

Rev. Cienc. Tecnol.
Año 11 / N° 11 / 2009 / 20–25

DISTRIBUCIÓN RADIAL DE POLIFENOLES EN TRONCOS DE *Eucalyptus grandis*

Carlos E. Núñez

RADIAL DISTRIBUTION OF POLYPHENOLS IN THE STEMS OF *Eucalyptus grandis*

ABSTRACT

Polyphenols color pulps and may interfere in the pulping process. No research works on the distribution in *E. grandis* are known. The radial variation of polyphenol concentration in five *E. grandis* individuals aged 7 and 18 years old was measured. Azeotropic ethanol was used for the extraction of the wood reduced to shaving. Results are in accordance with the general pattern cited in the bibliography. In 7 year old trees, there were relatively more polyphenols in the sapwood than in those of 18. No significant differences were noticed in the UV absorption spectrograms among the rings of the 18 year-old trees. A different spectrogram in one aged 7 would indicate the existence of hybridation. The concentration of polyphenols around one of the knots was four times as high than in the wood of the same age.

KEY WORDS: *Eucalyptus grandis*, polyphenols, chemical composition, flavonoids, ellagic acid. (Thesaurus IPST 1990).

RESUMEN

Los polifenoles colorean las pulpas y pueden interferir en los procesos de pulpado. No se conocen trabajos sobre su distribución en *Eucalyptus grandis*. Se midió la variación radial de concentración de polifenoles en cinco individuos de *E. grandis* de 7 y 18 años de edad. Se utilizó etanol azeotrópico para la extracción de la madera reducida a virutas. Los resultados concuerdan con el patrón general citado en la bibliografía. En los árboles de 7 años hubo en proporción más polifenoles en la albura que en los de 18. No se notaron diferencias significativas en los espectrogramas de absorción UV entre los anillos de los árboles de 18 años. Un espectrograma diferente en uno de 7, indicaría la existencia de hibridación. La concentración de polifenoles alrededor de un nudo dio cuatro veces más alta que en la madera de la misma edad.

PALABRAS CLAVE: *Eucalyptus grandis*, composición química, polifenoles, distribución, flavonoides, elagitaninos.

INTRODUCCIÓN

El grupo de los polifenoles abarca a todas las sustancias extractivas monoméricas y oligoméricas de la madera que poseen en su estructura dos o más grupos fenólicos libres o eterificados por metilos. Se los suele dividir en tres grupos: lignanos, que poseen la estructura de fragmentos de lignina, flavonoides y elagitaninos. Tanto los flavonoides como los elagitaninos poseen propiedades tánicas, es decir coagulan las proteínas animales en solución.

Los flavonoides se encuentran como monómeros o en la forma denominada taninos condensados. Los elagitaninos también se llaman taninos hidrolizables pues se encuentran habitualmente como glucósidos. Las agliconas de los mismos son insolubles en casi todos los solventes comunes.

La mayoría de los polifenoles de la madera son coloreados. Los elagitaninos poseen colores claros preferentemente amarillos, y los taninos condensados rojos oscuros o marrones. Durante los procesos de pulpado estas sustancias se disuelven en gran proporción, pero no por completo. Lo que queda en las pulpas le confieren color [1]. El color

puede ser el propio o debido a complejos que forman con cationes metálicos, principalmente los de los elementos de transición.

La madera de *Eucalyptus* posee todos los grupos de polifenoles, variando entre especies su proporción relativa. A diferencia de algunas especies de madera color claro como el *E. globulus* y el *E. viminalis*, ricos en elagitaninos, los *Eucalyptus* del grupo del *grandis* se caracterizan por poseer gran proporción de taninos del tipo flavanoide [2] lo que le confiere su color rosado [3].

Los trabajos conocidos sobre la distribución radial de polifenoles en la madera, muestran un patrón consistente en un aumento paulatino desde el cambium hasta la interfase albura duramen y una posterior disminución hacia la médula, siendo esta última menor que la necesaria para llegar al bajo tenor del cambium, es decir que hay en general mayor contenido de polifenoles en el duramen [4, 5]. Los trabajos sobre distribución de polifenoles abarcan géneros como *Sequoia*, *Pseudotsuga*, *Tectona* y *Acacia*, habiendo un trabajo sobre árboles longevos de *Eucalyptus marginata* [6].

No se han hallado, por el contrario, estudios sobre la distribución radial de polifenoles en árboles de plantaciones comerciales de *Eucalyptus* en general y del *E. grandis* en particular, que se cultiva en todo el este de Sudamérica con fines madereros y de fibra.

En el presente trabajo se ha realizado el análisis de este tipo de distribución con el fin del conocimiento general de la madera de dicha especie, y de su posible utilidad en el uso tanto maderero como papelerero. Aunque abarca solamente su cuantificación y no la caracterización de las sustancias que los conforman, tarea que será realizada posteriormente, se hacen algunas consideraciones cualitativas a partir de los espectrogramas UV de los extractos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se trabajó con cinco individuos, tres de 18 y dos de 7 años de edad. Los árboles de 18 años fueron extraídos de plantaciones de *E. grandis* de la zona de Garruchos, (27° 27 min Sur; 56° 59 min Oeste). Los de 7 años fueron cortados de una plantación de las cercanías de la localidad de San Carlos, (27° 45 min Sur; 55° 54 min Oeste), ambos sitios en el norte de la provincia de Corrientes, República Argentina pertenecientes a la empresa Shell Forestal.

De esta última plantación se sabe que había recibido fertilización, desconociéndose sus características. El clima de la zona está definido como subtropical sin estación seca. El promedio anual de precipitaciones es de 1100 L/m². Los suelos son residuales del tipo lateríticos.

Las muestras fueron cortadas en toras de 30 cm de longitud y llevadas al laboratorio con corteza. Del centro de las mismas se cortaron rodajas de 1,5 cm de espesor que se descortezaron y guardaron en bolsas de polietileno en heladera hasta su fraccionamiento.

De cada una se cortó un sector circular de unos 60° sexagesimales de las cuales se separaron anillos concéntricos de forma manual. El material de estos anillos se fue cortando en escamas de no más de 0,3 mm de espesor. Cuando fue necesario estas escamas se cuartearon para sacar la cantidad necesaria para las extracciones subsiguientes. Las escamas se secaron al aire.

Métodos

Determinación de los anillos: Es sabido que el *Eucalyptus grandis*, como la mayoría de las especies del género, no posee anillos anuales definidos, aunque se notan diversas clases de anillos de crecimiento. El problema de su identificación no ha podido ser resuelto todavía ni aún utilizando los sistemas digitales de análisis de imágenes. [7]

Se realizó un extenso trabajo de búsqueda de métodos

para definir una manera de separar la madera año por año. En principio se pulieron sistemáticamente superficies transversales de los troncos, se sacaron fotografías con bajo aumento y se intentó hallar un patrón de crecimiento anual que no dio resultados confiables. Se hicieron después cortes al micrófono de largas secciones de madera que abarcaban varios años y se trató de hallar un patrón que defina los cambios anuales, ya sea por un cambio brusco del ancho y espesor de pared de las fibras o por un arreglo especial de la distribución de los vasos, de acuerdo a lo indicado por Dadswell [8]. Si bien se hallaron lugares en los cuales esto sucedía, los mismos abarcaban solamente un pequeño sector de la circunferencia, habiendo lugares con varios supuestos cambios anuales separados por milímetros, contiguos a otros en los que no aparecía ninguno.

Ante el interés en dividir los cortes transversales en sectores anulares para analizar el contenido de polifenoles a medida que el árbol crece en una plantación, y la negativa de hacerlo de manera lineal que no responde al patrón de crecimiento observado en cualquier árbol que crece en el medio de una masa forestada, se eligió utilizar una aproximación que consistió en los siguiente.

Se tomaron tres rodajas de árboles de 18 años o más de plantaciones comerciales de la misma zona fitogeográfica que la de los árboles a estudiar, y se sacaron los porcentuales anuales de crecimiento tomando como 100 % los 7 o 18 años, según el caso, y se promediaron. Las especies elegidas fueron *Pinus patula* y *Paraíso (Melia azederach)*, que poseen marcación definida de los anillos anuales. El resultado fue una tabla donde se indica el porcentual del radio de la rodaja que representa cada año. Por lo tanto el término ‘anillo’ que se utiliza en el cuerpo del trabajo no debe entenderse como ‘anillo anual’ sino de una manera aproximada, y se les llamará ‘anillos teóricos’.

Separación de polifenoles: se eligió estimar el contenido de polifenoles utilizando una simple extracción con etanol azeotrópico. Es sabido que las extracciones con los solventes utilizados en análisis de extractivos, como agua, acetona –agua y etanol– benceno no son específicos de los polifenoles. El agua extrae los polifenoles que se hallan como glucósidos pero no los taninos condensados, el alcohol–benceno parte de los flavonoides pero no los glucósidos, y las mezclas acetona agua extraen todos los polifenoles además de la mayoría de los otros extractivos. El etanol azeotrópico extrae tanto los glucósidos como los taninos condensados, aunque posiblemente también las grasas.

En un ensayo previo se extrajeron virutas de la madera en estudio con etanol en equipo soxhlet y se efectuó su caracterización por medio de espectroscopía UV. El espectrograma estaba conformado por las bandas de absorción de los polifenoles. El extracto secado bajo vacío fue luego tratado con ácido sulfúrico al 3 % a reflujo. El espectrograma del producto dio un escaso aumento de la banda de absorción de 280 nm, correspondiente a los furfúrales,

que se consideró debida a la hidrólisis de los glucósidos y no a azúcares libres. La disolución acuosa del extracto sin tratamiento no dio la reacción del almidón. La extracción con éter no dio, por otro lado, resultados positivos que indicaran disolución de ácidos y ésteres grasos

Se consideró, entonces, que si bien no había certeza completa acerca de la reacción biunívoca: extractivos en etanol : contenido de polifenoles, esta determinación podía considerarse una estimación aceptable del contenido de dichas sustancias en la madera en estudio.

Extracción: se utilizó en general la norma TAPPI T204 cm-97. Se modificó el tiempo de extracción, dado que el estado de agregación del material era distinto. Para determinar el tiempo adecuado se efectuaron extracciones de ensayo tomado cada hora muestras del alcohol del portacartuchos antes del sifonado y a los mismos se le realizó el espectrograma UV. Para determinar el contenido de polifenoles en estas extracciones, se preparó un extracto que fue lavado con éter, secado, redisoluto en etanol y vuelto a secar bajo vacío. Al mismo se le midió la absorbividad en el máximo de la banda lejana a 208 nm. En las condiciones utilizadas el valor de absorbividad obtenido fue de 75 L/g. cm.

Las determinaciones sucesivas demostraron que la extracción iba disminuyendo hasta la séptima hora, en la que la masa extraída correspondía aproximadamente al 2 % de lo extraído en el tiempo anterior. Una muestra sacada a las 10 horas dio un espectrograma diferente, Figura N° 1, en la que la banda cercana fue más pronunciada y se observa un solapamiento de picos en la banda lejana del espectro. Este hecho fue considerado como separación de sustancias distintas a los polifenoles debida al tiempo excesivo de tratamiento. Por lo tanto se decidió utilizar un tiempo de extracción de 8 horas para las determinaciones.

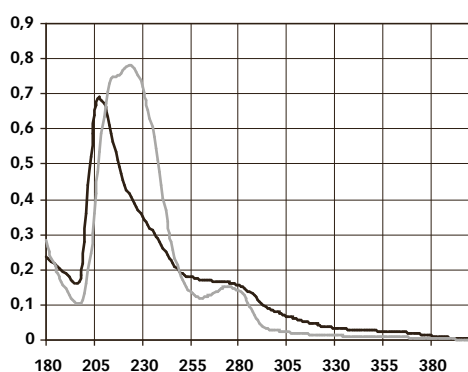


FIGURA 1. Espectrogramas del extracto etanólico. Negro a las siete horas de extracción. Gris a las 10 horas de extracción.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla N° 1 se hallan los valores determinados de polifenoles, a través del extracto alcohólico, para los cinco árboles de *Eucalyptus grandis* estudiados. Los árboles

están nombrados por su edad y su número correlativo. Los promedios que figuran al pie fueron ponderados de acuerdo al volumen relativo de cada anillo. Se puede ver que los árboles de 18 años dieron de manera global menos extractivos que los de 7. En la observación de los cortes se notó que los primeros tenían el duramen mucho más marrón rojizo que los segundos que eran más pálidos y tendiendo al amarillo.

Tabla 1. Contenido de polifenoles (extracto etanólico) por anillo teórico para los cinco árboles de *Eucalyptus grandis* estudiados.

N° anillo	18-1	18-2	18-3	7-1	7-21
1	1,9	1,04	1,13	2,64	2,51
2	1,67	1,01	1,58	2,67	2,75
3	1,72	1,07	1,68	2,37	1,93
4	1,70	1,15	1,53	3,08	2,92
5	1,66	1,17	1,44	3,59	2,97
6	1,79	1,30	1,40	1,85	1,61
7	1,19	1,14	1,43	1,25	0,71
8	1,64	1,39	1,48		
9	1,28	1,21	1,27		
10	1,56	1,71	0,94		
11	1,69	2,19	1,49		
12	2,11	2,89	1,55		
13	1,77	2,85	1,51		
14	2,29	2,16	1,50		
15	2,34	1,57	3,79		
16	3,28	1,62	0,61		
17	2,34	0,96	0,61		
18	1,25	1,06	0,59		
Prom. pond.	1,84	1,63	1,39	2,47	2,26

En este caso la idea subjetiva de que el color más fuerte indica más contenido de extractivos, no fue cierta. Evidentemente, entonces, debiera existir diferencia en la composición de los polifenoles, hecho del que se va a poder dar una idea posteriormente al analizar los espectrogramas.

El perfil de variación se encuentra dentro de lo supuesto, es decir: 1) hay en todos los casos un marcado ascenso del contenido de polifenoles en la interfase albura-duramen, 2) en general los valores promedios de la albura son menores que los del duramen, Figuras 2 a 7.

Por otro lado, dentro del esquema antedicho hay diferentes variaciones entre los individuos. Por ejemplo el máximo de la interfase a veces es estrecho y otras ancho y el perfil dentro del duramen en un caso es aproximadamente constante y en otro posee amplias variaciones.

Una idea sobre la forma general de distribución se puede ver en la Figura N° 5 en la que se ha sacado el promedio de los tres árboles de 18 años. En el mismo se han superpuesto los anillos que poseían el máximo de polifenoles puesto que no fue el mismo en todos los casos, promediando solamente los anillos que tenían dos o tres valores.

En la misma se puede observar, sin dejar de tener en cuenta la poca representatividad del estudio, que el contenido de polifenoles tiende a aumentar lentamente desde la médula hasta la interfase, el anillo en la que se encuentra posee un 75 % más, y luego los valores bajan bruscamente en los anillos de la albura, siendo en la zona cambial menor que en la médula.

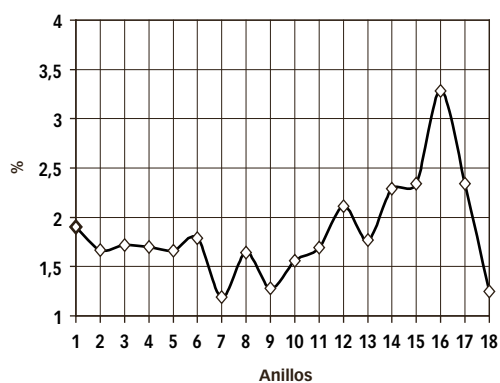


FIGURA 2. Distribución radial de concentración de polifenoles del árbol 18-1.

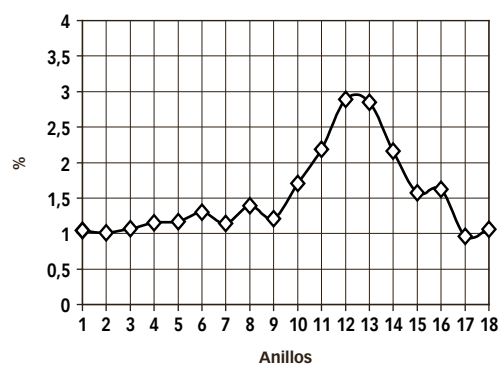


FIGURA 3. Distribución radial de concentración de polifenoles del árbol 18-2.

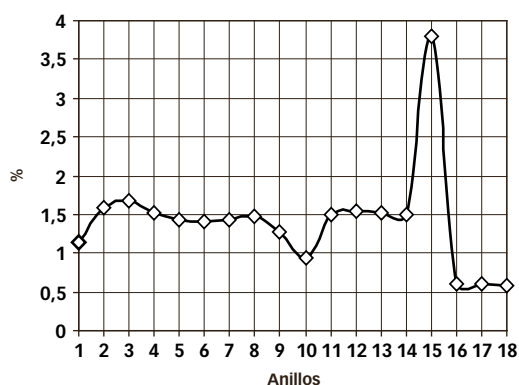


FIGURA 4. Distribución radial de concentración de polifenoles del árbol 18-3.

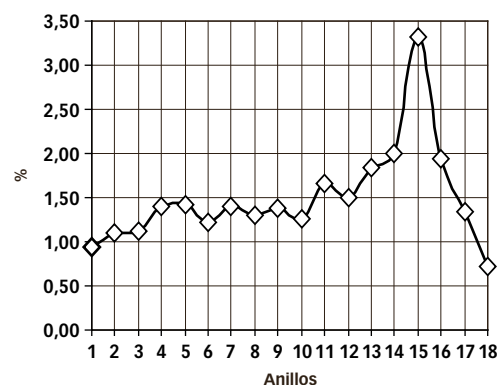


FIGURA 5. Promedio árboles de 18 años, superponiendo los máximos.

La zona de alto contenido de polifenoles de la interfase albura-duramen existe, obviamente, en todos los árboles y debiera irse corriendo a medida que crece el duramen. Éste hecho se corrobora en este caso en los árboles de siete años, Figuras N° 6 y 7, puesto que en los mismos el pico de polifenoles se halla entre el cuarto y quinto anillo, mientras que en los de 18 años se ubica entre el decimotercero y el decimosexto.

Las curvas de los árboles de 7 años son distintas a los de 18 en el hecho de que no hay una diferencia tan marcada entre el promedio del duramen y el pico de la interfase. Esto puede deberse a la edad o a variaciones propias de los distintos orígenes de las plantaciones, de orden genético o cultural.

Se realizaron los espectrogramas ultravioletas de los extractos de los anillos de los árboles estudiados. En los individuos de 18 años se observaron formas similares de ellos a lo largo del perfil radial. En las Figuras N° 8 y 9 se muestra un ejemplo representativo de lo antedicho.

Aunque hay algunas diferencias, ellas son menores. Existen tres bandas de absorción, dos notorias a 210 nm y 275 nm, u otra pequeña, solapada, en 230 nm. Estas bandas son típicas de los lignanos y los taninos flavonoides, como en el caso del ácido tánico que se puede ver en la Figura N° 11. Obsérvese, además, que el espectro del anillo corresponde al duramen y el del N° 17 a la albura. Ello indica que tampoco existen marcadas diferencias en el tipo de polifenoles de ambas zonas fisiológicamente diferentes.

Sucede lo contrario en el caso del árbol 7-1, aunque no en el de su misma edad y origen. En este caso se pudo observar una diferencia de composición entre el centro de la rodaja y el resto. Los dos primeros anillos presentaron un espectrograma más complejo en el que se pudieron discernir algunos caracteres del espectro del ácido elágico o de los elagitaninos, Figura N° 10.

Se puede ver que el espectro del extracto posee dos máximos que no aparecieron en los espectrogramas anteriores; un pico a 245 nm y una banda a 375 nm, y analizar como los mismos corresponden al espectrograma del ácido elágico dibujado en línea gris. Es decir que se infiere que en las sustancias extraídas hay de los dos tipos, es decir flavonoides y elagitaninos. La forma de un espectrograma normal de mezcla de los flavonoides se puede observar en la Figura N° 11, en forma de ácido tánico.

La existencia de este tipo de espectrograma en el *Eucalyptus grandis* no ha sido observada anteriormente. Su existencia se suma a otras anomalías de los árboles de 7 años como las características organolépticas de este ejemplar que como ya se dijera, tenía coloración amarillenta y no rosado-rojizo como es habitual en el duramen de la especie, además de una distribución de poros en bandas concéntricas, que tampoco es corriente en los cortes transversales.

Por lo expuesto es posible que se hayan trabajado con árboles que no son puros sino hibridizados con alguna otra especie de *Eucalyptus* distinto al grupo del *E. grandis*.

Se puede hacer otra observación al margen del objetivo

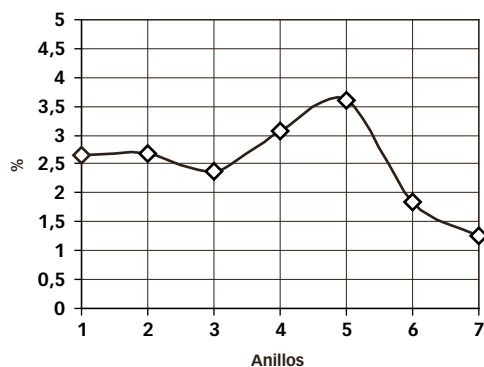


FIGURA 6. Distribución radial de polifenoles del árbol 7-1.

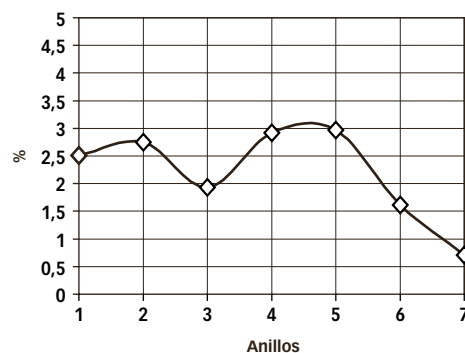


FIGURA 7. Distribución radial de polifenoles del árbol 7-2.

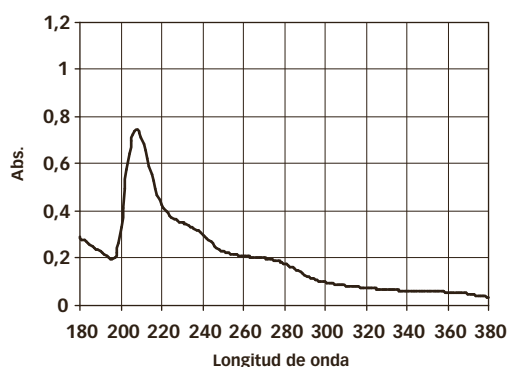


FIGURA 8. Espectrograma UV del anillo teórico N° 2 del árbol 18-2.

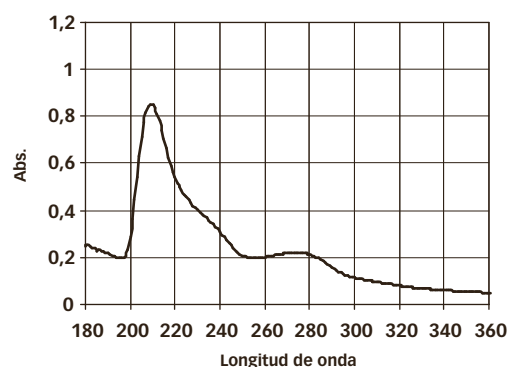


FIGURA 9. Espectrograma UV del anillo teórico N° 17 del árbol 18-2.

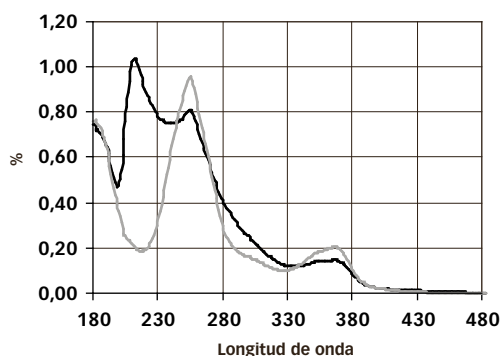


FIGURA 10. Espectrogramas UV del anillo N° 1 del árbol 7-1 (línea negra) y del ácido elágico (línea gris).

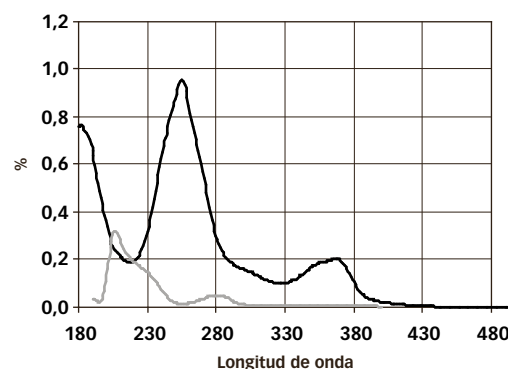


FIGURA 11. Espectrogramas UV del ácido elágico (línea negra) y del ácido tánico (línea gris).

principal del trabajo. Durante el cortado de los anillos teóricos se encontró en el anillo N° 4 del árbol 7-2, un nudo incluido en la madera con una zona circundante de color pardo rojiza embebida de quino. Si bien para el trabajo principal se eliminó este sector, el nudo fue analizado de manera similar de forma separada, para estimar el aumento de extractivos debido a este tipo de estructuras vegetales.

Se determinó que el extracto en etanol fue de 13,6 % contra 2,92 % de la madera normal del mismo anillo, es decir aproximadamente cuatro veces más. El espectrograma del extracto de la zona del nudo, Figura N° 12, dio una figura prácticamente igual al de la madera normal del mismo anillo.

Este hecho confirma la composición rica en flavonoides

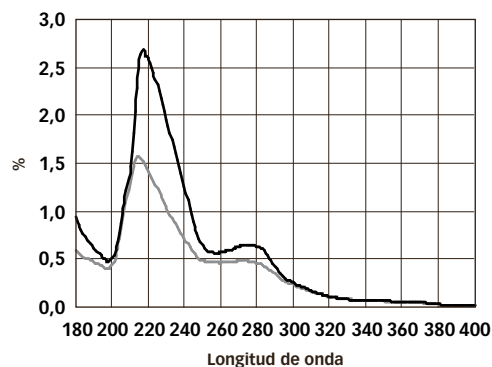


FIGURA 12. Espectrograma del nudo del anillo N° 4 del árbol 7-2 (línea negra) y de la madera normal del mismo anillo (línea gris).

de los polifenoles de *E. grandis*, puesto que el quino está compuesto principalmente de un grupo de estas sustancias como son las antocianidinas.

CONCLUSIONES

La distribución radial de polifenoles en los cinco árboles de *Eucalyptus grandis* estudiados sigue un patrón similar al de las especies consignadas en la bibliografía.

Dicho patrón consiste en una cantidad que aumenta paulatinamente de la médula hasta la interfase albura-duramen, en la zona de interfase es mucho mayor y disminuye bruscamente en la albura siendo mínima en la zona cambial.

Los espectrogramas UV de cuatro de los cinco árboles estudiados tienen pocas diferencia a lo largo del perfil radial, es decir se observan las bandas características de los flavonoides.

En un árbol se observó en la región de la médula la presencia de otro tipo de polifenoles, que el espectrograma asemeja al ácido elágico o elagitaninos. Este árbol, y en menor medida el otro individuo de 7 años, poseían otras características poco usuales en el *Eucalyptus grandis* por lo que se cree que podrían estar hibridizados.

Se determinó que el contenido de polifenoles en la zona que rodea a un nudo embebido de quino, tenía cuatro veces más polifenoles que la madera normal de la misma edad.

AGRADECIMIENTOS

A las empresas Shell Forestal de Argentina y La Pape-lera del Plata por la cesión y corte de las muestras.

Al Dr. Alberto Venica, Buenos Aires, Argentina por el auxilio en la consecución de patrones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Fengel, D.; Wegener G.** "Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions". Walter de Gruyter. p. 210. 1984.
2. **Hillis, W. E.** *Properties of Eucalypt Woods of Importance to the Pulp and Paper Industry*. APPITA Vol. 26 N° 2, p. 113.
3. **Hillis, W. E.** *Wood Extractives and their Significance to the Pulp and Paper Industries*. Academic Press. p. 61. 1962.
4. **Hillis, W. E.** *Properties of Eucalypt Woods of Importance to the Pulp and Paper Industry*. APPITA Vol. 26 N° 2, p. 113. 1972.
5. **Sjöström, E.** *Wood Chemistry. Fundamentals and Applications*. Academic Press. p. 91. 1993.
6. **Hillis, W. E.** Australian J. Biol. Sci. Vol. 9, p. 263. 1956.

7. **Wilson, L.; Hudson, I.; Van Veberen, K.** *Vessel Distribution at two percentage heights from pith to bark in a seven year old Eucalyptus globulus tree*. Appita Journal Vol. 30 N° 6. p. 496.

8. **Dadswell, H. E.** *The Anatomy of Eucalyptus Woods*. Forest Products Laboratory. Commonwealth Scientific and Industrial Organization. Australia. 1972.

Recibido: 07/12/06.

Aprobado: 18/11/08.

• Carlos Eduardo Núñez

Docente investigador del Programa de Investigación de Celulosa y Papel de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la UNaM. Técnico Químico del Instituto Politécnico Rosario de la FCEFyN de la Universidad Nacional de Rosario. Director de Proyectos de investigación. Ha realizado unos cuarenta trabajos de investigación y formado cerca de veinte estudiantes a término y profesionales. Ha realizado unos treinta y cinco textos de docencia.

PROCYP. Programa de Investigación de Celulosa y Papel. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. (c_e_nunez@fceqyn.unam.edu.ar).