



DISGREGADO DE TEJIDOS LEÑOSOS POR EL MÉTODO CLORITO - ÁCIDO ACÉTICO - CARBONATO. EVALUACIÓN DEL DAÑO PRODUCIDO A LAS FIBRAS

Núñez, Carlos E./ Pavlik, Claudio A.

Programa de Investigación de Celulosa y Papel

Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales - U.Na.M.

Félix de Azara N° 1552 - Posadas - Misiones. - (3300) Telefax: 03752- 425414.

Correo Electrónico: pavlik@fceqyn.unam.edu.ar

LIGNEOUS TISSUES DISINTEGRATION BY THE CHLORITE-ACETIC ACID-CARBONATE METHOD.
FIBER DAMAGE EVALUATION

ABSTRACT

The treatment using chlorite-acetic acid is widely used for lignocellulosic materials disintegration. A sodium carbonate stage was added as a modification of the original method with the aim of avoiding high levels of raw materials delignification. This work compare the quantitative damage produced on the fibers by the original method and its alternative. Five wood types were studied. Results show that with the alternative method, fiber damage is less than 1%, being ten times lower than with the original procedure. Further studies showed that this method might be improved changing the impregnation conditions.

KEYWORDS: plant tissues, microscopy, sample preparation, defibration, fiber analysis, chlorites.

RESUMEN

El tratamiento con clorito - ácido acético es ampliamente utilizado para disgregar material lignocelulósico. Para que no sea necesario llegar a altos niveles de deslignificación con el consiguiente daño de los elementos celulares, se modificó el método original agregando una etapa de tratamiento con carbonato de sodio, deslignificando menos el material. Se compararon en este trabajo la rotura cuantitativa de fibras entre método y variante. En cinco maderas estudiadas se determinó que la variante con carbonato de sodio en ningún caso llegó a romper más del 1% de las fibras, siendo en comparación unas diez veces mayor la rotura de fibras con el método original. Por observaciones posteriores al trabajo experimental, se concluyó que se puede mejorar el método cambiando las condiciones de impregnación.

PALABRAS CLAVES: tejidos vegetales, microscopía, preparación de muestras, disgregado, análisis fibrosos, clorito.

INTRODUCCIÓN

En el estudio de la anatomía de tejidos lignificados, es necesario efectuar la operación de disgregado que consiste en un tratamiento químico específico del material, con el fin de desestructurarlo y poder analizar los elementos celulares por separado.

Los primeros métodos consistían en tratamientos agresivos con ácidos fuertes y altas temperaturas, que desprendían elementos celulares bastante dañados de la superficie de los trozos de material.

Al desarrollarse el conocimiento de la química de la deslignificación por la industria de la pulpa para papel, se encontraron reactivos específicos de la lignina dentro de los cuales el dióxido de cloro ha mostrado ser uno de los más eficientes.

Por lo que sabemos, la primera cita de la utilización de este reactivo como agente disgregante se debe a Jayme [1], existiendo hacia la misma época referencias de Lovell [2], Wise *et al.* [3], y Spearing e Isenberg [4], todas en la década de los años 40.

La técnica corriente consiste en tratar el material lignocelulósico con solución de clorito de sodio a la que se le agrega ácido acético hasta pH alrededor de cuatro, para generar dióxido de cloro. Posteriormente se mantiene la temperatura entre 70-80°C por 30-60 minutos. Esta forma original del método la denominaremos clorito-ácido acético o "CAA".

El procedimiento se repite las veces que sea necesario hasta que por una fuerte agitación se disgregue una parte considerable del espécimen. Puesto que se utiliza un pH regulado y temperaturas y tiempos limitados, se consigue una deslignificación muy selectiva del material.

Sin embargo, el material permanece duro aunque se elimine hasta el 80% de la lignina, y es necesario llevar el tratamiento hasta las últimas instancias para conseguir un buen disgregado.

Suponiendo que ello se debe justamente a la alta selectividad del dióxido de cloro que no llega a disolver el complejo hemicelulosas - lignina de la lámina media, se realizó una modificación que consiste en un segundo tratamiento con una solución de carbonato de sodio medianamente concentrada, que disuelve o dispersa dicho complejo.

De esta manera no es necesario completar la deslignificación para que los elementos se libe-

ren, quedando menos degradados y más fáciles de teñir.

Esta variante que denominamos clorito, ácido acético-carbonato (CAA-C), ha probado su eficacia en trabajos previos, habiéndose evaluado su aptitud para mantener los parámetros biométricos de las fibras originales de la madera [5].

Para completar el estudio metodológico, en el presente trabajo se midió el nivel de fibras rotas que genera el CAA-C como así también, de forma cualitativa, el estado general de los elementos celulares. El daño se distinguirá del producido por los sistemas mecánicos de fraccionamiento, extrayendo muestras de la parte interna de los fragmentos de material lignocelulósico utilizados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales lignocelulósicos

Se eligieron cinco especímenes de madera de la xiloteca del PROCYP y se cortó de cada uno de ellos una rodaja de aproximadamente tres centímetros de ancho. Las mismas correspondían a las siguientes especies:

Laurel Negro (*Nectandra saligna*-Lauráceas). Individuo de la selva misionera de aproximadamente 25 años, proveniente de Puerto Piray, Misiones.

Guatambú blanco (*Balfourodendron riedelianum*-Rutáceas). Individuo de la selva misionera de aproximadamente 35 años, proveniente de Alba Posse, Misiones.

Álamo 214 (Álamo híbrido-Salicáceas). Individuo de plantación comercial de 8 años, proveniente del Delta del Río Paraná.

Eucalyptus grandis (Mirtáceas). Ejemplar de plantación comercial de 7 años implantado en Virasoro, Corrientes.

Pinus elliotii (Pináceas). Ejemplar de plantación comercial de 8 años proveniente de Puerto Esperanza, Misiones.

Preparación y tratamiento de las muestras

De cada una de las rodajas se extrajo un cuerpo prismoidal de aproximadamente 2,5 cm de lado. En el caso de las latifoliadas abarcaba albura y duramen y en el *Pinus elliotii* comprendió desde el fin de la madera juvenil hasta el anteúltimo anillo. A estos bloques se les hizo un tratamiento en cinco etapas como se indica a continuación:

- 1) 5 días en agua a 50°C;
- 2) 48 horas a 40°C en solución de clorito-acético, manteniendo pH entre 4,0 y 4,2 (10 g/l de clorito de sodio);
- 3) cambio de solución y agregado de solución nueva de clorito de sodio de 17 g/l por 5 días;
- 4) cambio de solución y agregado de solución nueva de clorito de sodio de 50 g/l por 3 días;
- 5) 24 horas en solución de Carbonato de sodio de 40 g/l (pH ~ 10) a 40°C.

Los trozos así tratados estaban blandos en la parte externa y casi inalterados en el centro. Las muestras para microscopía se extrajeron de la parte blanda más interna, para tener la seguridad que el daño a los elementos fuera debido al método químico de tratamiento y no al proceso mecánico de cortado de los bloques.

A continuación se colocaron en tubos de ensayo con tapa y se sacudieron unas pocas veces sin utilizar demasiada energía, esperando unos instantes para que decantaran las eventuales astillas y haces fibrosos. Se pasó la suspensión a un filtro de vidrio sinterizado, lavándola varias veces con agua y conservándola en solución de bicarbonato de sodio al 0,5%.

Preparación de los *slides*

Se tomó con agitación una alícuota de la suspensión fibrosa, y se colocó en un tubo de ensayo. Se le agregó posteriormente la cantidad de agua adecuada para hacer una dilución tal, que contuviera aproximadamente 200 fibras para las latifoliadas y 100 traqueidas para el pino.

Se pasaron fracciones de un mililitro a varios portaobjetos preparados adecuadamente, se secaron a 50°C, se tiñeron *in vitro* con safranina, se enjuagaron y volvieron a secar.

Para el recuento se agregó glicerina y se colocaron cubreobjetos.

Recuento de fibras

En una observación previa de los *slides* por el método CAA-C, se observó que en general los elementos fibrosos estaban enteros y que los pocos fragmentos existentes se podían asimilar a mitades y tercios de fibras. De esta manera se fueron sumando las fracciones halladas para determinar el número de fibras rotas, de acuerdo con la expresión:

$$X = (A \cdot \frac{3}{4} + B \cdot \frac{1}{2})$$

donde X es número entero, A el número de fragmentos estimados tercios de fibras, y B el número de fragmentos estimados mitades.

El porcentual de fibras rotas se calculó como la relación entre X y el número total de fibras enteras leídas más X, por 100.

En el caso de los *slides* de material tratado por el método CAA, dada la cantidad de fragmentos, muchos de ellos de corta longitud, se extrajo un factor empírico de 3,1 por el que se dividió el número de fragmentos leídos para determinar la cantidad de fibras rotas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la observación microscópica de los preparados se pudo observar en general que las fibras se hallaban en muy buen estado, no habiendo fibrilación ni desgarramiento de pared como suelen observarse en los disgregados con ácidos fuertes y con peróxido - ácido acético.

El número de fibras rotas en ningún caso excedió del 1%, Tabla 1, valor que se considera aceptable para los trabajos corrientes de estudios anatómicos en estos materiales.

En comparación, los mismos materiales tratados con el método CAA, produjeron mayor rotura, como se puede apreciar en los resultados de la Tabla 2 y en las Figuras 1 y 2.

Tabla 1: Rotura de fibras debidas al método CAA-C

Especie	Nº fibras leídas	Nº fibras rotas	% fibras rotas
Laurel Negro	1578	1	0,06
Guatambú blanco	931	8	0,86
Álamo 214	2031	20	0,98
<i>Eucalyptus grandis</i>	2255	17	0,75
<i>Pinus elliotii</i>	1080	2	0,18

Tabla 2: Comparación de rotura de fibras entre los métodos CAA y CAA-C

Especies	CAA		CAA-C	
	Nº fibras leídas	% fibras rotas	Nº fibras leídas	% fibras rotas
Laurel Negro	1107	5,2	1578	0,06
<i>Eucalyptus grandis</i>	925	6,0	2255	0,75

La existencia de haces fibrosos y astillas fue muy variable de madera en madera, y esto se puede explicar por las distintas facilidades de impregnación y deslignificación de cada una de ellas.

Este hecho, sumado a la diferencia de dureza final de los trozos tratados, indica que no se ve factible la estandarización de una metodología con la técnica CAA-C, sino que por el contrario en cada caso se deberán fijar empíricamente las variables de trabajo, para entrar en el rango deseado, es decir, la zona en la que haya muchas fibras sueltas en buen estado, y poca cantidad de astillas o fibras sobretratadas.

Una observación posterior a la realización del trabajo experimental merece ser destacada. Los

trozos de madera utilizada que quedaron en solución de carbonato, se fueron ablandando con el tiempo hasta quedar, en uno o dos meses, completamente desmenuzables con los dedos. Ello confirma la idea de que la etapa crítica del desfibrado es la disolución de la lámina media y no la deslignificación, y que por lo tanto el método podría simplificarse y hacerse menos agresivo aún, realizando una sola impregnación con clorito de sodio, acidificando después y tratando posteriormente con carbonato de sodio de forma más intensa y completa que como se hizo en esta oportunidad.

En concordancia con lo hallado en este trabajo, hay un estudio de Stewart *et al* [6] en el que,

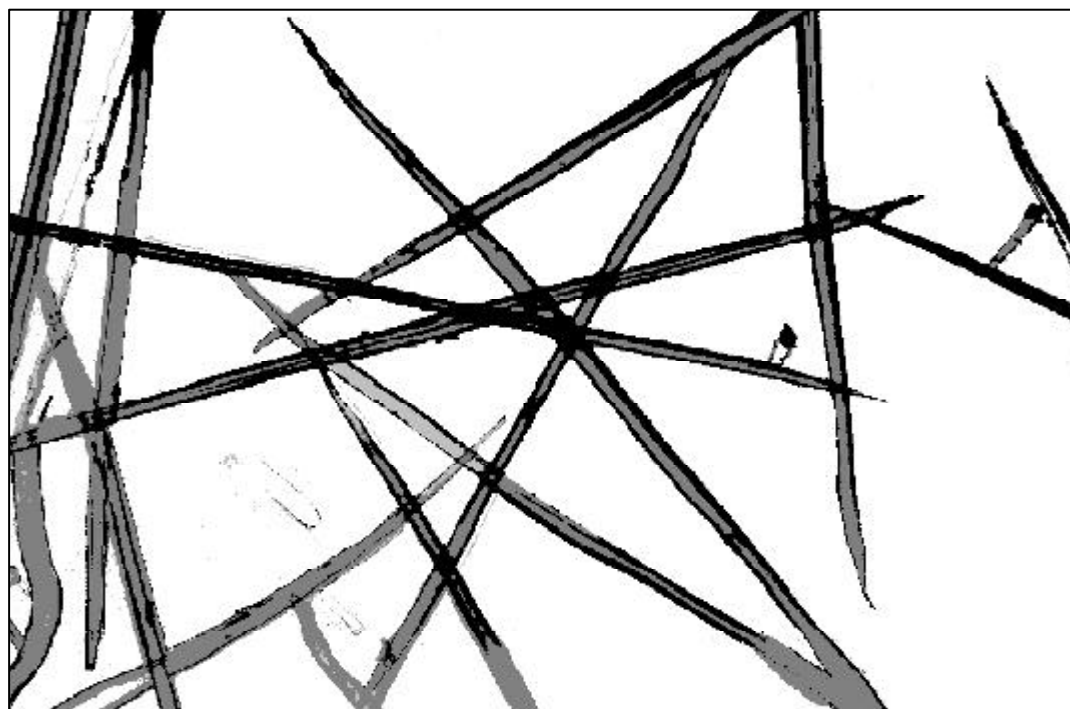


FIGURA 1: Fotografía representativa del estado de las fibras luego del desfibrado con clorito - ácido acético - carbonato

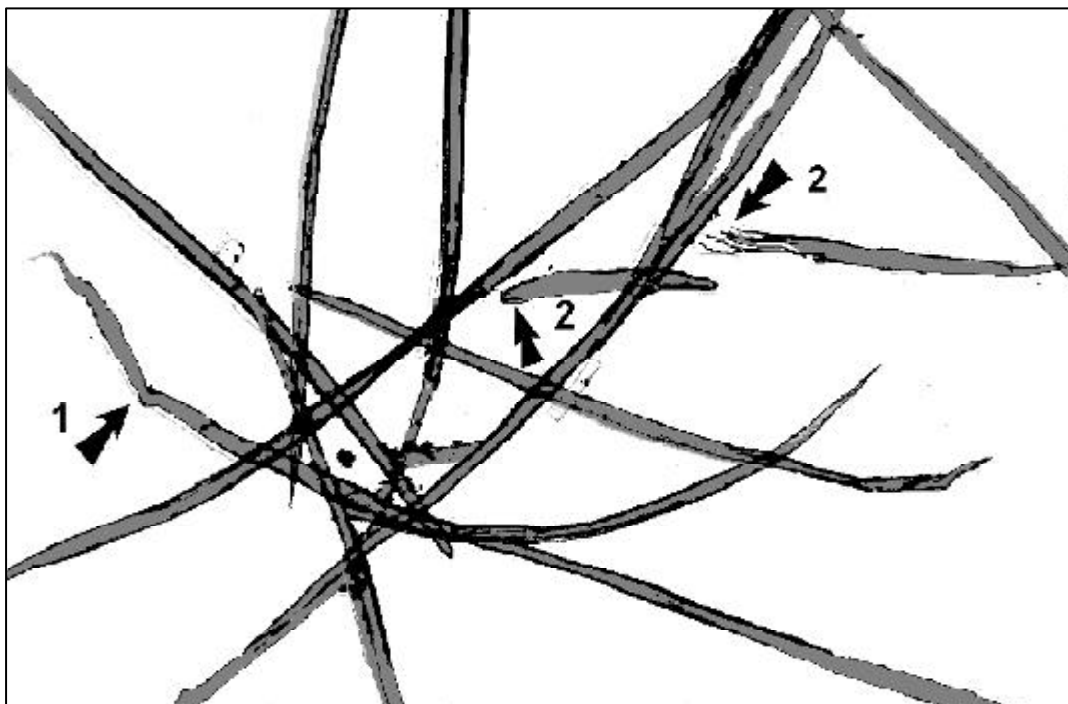


FIGURA 2: Fotografía representativa del estado de las fibras luego del desfibrado con clorito-ácido acético, sin tratamiento con carbonato. (La flecha que lleva el nº 1 indica zona dañada, y las que llevan el nº 2 fibras rotas)

analizando las energías de desfibrado de láminas de maderas, llegaron al resultado que un tratamiento alcalino luego del clorito disminuye considerablemente la energía de desfibrado, y que además los álcalis parecen ser 10 veces más efectivos que los ácidos para disminuir el grado de cohesión interfibrilar.

CONCLUSIONES

El método clorito - ácido acético - carbonato demostró en este trabajo dañar muy poco las fibras, dado que en ninguna de las maderas estudiadas el porcentual de fibras rotas fue mayor al 1%.

Corroborando lo dicho, en los disgregados se observó la integridad de los elementos celulares y la falta de paredes arrancadas o fibras con fracturas.

En condiciones semejantes, el método al clorito-ácido acético sin etapa de carbonato, produjo en los tejidos tratados una rotura de fibras alrededor de 10 veces superior.

Se halló, durante el trabajo experimental, que el método se puede mejorar modificando la forma y tiempo de los tratamientos.

REFERENCIAS

1. JAYME, G., *Cellulose Chem.* 85, 226 - 227. 1942.
2. LOVELL, E. L., *Ind. Eng. Chem* 37: 1034 - 1037. 1945.
3. WISE, L. E.; MURPHY, M.; D'ADDIECO, A. A., *Paper Trade J.* 122: 35 - 43. Enero 10. 1946.
4. SPEARING, W. E.; ISENBERG, I. H., *Science* 105 (2721): 214. 1947.
5. NÚÑEZ, C. E., *Proceedings 25^a Congreso Téc. Celulosa y Papel.* Buenos Aires, noviembre de 1989.
6. STEWART, C. M.; KOTTEK, J. F.; DADSWELL, H. E.; WATSON, A. J., *TAPPI* 44, 11, 798 - 813. 1961.