

Interferencias analíticas asociadas al estudio de la distribución de pesos moleculares en fase orgánica de desechos lignicos del pulpado de papel

Fredy Ysambertt¹, Roberto Bauza¹, Orlando Rojas², Neliana Berrio¹, Nelson Márquez¹ y Jean L. Salager²

¹Laboratorio de Petroquímica y Surfactantes (LPS), Departamento de Química, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Apdo. 526, Maracaibo, Venezuela. E-mail: ysambertt@yahoo.com.

²Laboratorio FIRP, Escuela de Ingeniería Química, Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela

Resumen

Se describe un estudio de las interferencias presentes en el análisis de la distribución de pesos moleculares (DPM) de ligninas alcalinas de bagazo de caña, utilizando la cromatografía de exclusión por tamaño de alta resolución (HPSEC) en fase orgánica. Las muestras de ligninas empleadas provienen de la digestión alcalina del bagazo de caña y de ligninas comerciales. Los análisis se realizaron en columnas Zorbax PSM de 60S, 300S y 1000S, con DMSO como fase móvil y detección UV. Se estudió además la influencia de asociaciones moleculares, y la presencia de picos "fantasmas" a elevados pesos moleculares, con la adición de sales de litio en la fase móvil.

Palabras clave: Distribución de pesos moleculares, lignina, licor negro, industria papelera, HPSEC.

Analytical interferences associated with the study of molecular weight distribution in organic phases of lignic wastes from paper pulp

Abstract

A feasibility study to analyze the molecular distribution of alkaline lignins in sugar cane baggasse is described. The developed method is based on the High Performance Size Exclusion Chromatography (HPSEC) technique. Lignin samples come from the digestion of sugar cane baggasse, which results from the alkali process of paper pulping and commercial lignin Indulin. The analysis were made with Zorbax PSM columns of 60S, 300S and 1000S with DMSO as the mobile phase and UV detection. The influence of molecular associations, and the presence of "ghost" peaks in the high molecular weights zone, with the addition of lithium salts in the mobile phase, were also studied.

Key words: Molecular weight distribution, lignin, "black liquor", paper industry, HPSEC.

Recibido: 15-03-2004 / Aceptado: 30-04-2004

Introducción

La lignina es un polímero vegetal irregular del grupo 4-hidroxi-4-metoxi-fenil-propano la cual junto con la celulosa y hemicelulosa componen las paredes celulares de las plantas (Sjöström y Alén, 1999). Esta es obtenida como subproducto en la industria papelera en un material de desecho denominado licor negro, el cual proviene de la separación de la

lignina soluble de los compuestos sólidos fibrosos y ricos en celulosa, mediante la formación de derivados solubles en agua o en soluciones alcalinas. Estos desechos representan una fuente inagotable de materiales lignicos de gran utilidad en la industria como precursores para la obtención de óleos, fenol, ácido acético, vainillina, resinas fenol-formaldehído, surfactantes, entre otros (Olson, 2001; Schuachardt y Ribeiro, 2001). Cerca del 70-90% del contenido de lignina original en la madera está disuelta en este licor (Sjöström, 1993; Marton, 1971; Mbachu y John, 1981). La lignina es recuperada de esta matriz a través de la precipitación ácida utilizando CO_2 , HCl o H_2SO_4 . La precipitación con ácido proporciona rendimientos cerca del 90% del material inicial (Marchessault *et al.* 1982), por lo que es comúnmente empleada para obtener toda la distribución de lignina polimérica en el licor negro.

La estructura de la lignina ha sido discutida extensamente por Sarkanen (Shotton *et al.*, 1972) y Sakakibara (Sjöström, 1993), la cual alcanza pesos moleculares en el rango de 5000 a 10000 Daltons. Entre los métodos más usados para determinar peso molecular (MW) y la distribución de pesos moleculares (MWD), se encuentra la HPSEC en fase acuosa principalmente con NaOH 0,1 N como fase móvil. Esto se debe a las características propias de la técnica, ya que proporciona, por lo general, una manera rápida y reproducible de obtener pesos moleculares relativos.

Los primeros intentos por separar fracciones por SEC fueron reportados por McNaughton *et al.* (1967). Los métodos cromatográficos iniciales en lignina se desarrollaron en los antiguos empaques de geles orgánicos blandos y semi-rígidos. La mayoría de los trabajos publicados en SEC de ligninas se han llevado a cabo en geles de dextranos entrecruzados, tales como: Sephadex y Sephacryl (polisacáridos hidroxipropilados entrecruzados) (McNaughton *et al.*, 1967; Himmel *et al.*, 1983; 1989; 1990) utilizando diversas fases móviles tales como agua, soluciones reguladoras acuosas, soluciones alcalinas de hidróxido de sodio, mezclas de agua/dioxano, y DMSO/agua, DMF, THF, entre otras (Ken *et al.*, 1996; Bikova *et al.*, 2000; Araujo *et al.*, 2002; Kadla y Chang, 2002; Majcherczyk y Hüttermann, 1997; Sun *et al.*, 2000; Srebotnik y Hammel, 2000). Sin embargo, el principal problema cuando se utilizan fases móviles orgánicas como THF o DMF es la poca o nula solubilidad de ciertas fracciones lignicas en estos solventes.

Las complejas moléculas de lignina presentan propiedades que pueden alterar el comportamiento cromatográfico, dando resultados inciertos. Dubin (1988) ha señalado que todas las fases estacionarias en SEC acuoso, virtualmente llevan cargas negativas bajo condiciones típicas de uso, generando de tal manera interacciones electrostáticas con el soluto. Las ligninas solubles en medio alcalino, exhiben grupos ionizables en la superficie polimérica. Si no se toma en cuenta esta propiedad para controlarla ya sea eliminándola o minimizándola, podría conducir a interacciones iónicas, expansión del gel y efectos de adsorción en matrices tales como, dextrano, agarosa y sílica gel. Como consecuencia se obtendrá exclusión de moléculas o retención y llevará a una imprecisa estimación de pesos moleculares. De esta manera ha de conocerse las limitaciones de pH de los empaques y su constitución química. Otro tipo de interferencias en la determinación de MW y MWD de lignina es la relacionada a complejos asociados en forma intermolecular.

Existe en la literatura una diversidad de trabajos publicados referentes a la asociación molecular de ligninas Kraft, la mayor parte de estos basados en resultados obtenidos del estudio de MW y MWD. Owusu *et al.* (1992), por ejemplo, sugirieron que este tipo de enlace era responsable de los cambios de difusión y viscosidad de las ligninas Kraft. Algunos autores (Mbachu y John, 1981) han señalado que los enlaces de hidrógeno intramolecular son formados entre los grupos fenólicos y ésteres. No obstante, los mecanismos todavía son inciertos y el problema no es nada trivial.

Marchessault *et al.* (1982) reportaron el efecto del tipo de solvente en la asociación

molecular como un tipo de enlace. Ellos demostraron que la MWD con solventes orgánicos era multimodal, extendiéndose a altos pesos moleculares y formando complejos tres veces más altos que las fracciones individuales. Por otro lado, los cromatogramas obtenidos en solución acuosa tienden a ser amplios con más detalle, en la región de bajos pesos moleculares, observándose en las muestras reinyectadas al cabo de un tiempo, aumentos de pesos moleculares. Se ha sugerido que la asociación ocurre en dos pasos mientras que se da un equilibrio rápido entre los complejos asociados y los componentes disociados existentes. Estos autores descubrieron que la adición de LiCl o LiBr a la fase móvil afectaba el pico de un comportamiento bimodal a unimodal. Marchessault *et al.* (1982) han sugerido que las sales protegen al dipolo de las moléculas previniendo la asociación.

En este trabajo se presentan los resultados de un estudio sobre la determinación de pesos moleculares de ligninas por HPSEC, sus interferencias y las condiciones instrumentales que afectan la determinación analítica de los mismos en fase orgánica, tratando de evitar o minimizar las posibles interacciones electrostáticas que conduzcan a resultados erróneos.

2. Materiales y Métodos

La distribución de pesos moleculares de las distintas ligninas se llevó a cabo en un cromatógrafo para fase líquida de alta resolución Varian, constituido por un inyector manual de volumen fijo (10 μ L) y un detector modelo 584 de longitud de onda variable. La elección de la longitud de onda para el análisis se realizó con un espectrofotómetro UV-Visible Perkin-Elmer, modelo Lambda 3-B acoplado a un PC Epson Equity III +. Los estudios cromatográficos se llevaron a cabo en columnas Zorbax (HPSEC) PSM 60, PSM 300 y PSM 1 000 (Du Pont Company) de 6,2 mm ID x 25 cm (empaque de sílice microesfera porosa de 5 μ m). Los cromatogramas se obtuvieron con un módulo de datos Waters modelo 745B.

Para las pruebas de solubilidades se emplearon los siguientes reactivos grado p.a.: acetona (Merck), etanol (Merck) metanol (JT Baker) Dioxano (Riedel De Haen), Dimetilsulfóxido (DMSO) (Merck), cloroformo (JT Baker), tetrahidrofurano (THF) (JT Baker), benceno (Analar).

Para el análisis se empleó licor negro proveniente de la digestión en el laboratorio del bagazo de caña con hidróxido de sodio (muestras donadas por el laboratorio de Formulación, Interfaces, Reología y procesos, FIRP, Mérida-Venezuela). Esta muestra se emplea bajo la denominación de Lignina Purificada. La misma fue recolectada en la planta de pulpa y papel VENEPAL (Morón-Venezuela) procedente del centro azucarero "Matilde" con las siguientes características fisicoquímicas: sólidos totales = 5,18%, sólidos disueltos = 4,88%, pH = 12,35 y densidad = 1,021 g/cc. Se obtuvieron "ligninas recuperadas" de este licor mediante acidificación del licor a pH 2, 5 y 8. Adicionalmente, se estudiaron ligninas de uso industrial tales como: ligninas Kraft de pino (indulinC), amino-lignina (Indulin W-1) y lignina de pino Kraft (Indulin AT), todas de la Westvaco, Chemical Division, North Charleston, S.C. 29406, USA. Esta última (Indulin AT) se tomó como estándar de banda ancha para ajustar la calibración de las columnas, la cual se realizó con patrones de poliestireno como se explica en el procedimiento experimental. Por otro lado, se inyectó alquilbenceno lineal (Mw = 235,05 daltons) (Monsanto Industrial Chemicals Co. St. Louis Missouri 63166, USA).

Se escogieron las fases estacionarias Zorbax PSM debido a su compatibilidad en DMSO. Se instaló inicialmente una columna de 60 Å, inyectando 10 μ L de lignina a diferentes concentraciones: 0,01%, 0,1%, 0,15%, para evaluar la sensibilidad del detector a 280 nm con 0,1 AUFS. Posteriormente, se estudiaron acoplamientos de columnas de amplio rango

con las columnas de 60 PSM y 1 000 PSM. Finalmente, se evaluó el fraccionamiento con rangos de menor amplitud con el acoplamiento de 60-300 PSM.

Todos los acoplamientos de columnas se calibraron con estándares de poliestireno (PS) en tetrahidrofurano (THF) como fase móvil, para tener una curva relativa en la calibración HPSEC. Posteriormente, esta curva se ajustó con los valores de pesos moleculares de la muestra Indulin AT (ampliamente analizada en estudios previos en fase acuosa (González, 1998)) al utilizar la fase móvil DMSO. Con el sistema cromatográfico ya calibrado, se procedió luego a evaluar la distribución de pesos moleculares de las ligninas obtenidas del bagazo de caña preparadas en DMSO al 0,01% p/v, inyectándose 10 μ L de estas soluciones.

Se estudió también la influencia de sales de litio en la fase móvil con el acoplamiento de columnas optimizado, agregándose concentraciones de litio desde 0,1% hasta 0,6% p/v en DMSO y se evaluaron los efectos en las distribuciones de tamaño molecular.

3. Resultados y Discusión

Calibración de columnas

Algunos autores (Kogel y Bochter, 1985; Sjöström, 1999) han reportado pesos de ligninas menores de 10 000 MW, siguiendo estos antecedentes, se escogió para el inicio del estudio una columna con tamaños de poros y rango de fraccionamiento pequeño (< 10 000 Å). En la Figura 1 (cromatograma A) se observa una distribución de pesos moleculares de ligninas en columnas HPSEC de 60 PSM. Una calibración relativa de PS en THF muestra que la fracción de alto peso molecular se sitúa en la zona de exclusión molecular del empaque, alrededor de 10 000 daltons, obsérvese un comportamiento bimodal.

La bimodalidad que presentan estas matrices sugieren que un proceso degradativo, totalmente aleatorio como es la delignificación, puede fraccionar la estructura tridimensional de la lignina, en una forma selectiva y hasta secuencial. Es decir, fragmentos de alto peso molecular se producen inicialmente con posterior formación de pequeñas fracciones monoméricas. Al final del proceso se obtendrían fracciones de alto y bajo peso molecular. Sin embargo, una distribución molecular como la antes señalada, es posible que se produjera en el proceso del pulpado y no se presente como producto final. Por ejemplo, Forss *et al.* (1976) reportaron distribuciones bimodales estudiando los cambios en tamaño molecular que presentaban las ligninas de pino cuando fueron sometidas al proceso Kraft. En sus resultados se observaron cambios bimodales a unimodales en las curvas, a medida que transcurría el tiempo de cocción. En este caso la bimodalidad surge debido a un proceso dinámico que está ocurriendo y no como un resultado final luego de la cocción.

Estas observaciones indican la necesidad de verificar la autenticidad del pico de alto tamaño molecular que aparecía en las distribuciones iniciales con empaque de 60 PMS. Para ello fue necesario ampliar el rango de fraccionamiento a través del acoplamiento de otro empaque de mayor tamaño de poro. Se eligió una columna Zorbax PMS 1 000 para abarcar un rango hasta 10^6 MW, suficiente para incluir cualquier distribución de amplio rango en tamaño molecular, con la misma fase móvil y flujo anterior. Los resultados se muestran en la misma Figura 1 (cromatograma B). La distribución se desplazó hacia la zona de bajo tamaño molecular. Obsérvese también la fracción aguda a bajo tamaño molecular muy cerca de la zona de exclusión, señalada por el pico del benceno (Figura 1, cromatograma C), la cual es típica para todas las muestras de ligninas, tanto de laboratorio (purificada) como comerciales.

La disposición de un empaque con mayor tamaño de poros permite a las moléculas permear con mayor selectividad, desapareciendo la exclusión total de fracciones de alto tamaño molecular y en consecuencia su pico. No obstante, tal disposición no indica si existe o no posibles asociaciones intermoleculares de estas macromoléculas, ya sea con el solvente de la fase móvil (a pesar de su característica aprótica) o entre ellas mismas.

El set de columnas de 60 – 1 000 PSM fue cambiado a uno de 60 – 300 PSM con el objeto de reducir la posibilidad de permear moléculas asociadas de alto tamaño molecular. Un acoplamiento con una columna de 300 PSM sitúa el rango de fraccionamiento hasta 10^5 daltons, es decir una década menos que el anterior set. En la Figura 2 se observa la comparación de las curvas de calibración para ambos set, nótese la disminución del límite de exclusión en el set de 60 – 300 PSM.

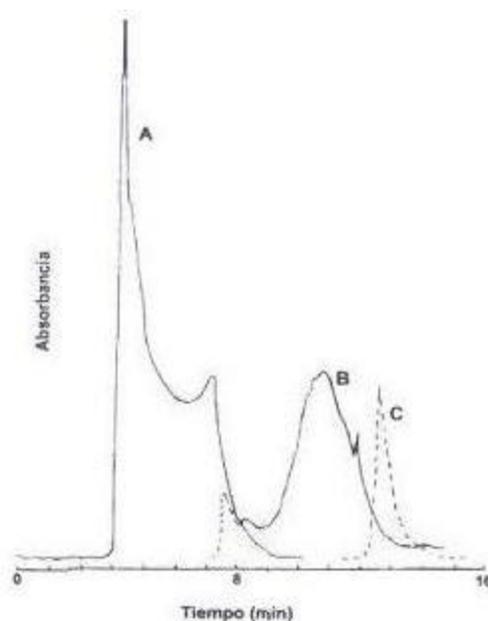


Figura 1. Cromatogramas HPSEC de lignina AT (A y B) y Benzeno (C). Condiciones cromatográficas: Fase móvil DMSO, flujo 1 mL/min, detección a 280nm. Viny. 10 μ L de lignina al 0,01 % p/v en DMSO.

Los resultados demuestran que el rango de fraccionamiento para este set fue el más adecuado. La calibración se realizó con estándares de poliestireno (PS) en THF, dada la insolubilidad que presentan estos en DMSO. La curva derivada, posteriormente se ajustó en DMSO como fase móvil con una muestra de lignina de pino (INDULIN C), suficientemente caracterizada por el grupo de investigación del laboratorio FIRP (González, 1998).

Determinación del MWD de ligninas e interferencias en el análisis

Luego de la calibración se procedió a estudiar la influencia del LiBr. Existen antecedentes (Goycoolea *et al.*, 1986; Jansekar *et al.*, 1981; Ribbons, 1987; Sarkanen *et al.*, 1981) como para inferir que la bimodalidad observada sea atribuida a asociaciones moleculares. Mbachu *et al.* (1981) reportaron que se podía eliminar estas asociaciones aumentando el tamaño de poro del empaque, es decir, la situación planteada en este trabajo. Sin embargo existe un error de interpretación en tal afirmación ya que dicho cambio oculta la asociación, más no la elimina. Se deben considerar otros factores, ya no de índole

mecánico, como el empaque, sino más bien de carácter químico. Una de las primeras investigaciones al respecto fue reportada por Connors *et al.* (1980). Sus resultados indicaron que la adición de sales de litio y bajas concentraciones de lignina podían disminuir las asociaciones en fase orgánica, por lo que se consideró estudiar la influencia de este tipo de sales en la distribución de tamaño molecular de las ligninas.

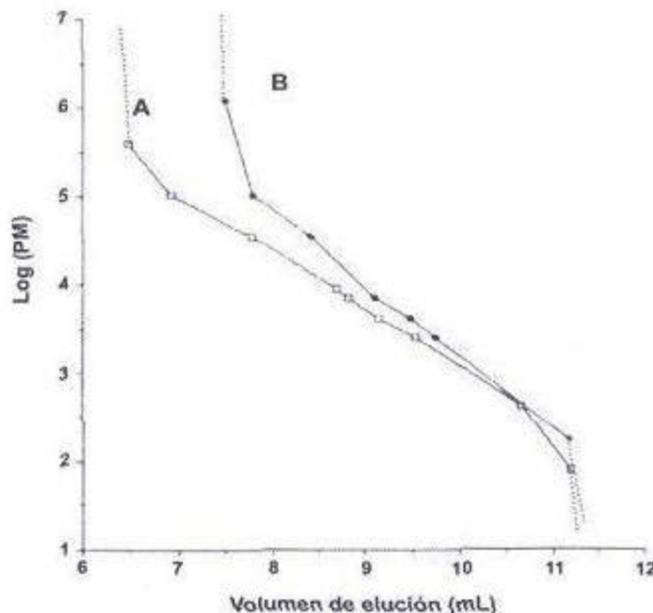


Figura 2. Curvas de Calibración para Set de Columnas evaluadas (A) Acoplamiento 60 – 1000 PSM, (B) Acoplamiento 60 – 300 PSM. Condiciones Cromatográficas: fase móvil THF, flujo 1 mL/min, longitud de onda 254nm, 0,1 AUF, Viny. 10 μ L, muestras patrones de Poliestireno.

En la Figura 3 se muestran los resultados obtenidos al agregar diferentes concentraciones de LiBr en la fase móvil de DMSO, utilizando un set de 60 – 300 PSM. En el cromatograma A se aprecia nuevamente la bimodalidad observada en la columna de 60 PSM, la cual había desaparecido con el acoplamiento de columnas 60 - 1 000 PSM (Fig. 1B). Esto indica que este acoplamiento es adecuado porque aumenta el límite de exclusión sin permitir la permeación total de grandes tamaños moleculares, de tal forma que se puede observar cualquier modificación que ocurra en las asociaciones. Efectivamente, la adición de LiBr minimiza la asociación y desplaza la distribución a zonas de permeación selectiva. La concentración de LiBr se optimizó a través de los cambios observados en la distribución molecular de la lignina y se obtuvo que a concentraciones de LiBr mayores de 0,01% no existe alteración alguna en la distribución.

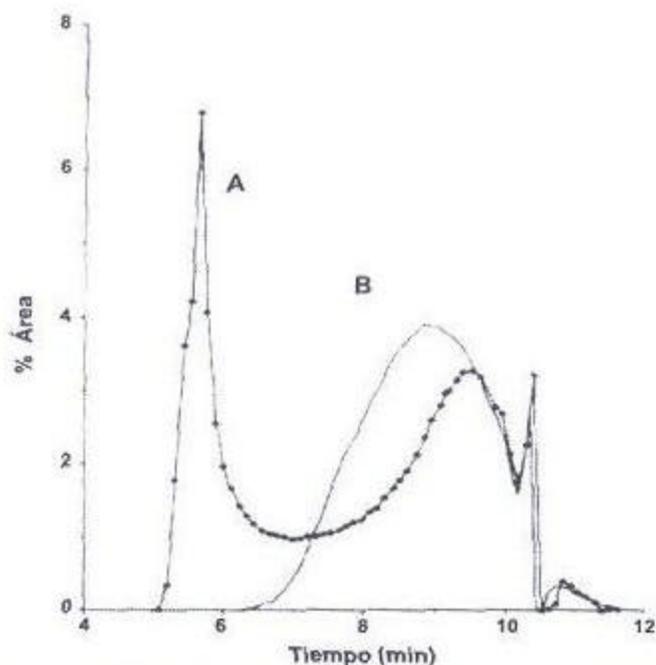


Figura 3. Efecto del LiBr en la Distribución de Peso Molecular de Ligninas Álcalis. A) Sin LiBr, (B) con LiBr 0,1 %. Condiciones cromatográficas: Acoplamiento de columnas 60 – 300 PSM, fase móvil DMSO, detección 280 nm, flujo 1 mL/min, volumen de inyección 10 μ L de lignina al 0,01 % p/v.

En los acoplamientos de columnas evaluados se observó un pico correspondiente a fracciones de bajo peso molecular a un tiempo de elusión de 10,5 min, siendo más pronunciado en el caso del acoplamiento de columnas 60 - 300 PSM. También se pudo observar que dicha fracción no se alteraba a medida que se incrementaba la concentración de la sal de litio en la fase móvil. Esto hace suponer que las asociaciones no pueden eliminarse en su totalidad, estando compuestas muy probablemente por fragmentos pequeños de monómeros precursores.

Adicionalmente a estos estudios, se evaluó la presencia del litio en forma de LiCl en la fase móvil a altas concentraciones de benceno sulfonato, cuyo tamaño molecular es conocido, la optimización se realizó en función de este valor. El LiCl al igual que el LiBr bloquea las asociaciones intermoleculares, desplazando las distribuciones hacia pesos moleculares menores. No se logró realizar una comparación sobre el grado de eficiencia de ambos electrolitos ya que el LiCl se usó en altas concentraciones de ligninas (alrededor de 0,6% p/v). No obstante, se pudo evaluar que a altas concentraciones de ligninas es necesario agregar a la fase móvil mayor concentración de la sal de litio, encontrándose una relación, aproximadamente 1:1, lignina/sal de litio.

En la Figura 4 se observan los cromatogramas HPSEC obtenidos para las distintas fracciones de ligninas estudiadas, y en la Tabla I se muestran los resultados finales de pesos moleculares determinados por HPSEC de estas ligninas. Los valores de peso molecular promedio en peso (Mw) obtenidos para las ligninas en DMSO sin la influencia del LiBr no se reportan en este trabajo; no obstante, estos oscilaron alrededor de 2×10^6 daltons. Los valores reportados en esta tabla no exceden de 11 000 daltons lo cual evidencia cambios substanciales y fuertes asociaciones intermoleculares entre las macromoléculas de la lignina. Algunos investigadores han reportado cambios drásticos en

la distribución de lignina con la adición de sales iónicas. Pelliken *et al.* (1985) y Himmel *et al.* (1990) reportaron asociaciones de ligninas con aumentos del Mw de 200 veces más. Con relación a las ligninas de aplicación industrial tales como, Indulin C y W-1 se encontraron valores de MW pequeños comparados con los reportados por los suplidores en sistemas en fase acuosa alcalina (NaOH 0,1 N), los cuales oscilan hasta 10^5 daltons con distribuciones bimodales (Rudatin *et al.*, 1971, Westvaco, Boletines Técnicos N° 321025 y 35125), posiblemente influenciadas también por asociaciones intermoleculares. En efecto, Rudatin (1971) encontró asociaciones a pH 13 y 12, indicando que la protonación de los grupos fenólicos es una etapa importante en el proceso de asociación.

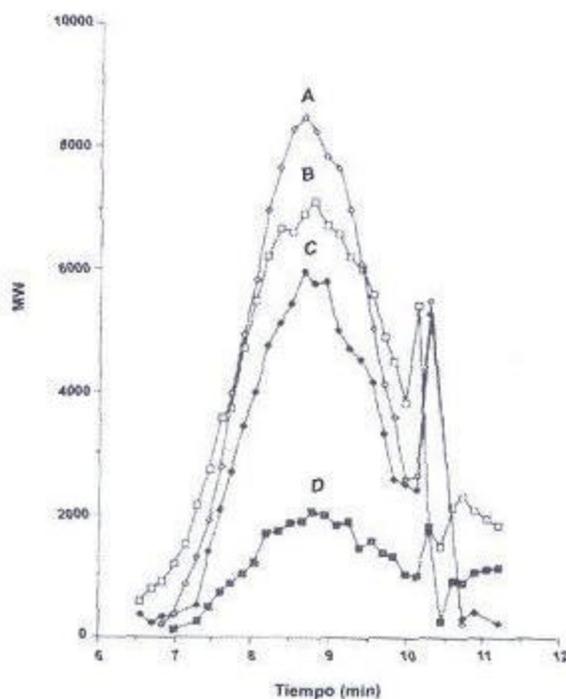


Figura 4. Distribución de Pesos Moleculares de Ligninas de Bagazo de Caña Derivadas a Diferentes pH de Extracción. (A) purificada, (B) pH 2, (C) pH 5, (D) pH 8. Condiciones Cromatográficas: Iguales a las de la Figura 3.

Tabla 1. Resultados HPSEC de Ligninas (DS) en condiciones cromatográficas optimizadas.

| Lignina | MW ⁽¹⁾ | Mn ⁽²⁾ | D ⁽³⁾ |
|------------|-------------------|-------------------|------------------|
| C | 11477 ± 0,12 | 2331 ± 0,11 | 4,92 |
| W-1 | 10550 ± 0,11 | 3115 ± 0,12 | 3,39 |
| Purificada | 9303 ± 0,10 | 2913 ± 0,09 | 3,19 |
| pH = 2 | 10071 ± 0,10 | 1166 ± 0,12 | 8,64 |
| pH = 5 | 8720 ± 0,12 | 5979 ± 0,11 | 1,46 |
| pH = 8 | 6753 ± 0,14 | 854 ± 0,10 | 7,91 |
| Aldrich | 8057 ± 0,11 | 3073 ± 0,13 | 2,62 |

(1) MW: Peso molecular en Peso. (2) Mn: Peso promedio en Número.
(3) D: Dispersidad.

Por otro lado, se encontraron variaciones en los tamaños moleculares de las fracciones obtenidas a distintos pH de recuperación. Estos aumentan a medida que descienden el pH. En el caso de la lignina, el punto isoeléctrico debe corresponder a un pH menor de 7 ya que la misma es un polielectrolito mayoritariamente con grupos carboxilo y fenóxidos cuya neutralización requiere condiciones ácidas. Las condiciones de solubilidad para la lignina implica que el pH de la solución esté por encima de siete. En relación con esto, Marton (1971) ha señalado que gran parte de los aromáticos (80-90%) precipitan cuando el pH es más bajo de tres. Sus resultados indican que el material no aromático está compuesto de oligómeros lígnicos de bajo peso molecular, monómeros y dímeros fenólicos.

Los pesos moleculares promedio en número (Mn) reportados en la Tabla I indican que existe una importante contribución de las moléculas de tamaño pequeño en relación a las de tamaño grande, reflejada en la dispersidad (D) de las fracciones lígnicas de pH 2 y 8. En la literatura se han reportado valores de dispersidad entre 1,23 y 8,24, dependiendo del procedimiento utilizado. Pelliken *et al.* (1985) reportaron estudios de comparación de la dispersidad de ligninas calculadas usando modelos lígnicos y PS, encontrando similitud en los valores obtenidos.

La comparación de los valores obtenidos para las muestras W-1 y purificada indicó una concordancia bastante aceptable (<10%) con respecto a los valores reportados para el análisis en fase acuosa de estas mismas muestras (González, 1998).

Con la finalidad de disponer de alguna información adicional de sistemas cromatográficos, un modelo con características estructurales similares a los precursores lígnicos, se analizó una muestra de alquilbenceno sulfonato de sodio de Monsanto, se obtuvo su distribución molecular y se comparó con la de la lignina en condiciones óptimas de análisis. Los resultados se aprecian en la Figura 5. La distribución que presenta el benceno sulfonato corresponde a un promedio de peso de 1 300 daltons. Otro monómero estudiado fue el 3-hidroxi-4-metoxi-bencilalcohol. Ambos compuestos poseen un comportamiento cromatográfico similar, sólo que el benceno sulfonato, debido a sus cadenas alquílicas, muestra mayor dispersión. Estos resultados indican la presencia de asociaciones no solo en fracciones de alto peso molecular, sino también en fragmentos de bajo peso. Por otra parte la presencia de LiBr no fue eficaz para vencer las asociaciones que se producen en estas moléculas de bajo peso molecular.

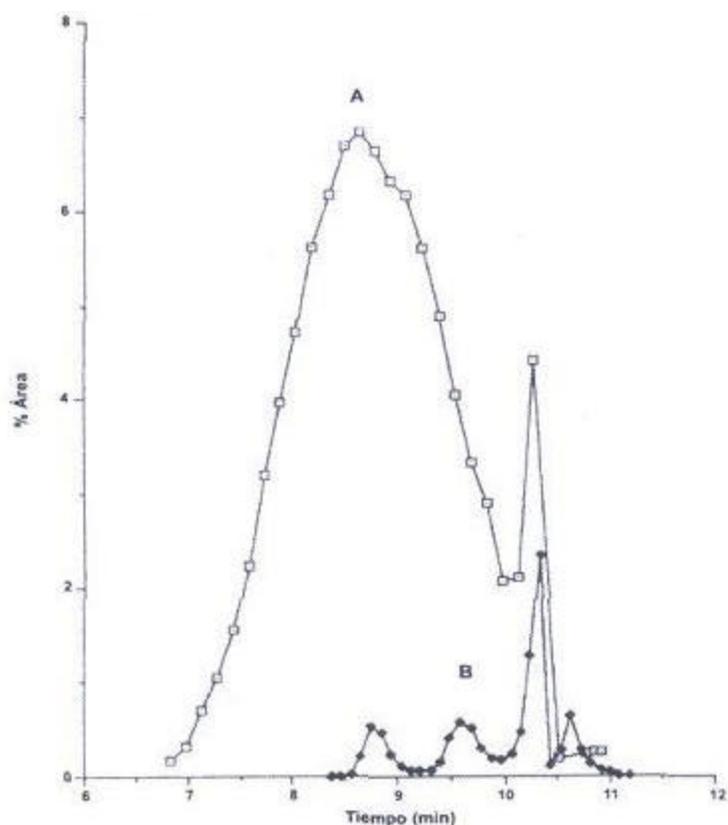


Figura 5. Comparación de las MWD de (A) Lignina AT y (B) Benceno sulfonato de sodio. Condiciones Cromatográficas: Iguales a las de la Figura 3.

4. Conclusiones

El DMSO resultó ser el solvente orgánico más adecuado para solubilizar las ligninas alcalinas de interés analítico. La insolubilidad de algunas fracciones lignicas en THF limita la utilidad de las columnas de alta versatilidad en fase orgánica, tales como las de geles entrecruzados de estireno-divinilbenceno, debido a la incompatibilidad de estas columnas con el DMSO. Es factible establecer el rango de fraccionamiento óptimo para la determinación de la distribución de tamaños moleculares de las ligninas con un acoplamiento de columnas 60-300 PSM en una curva relativa de PS en THF como fase móvil, utilizando como patrón de distribución ancha un compuesto comercial bien caracterizado. Las macromoléculas de lignina presentan fuertes asociaciones intermoleculares de cuando se utiliza HPSEC-orgánico con DMSO, interfiriendo con la determinación de la distribución de tamaños moleculares. La adición de sales de litio es una variable importante para la eliminación de tales interferencias. Sin embargo, se evidencia una disminución notable en la dispersidad de las curvas de distribución de peso, cuando el litio este presente en la fase móvil. Existe una relación inversa entre el pH de extracción de fracciones de ligninas del bagazo de caña y su distribución de tamaños moleculares. A medida que el pH desciende se obtienen fragmentos de mayor tamaño molecular en las diferentes fracciones.

Referencias Bibliográficas

1. ARAUJO, E.; RODRÍGUEZ-MALAVAR, A.J.; GONZÁLEZ, A.M.; ROJAS, O.J.; PEÑALOSA, N.; BULLÓN, J.; LARA, M.A. AND DMITRIEVA, N. (2002). Fenton's Reagent-Mediated Degradation of Residual Kraft Black Liquor. **Appl. Biochem. Biotechnol.**, 97, 91-103.

2. BIKOVA, T.; KLEVINSKA, V. AND TREIMANIS, A. (2000). Monitoring of Lignin and Hemicelluloses in Spent Cooking Liquor during Kraft Delignification. **Holzforschung**, 54, 66-70.

3. CONNORS, W. J.; SARKANEN, S.; MCCARTHY, J.L. (1980). Gel Chromatographic and Association Complexes of Lignin. **Holzforhung**, 34, 80.

4. DUBIN, P.L. (1988). Problems in Aqueous Size Exclusion Chromatography. Wiley Interscience, N. Y. Chart 5.

5. FORSS, K.G.; STENLUND, B.G.; SAGFORS, P.E. (1976). Determination of the Molecular – Weigth Distribution of Lignosulfonates and KRAFT Lignin. **Applied Polymer Symposium**, 28, 1185.

6. GONZÁLEZ, A.M. (1998). Análisis de la Distribución de Pesos Moleculares en muestras de Ligninas comerciales y espumadas por Cromatografía de Exclusión por Tamaño (HPSEC) en medio acuoso. Trabajo de Grado Magíster Scientiae en Química Aplicada. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

7. GOYCOOLEA, M.; SEELLENFREUND, D.; RUTTIMANN, C.; GONZÁLEZ, B.; VICUÑA, R. (1986). Monitoring Bacterial Consumption of Low High Performance liquid chromatography. **Enzyne Microb. Technol.** 8, 4.

8. HIMMEL, M.E.; OH, K.K.; SOPHER, D.E., CHUM, H.L. (1983). High Performance Size Exclusion Chromatographic of Low Molecular Weight Lignins and Model Compounds. **J. Chromatogr.** 267, 249.

9. HIMMEL, M.E.; OH, K.K.; QUIGLEY, D.R.; GROHMANN, K. (1989). Alkaline Size Exclusion Chromatographic of Lignin and Coal Extracts Using Cross – Linked Dextran Gels. **J. Chromatogr.** 467, 309-314.

10. HIMMEL, M.E.; TATSUMOTO, K.; GROHMANN, K.; JOHNSON, D.K. AND CHUM, H.L. (1990). Molecular Weigth Distribution of Aspen Lignins from Conventional gel Permeation Chromatography, Universal Calibration and Sedimentation Equilibrium. **J. Chromatogr.** 498, 93-104.

11. JANSEKAR, H.; BROWN, C.; FIECHTER, A. (1981). Determination of Biodegraded Lignin by Ultraviolet Spectrophotometry. **Anal. Chim. Acta.** 130, 81.

12. KADLA J.F. AND CHANG, H. (2002). Reactions of Lignin with Cyanamide Activated Hydrogen Peroxide. **Holzforschung**, 56, 76-84.

13. KEN, K.; WONG, Y. AND DE JONG, E. (1996). Size-exclusion chromatography of lignin- and carbohydrate- containing samples using alkaline eluents. **J. Chromatogr.**, 737, 193-203.

14. KOGEL, I. AND BOCHTER, R. (1985). Characterization of Lignin in Forest Humus Layers by High Performance Liquid Chromatography of Cupric Oxide Oxidation Products. **Soil Biol. Biochem.** 17, 5, 637.

15. MAJCHERCZYK, A. AND HÜTTERMANN, A. (1997). Size-exclusion chromatography of lignin as ion-pair complex. **J. Chromatogr.**, 764, 183-191.

16. MARCHESSAULT, R.H.; COULOMBE, S.; DANIELLE, R. AND MANKAWA, H. (1982). Characterization of Aspen Exploded Wood Lignin. **Can. J. Chem.** 60, 2372.

17. MARTON, J. (1971). Reaction in Alkaline Pulping Chapt. 16. K. V. Sarkanen and C. H. Ludwing (Eds). Lignins, Occurrence, Formation, Structure and Reactions. Wiley – Interscience, New York, 639.

18. MBACHU, R.A. AND JOHN, R. ST. (1981). Degradation of Lignin by Ozone II. Molecular Weight and Molecular Weight Distribution of the Alkali – Soluble Degradation Products. **J. Polymer Sci.** 19, 2065.

19. MCNAUGHTON, J.G.; YEAN, W.Q. AND GORING, D. (1967). Chromatographic of Lignins: **Tappi**, 50, 548.

20. OLSON, E. (2001). Conversion of Lignocellulosic Material to Chemicals and Fuels. Energy & Environmental Research Center. University of North Dakota. Final Report April-Junio. AAD Document Control . U.S. Department of Energy . National Energy Technology Laboratory . P.O Box 1040, MS921-143, Pittsburgh, PA 15236-0940.

21. OWUSU, G.; PETERS, E.; DREISINGER, D.B. (1992). Surface Tensions and Contact Angles Due to Lignin Sulphonates in the System: Liquid Sulphur, Aqueous Zinc Sulphonate and Zinc Sulphide. **Can. J. of Chem. Eng.** 70.

22. PELLIKEN, J.; SALKINOJA – SALONEN, M. (1985). High Performance Size Exclusion Chromatographic of Lignin and its Derivatives . **J. Chromatogr.** 328, 199.

23. RIBBONS, D.W. (1987). Chemicals from Lignin. Phil. Trans R. Soc. Lond. A321, 485, 1561.

24. RUDATIN, S.; SEN, L.Y. AND WOERNER, D.L. (1971). Association of Kraft Lignin in Aqueous Solution. Chart. 11. John Wiley & Son, N.Y.

25. SARKANEN, S.; TELLER, D.C., HALL, J. AND MCCARTHY, J.L. (1981). Associative effects among Organosolv Lignin components. **Macromolecules.** 14, 426.

26. SCHUCHARDT, U. AND RIBEIRO, M. (2001). A Indústria Petroquímica no Próximo Século: Substituir o Petróleo como Materia-Prima? **Quim. Nova.** Vol 24 (2): 247-251.

27. SHOTTON, P. G.; HEWLETF, P. C. AND JAMES, A.N. (1972). The Polydisperse Nature of Lignosulphonates. **Tappi**. 55, 3, 407.

28. SJÖSTRÖM, E. (1993). Wood Chemistry, Fundamentals and Applications. Academic Press. Second Edition: 71-88.

29. SJÖSTRÖM, E. AND ALÉN, R. (EDS.) (1999). Analytical Methods in Wood Chemistry, Pulping, and Papermaking. Springer-Verlag, Berlin.

30. SREBOTNIK, E. AND HAMMEL, K.E. (2000). Degradation of nonphenolic lignin by the laccase/1-hydroxybenzotriazole system. **J. Biotechnol.** 81, 179-188.

31. SUN, R.; TOMKINSON, J.; ZHU, W. AND WANG, S.Q. (2000). Delignification of Maize Stems by Peroxymonosulfuric Acid, Peroxyformic Acid, Peracetic Acid, and Hydrogen Peroxide. 1. Physicochemical and Structural Characterization of the Solubilized Lignins. **J.**

Agric. Food Chem., 48, 1253-1262.

32. WESTVACO CHEMICAL DIVISION. Technical Bulletin 35125. North Charleston. USA.

33. WESTVACO CHEMICAL DIVISION. Technical Bulletin 321025. North Charleston. USA.