH 2, por la presencia de grupos aromáticos, al comparar la lignina precipitada a pH 2 con los extractos obtenidos de ella. Existe una gran similitud, entre la curva de lignina a pH 2, y la curva del extracto cloroformo/metanol. Así mismo, se observan pequeñas diferencias entre las curvas de lignina a pH 2 y el extracto obtenido con benceno; a lo largo de las curvas se diferencian notablemente lignina a pH 2 al comparar con el extracto obtenido en Agua.

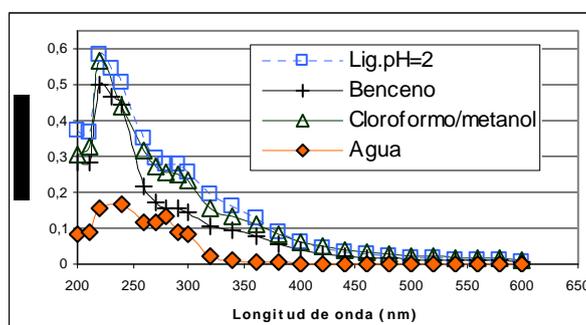


Figura 3. Barrido de absorción de la lignina pH 2 y de los extractos de lignina pH 2 obtenidos con los distintos solventes

Se demuestra la afinidad de la lignina precipitada a pH 2 por los solventes de baja polaridad y parámetro de Hildebrand cercano a 9.

En la Figura 4, se compara la lignina precipitada a pH 3 con los extractos obtenidos de ella en diferentes solventes. Se observa a lo largo del barrido una gran similitud en la absorción manifestada por la lignina precipitada a pH 3, y los extractos de metanol/cloroformo y metanol; lo que indica concentraciones similares de los compuestos que conforman estas fracciones (Sun, R.R., Tomkinson J.J., Lloyd Jones G.G. (2000) y Likon, M. y Perdih, A. 1999). El extracto que posee una mayor concentración de aromáticos es aquel donde se usó agua como medio de extracción; presenta la mayor absorción en la zona correspondiente a estos grupos (270-290 nm). Basado en ello, se deduce que

los grupos aromáticos presentes en la lignina precipitada a pH 3 manifiestan una mayor afinidad por los solventes de polaridad alta.

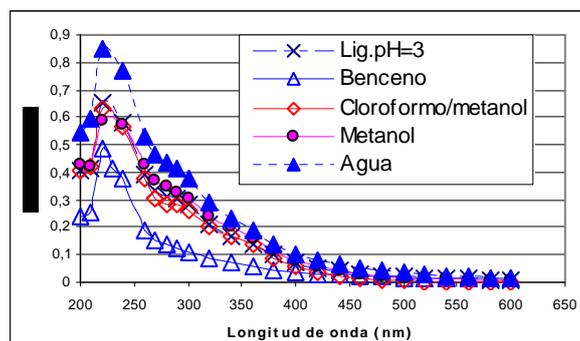


Figura 4. Barrido de absorción de la lignina pH 3 y de los extractos de lignina pH 3 obtenidos con los distintos solventes

Muchos autores han indicado que la lignina cambia su estructura dependiendo del medio de extracción y del pH. En esta experiencia podemos comprobar que al comparar las Figuras 3 y 4 existen diferencias, pues utilizamos para el mismo licor técnicas diferentes para precipitarlas obteniendo lignina a pH 2 y lignina a pH 3, a pesar de utilizar el mismo solvente para extraerlas, no se extraen los mismos componentes, como observamos en los barridos en absorción. Nada más comparemos el barrido con la extracción en agua y observamos que son diferentes.

La Figura 5 presenta la concentración de aromáticos en cada una de las fracciones de lignina, determinada por la reacción del reactivo Folin con los grupos fenólicos. El extracto de lignina precipitada a pH 3 y extraída con agua, posee la mayor concentración de grupos fenólicos, confirmando los resultados obtenidos en el barrido de absorción, en la zona de 270-290nm que identifica estos grupos.

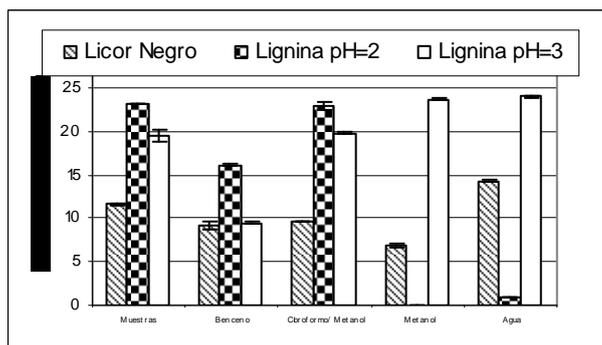


Figura 5. Concentración de grupos fenólicos para las distintas fracciones de lignina

Los resultados obtenidos en las distintas extracciones indican una afinidad mayor de los grupos aromáticos presentes en la lignina pH 2, por los solventes de baja polaridad y de parámetro de Hildebrand alrededor de 9, mientras que los grupos fenólicos de la fracción de Lignina pH 3 presentan una solubilidad preferencial por los solventes de mayor polaridad y parámetro de Hildebrand elevado. Para el licor negro, la mayor concentración de anillos aromáticos se presentó en el extracto de agua, correspondiente al solvente de mayor polaridad 9 y mayor parámetro de Hildebrand 22, siendo similar la afinidad de estos grupos por los demás solventes. La baja polaridad del benceno implica que las fracciones extraídas con este solvente son de baja polaridad (Rojas, O. y Salager, J. L. (1991), Salager, J. L.(2000) y Becher, P. 1972). Debido a su polaridad, los extractos obtenidos presentan un comportamiento muy poco hidrofílico (Salager, J. L. (2000) y Becher, P. 1972), lo que implica una mayor afinidad por la fase no polar, en este caso el aire, facilitando una mayor adsorción de las moléculas en la superficie de las soluciones.

Por ser el metanol y el agua los solventes de mayor polaridad, en comparación con los demás solventes empleados, las fracciones obtenidas en estos solventes, tendrán también una polaridad alta, lo que otorga una mayor hidrofiliidad a estos extractos (Rojas, O., Salager, J. L. (1993) y Becher, P. 1972)

Conductividad de las soluciones de lignina

El análisis de la conductividad de las fracciones obtenidas con diferentes técnicas de precipitación (Figura 6), expone un comportamiento proporcional de la variación de la conductividad en función de la concentración de las

soluciones; no se puede apreciar un cambio en la forma de la curva de conductividad vs. la concentración que indique la asociación de las moléculas de lignina en solución (Salager, J. L.(2000), Becher, P. (1972) y Gundersen, S. A., Sæther, O. y Sjöblom, J. 2001).

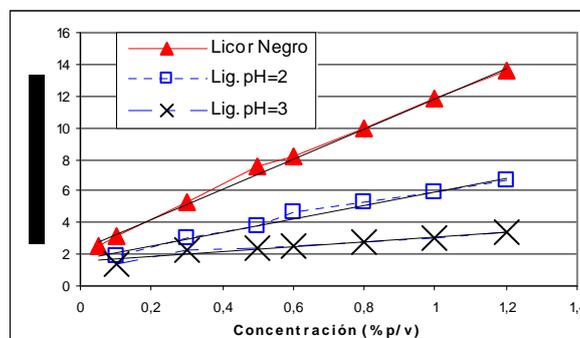


Figura 6. **Conductividad de las soluciones de lignina disueltas en hidróxido de sodio 0,01 N**

Sin embargo, se observa en la Figura 6 que el licor negro presenta una conductividad más alta que la lignina a pH 2 y a pH 3. Es de esperarse, ya que la solución de licor negro contiene residuos químicos del proceso de digestión que en medio acuoso contribuyen con la conductividad. La lignina precipitada a pH 3 se considera un método de precipitación y de purificación, por lo tanto, debe ser la que menos residuos presente y, por consiguiente, su conductividad es menor. Además, esta técnica para precipitar a pH 3 utiliza para precipitarla un ácido orgánico, que no contribuye fundamentalmente a la conductividad. (Schwanninger, M y Hinterstoisser B. 2002).

Conclusiones

La mayor concentración de lignina se obtuvo en la fracción extraída con el solvente de mayor polaridad, a partir de lignina precipitada a pH 3.

Para la lignina precipitada a pH 3 y el licor negro, la concentración de lignina en los extractos es proporcional a la polaridad y el parámetro de Hildebrand de los solventes empleados.

La lignina precipitada a pH 2 es más soluble en los solventes de menor polaridad y un parámetro de Hildebrand cercano a 9.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acevedo, E. J., González, A. M., Rodríguez, A. J. (2005). Surface activity of lignin fractions isolated with organic solvents. *7 th the Internacional Lignin Institute ILI Forum-Barcelona internacional*.
2. Becher, P. (1972). *Emulsiones, teoría y práctica*. Madrid: Editorial Blume.
3. Casey J. (1990). *Pulpa y Papel. Química y Tecnología Química*, Volumen 1. México: Editorial Limusa.
4. Feipeng, P. (1998). Relationship of Wood Surface Energy to Surface Composition. *American Chemical Society*. 14, 536-541.
5. González, A.M., Salager, J. L., Brunetto, M. R., Gallignani, M., Burguera, M., Burguera J. L., et al (2000). Determination of Molecular Weight Distribution of Lignin Derivatives by Aqueous Phase High Performance Size Exclusion Chromatography HPSEC. *High Resolution Chromatography*. 23, 693-696.
6. Gundersen, S. A., Sæther, O. y Sjöblom, J. (2001). Salt effects on lignosulfonate and Kraft lignin stabilized O/W-emulsions studied by means of electrical conductivity and video-enhanced microscopy. *Colloids and Surfaces*. 186, 141-153.
7. Likon, M. y Perdih, A. (1999). Fractionation of spruce trichloroacetic lignin. *Acta Chimica Slovenica*. 46, 87-98.
8. Meister, J., Lathia, A. y Chang, F. (1991). Solvent Effects, Species and extraction method effects, and cointiator effects in the Grafting of lignin.. *Journal of Polymer Science*. 29, 1465-1473
9. Rojas, O y Salager, J. (1993). Surface activity of bagasse lignin derivatives found in the spent liquor of soda pulping plants. *Tappi Journal*. 77, 169 - 174.
10. Rojas, O. (1993). *Segregación interfacial de derivados de la lignina*. Tesis de maestría. Universidad de los Andes. Mérida, Venezuela.

11. Rojas, O. y Salager, J. L. (1991). *Lignina y derivados de licores residuales de plantas de pulpa como agentes dispersantes para lodos de perforación*. Informe final del Proyecto PDVSA – Empresas Papeleras UAPIT PR5704. Universidad de los Andes. Mérida, Venezuela.
12. Romero, L. (1992). *Obtención de agentes dispersantes a partir de ligninas recuperadas de licores de pulpa a la soda de bagazo de caña*. Tesis de maestría. Universidad de los Andes. Mérida, Venezuela.
13. Salager, J. L. (2000). Formulation concepts for the emulsion maker. En Nielloud F. & Marti-Mestres G. (Eds). *Pharmaceutical emulsions and suspensions*. (Drugs and Pharmaceutical Science Series 105). (pp. 19-72). New York: Marcel Dekker.
14. Schwanninger, M y Hinterstoisser, B. (2002). Comparison of the classical wood extraction method using a soxhlet apparatus with an advanced extraction method. *Holzalsroh-und Werkstoff*. 60, 343-346.
15. Sun, R.R., Tomkinson, J.J., Lloyd Jones G.G. (2000). Fractional characterization of ash-AQ lignin by successive extraction with organic solvents from oil palm EFB fibre. *Polymer Degradation and Stability*. 68, 111-119.

Agradecimientos

Al CDCHT por el aporte financiero
para la realización de este proyecto.