

# Caracterización química de fibras de plantas herbáceas utilizadas para la fabricación de pastas de papel de alta calidad



Isabel María Rodríguez García

Sevilla, 2006



## Caracterización química de fibras de plantas herbáceas utilizadas para la fabricación de pastas de papel de alta calidad

Memoria que presenta

Isabel María Rodríguez García  
para optar al título de Doctor en Ciencias  
Químicas por la Universidad de Sevilla.  
Sevilla, a 9 de Febrero de 2006.



# Caracterización química de fibras de plantas herbáceas utilizadas para la fabricación de pastas de papel de alta calidad

Visado en Sevilla, a 9 de Febrero de 2006

## LOS DIRECTORES

Dr. D. José C. del Río Andrade  
Investigador Científico del CSIC  
IRNAS-CSIC

Dra. Dña. Ana Gutiérrez Suárez  
Científico Titular del CSIC  
IRNAS-CSIC

## EL TUTOR

Dr. D. Agustín García Asuero  
Catedrático de la Universidad de Sevilla

Memoria que presenta

Dña. Isabel María Rodríguez García  
para optar al grado de Doctor en Ciencias  
Químicas por la Universidad de Sevilla.



DOCTOR D. LUIS CLEMENTE SALAS, DIRECTOR DEL INSTITUTO DE RECURSOS NATURALES Y AGROBIOLOGÍA DE SEVILLA DEL CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

CERTIFICA: Que la presente Memoria de Investigación titulada “Caracterización química de fibras de plantas herbáceas utilizadas para la fabricación de pasta de papel de alta calidad”, presentada por Dña. Isabel M<sup>a</sup> Rodríguez García para optar al grado de Doctor en Ciencias Químicas, ha sido realizada en el Departamento de Biogeoquímica y Dinámica de Contaminantes, bajo la dirección de los Drs. D. José C. Río Andrade y Dña. Ana Gutiérrez Suárez, reuniendo todas las condiciones exigidas a los trabajos de Tesis Doctorales.

En Sevilla, a 9 de Febrero de 2006



*A mi familia y a Antonio*





## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha llevado a cabo en el Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS-CSIC) en el marco del proyecto “Estructura química y biodegradabilidad de la lignina y los compuestos extraíbles en diferentes cultivos agroforestales” (AGL2002-00393) del Programa Nacional de Recursos y Tecnologías Agroalimentarias.

Quiero expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que han hecho posible la realización de esta Tesis:

A los Dres. José C. del Río y Ana Gutiérrez, directores de esta Tesis, por aportarme los conocimientos y las ideas necesarias que han permitido desarrollar este trabajo. A ambos les agradezco ante todo la confianza puesta en mí para la realización del mismo, su esfuerzo y dedicación.

A la empresa Celulosa de Levante S.A., CELESA (Tortosa, Tarragona) por suministrar las materias primas necesarias para realizar esta Tesis, en concreto a Josep María Gras (Director de Operaciones) y a Gerardo Artal (Director de I+D y Medio Ambiente).

Al Prof. Agustín García, Catedrático de la Universidad de Sevilla, por actuar como tutor de esta Tesis.

Al Prof. Ángel T. Martínez, del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB-CSIC) en Madrid, quien ha seguido el desarrollo del presente trabajo desde el principio, aportando numerosas ideas y sugerencias.

Al Prof. Jesús Jiménez-Barbero, del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB-CSIC) en Madrid, por la realización de los espectros de NMR y su ayuda en la interpretación de los mismos.

A la Dra. Oliva Polvillo, por los buenos ratos pasados en el laboratorio, por ayudarme en tantas cosas y aconsejarme en otras tantas, y haber estado siempre cuando la he necesitado.

A mi compi Isabel Valles, cuya amistad surgió gracias a esta Tesis, por los gratos momentos compartidos y otros muchos que espero queden por venir, además de su ayuda con las hemicelulosas.

Al Dr. Bernardo Hermosín, por facilitarme el uso de su equipo de cromatografía de gases cuando lo he necesitado.

A todos mis compañeros, que han hecho más llevadera la culminación de esta Tesis y por los buenos ratos vividos durante los desayunos, y al resto del personal del Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, que de una manera u otra han hecho posible este trabajo.

Especialmente, quiero dedicar este trabajo a mi familia y a Antonio, por estar siempre a mi lado, por su cariño y apoyo incondicional y por haber sufrido con paciencia la terminación de esta Tesis.

## ABREVIATURAS

Ac	Ácidos
Ad	Aldehídos
AOX	Compuestos organoclorados
AQ	Antraquinona
BSTFA	N,O-bis(trimetilsilil)-trifluoroacetamida
COSY	Espectroscopía de correlación
ECF	Libre de cloro elemental
EPA	Agencia de protección medioambiental de EE.UU.
DFRC	Derivatización seguida de rotura reductora
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
FID	Detector de ionización de llama
G	Unidades de lignina de tipo guayacilo
GC	Cromatografía de gases
GC/MS	Cromatografía de gases/espectrometría de masas
H	Unidades de lignina de tipo <i>p</i> -hidroxifenilo
HMBC	Correlación heteronuclear en enlace múltiple
HSQC	Correlación heteronuclear a un enlace
ICP-OES	Espectrometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente
ID	Diámetro interno
ITD	Detector de trampa de iones
MW	Masa molecular
NOE	Efecto nuclear Overhauser
NOESY	Espectroscopía de efecto nuclear Overhauser
Ph-C <sub>0</sub>	Compuestos fenilo
Ph-C <sub>1</sub>	Compuestos fenólicos con un átomo de carbono en la cadena lateral
Ph-C <sub>2</sub>	Compuestos fenólicos con dos átomos de carbono en la cadena lateral
Ph-C <sub>3</sub>	Compuestos fenólicos con tres átomos de carbono en la cadena lateral
Py/TMAH	Pirólisis en presencia de hidróxido de tetrametilamonio, acoplada a cromatografía de gases/espectrometría de masas
Py-GC/MS	Pirólisis-cromatografía de gases/espectrometría de masas
NMR	Resonancia Magnética Nuclear
S	Unidades de lignina de tipo siringilo
SPE	Extracción en fase sólida

TLC	Cromatografía en capa fina
TCF	Totalmente libre de cloro
THC	Tetrahidrocannabinol
TMAH	Hidróxido de tetrametilamonio
TMSi	Trimetilsililo
TOCSY	Espectroscopía de correlación total
uma	Unidad de masa atómica

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	i
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1. Estructura y composición de los materiales lignocelulósicos .....	3
1.1.1. Celulosa .....	3
1.1.2. Hemicelulosas .....	5
1.1.3. Lignina .....	6
1.1.4. Compuestos extraíbles .....	9
1.2. Fabricación de pasta de papel .....	11
1.2.1. Materias primas para la fabricación de pasta de papel .....	12
1.2.1.1. Fibras procedentes de madera .....	12
1.2.1.2. Fibras procedentes de plantas herbáceas .....	13
1.2.2. Procesos de producción de pasta de papel .....	14
1.2.2.1. Procesos mecánicos .....	14
1.2.2.2. Procesos químicos .....	14
1.2.3. Proceso de blanqueo de pasta de papel .....	16
1.2.4. Calidad de las pastas .....	16
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	19
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	23
3.1. Materiales .....	25
3.1.1. Fibras .....	25
3.1.1.1. Lino .....	25
3.1.1.2. Cáñamo .....	26
3.1.1.3. Kenaf .....	27
3.1.1.4. Yute .....	28
3.1.1.5. Sisal .....	30
3.1.1.6. Abacá .....	30

3.1.2. Pastas sosa/AQ .....	31
3.1.3. Ligninas alcalinas .....	32
3.2. Métodos analíticos .....	32
3.2.1. Análisis de la fracción extraíble lipofílica.....	32
3.2.1.1. Extracción de los compuestos lipofílicos.....	32
3.2.1.2. Fraccionamiento de los lípidos mediante extracción en fase sólida (SPE).....	32
3.2.1.3. Cromatografía en capa fina (TLC).....	33
3.2.1.4. Saponificación de ésteres de esteroides .....	33
3.2.1.5. Cromatografía de gases (GC).....	34
3.2.1.6. Cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS)..	34
3.2.1.7. Métodos de derivatización .....	34
3.2.1.8. Métodos de cuantificación .....	35
3.2.2. Determinación de la fracción hidrosoluble.....	35
3.2.3. Determinación de la lignina Klason o lignina ácido-insoluble.....	35
3.2.4. Determinación de la lignina ácido-soluble .....	36
3.2.5. Determinación de la composición de los polisacáridos.....	36
3.2.6. Análisis de metales y otros elementos por espectrometría de emi- sión por plasma (ICP-OES) .....	36
3.2.7. Determinación del contenido en cenizas .....	37
3.2.8. Pirólisis-GC/MS (Py-GC/MS).....	37
3.2.9. Resonancia Magnética Nuclear (NMR) .....	38
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>39</b>
4.1. Composición general de los principales componentes de las fibras .....	41
4.1.1. Contenido en lignina Klason y lignina ácido-soluble.....	41
4.1.2. Contenido en cenizas y composición de metales y otros elementos de las fibras .....	42
4.1.3. Composición química de los polisacáridos de las fibras .....	44
4.2. Composición química de los lípidos .....	45
4.2.1. Análisis por GC y GC/MS.....	45

4.2.1.1.	<i>n</i> -Alcanos .....	45
4.2.1.2.	<i>n</i> -Ácidos grasos .....	46
4.2.1.3.	Hidroxiácidos .....	47
4.2.1.4.	<i>n</i> -Alcoholes .....	48
4.2.1.5.	<i>n</i> -Aldehídos .....	49
4.2.1.6.	Hidrocarburos esteroidales .....	49
4.2.1.7.	Esteroles .....	50
4.2.1.8.	Triterpenoles .....	53
4.2.1.9.	Acetatos de triterpenoles .....	54
4.2.1.10.	Cetonas esteroidales .....	56
4.2.1.11.	Cetonas triterpenoidales .....	57
4.2.1.12.	Glicósidos de esteroles .....	59
4.2.1.13.	Ceras .....	60
4.2.1.14.	Ésteres de esteroles .....	61
4.2.1.15.	Ésteres de triterpenoles .....	62
4.2.1.16.	Monoglicéridos .....	62
4.2.1.17.	Diglicéridos .....	63
4.2.1.18.	Triglicéridos .....	65
4.2.1.19.	Ésteres del ácido ferúlico .....	65
4.2.1.20.	Ésteres del ácido <i>trans-p</i> -cumárico .....	69
4.2.2.	Composición química de los lípidos de las fibras .....	72
4.2.2.1.	Fibras de lino .....	82
4.2.2.2.	Fibras de cáñamo .....	86
4.2.2.3.	Fibras de kenaf .....	90
4.2.2.4.	Fibras de yute .....	93
4.2.2.5.	Fibras de sisal .....	101
4.2.2.6.	Fibras de abacá .....	107
4.2.3.	Modificación estructural de los lípidos de las fibras durante la cocción a la sosa/AQ .....	125
4.3.	Composición química de la lignina .....	133



4.3.1. Composición química de la lignina de las fibras .....	133
4.3.1.1. Análisis por Py-GC/MS .....	133
4.3.1.2. Análisis por Py/TMAH .....	143
4.3.2. Composición química de la lignina en las lejías de cocción .....	148
4.3.2.1. Análisis por Py-GC/MS .....	149
4.3.2.2. Análisis por Py/TMAH .....	155
<b>5. CONCLUSIONES</b> .....	<b>161</b>
<b>6. REFERENCIAS</b> .....	<b>165</b>

## RESUMEN

La presente Tesis plantea el estudio de la composición química de las fibras de varias plantas herbáceas utilizadas como materia prima para la fabricación de pasta de papel de alta calidad, así como la evolución de sus principales componentes durante el proceso de cocción con objeto de obtener un mejor aprovechamiento industrial de estas fibras.

Las fibras seleccionadas para este estudio fueron suministradas por la empresa Celulosa de Levante S.A., CELESA (Tortosa, Tarragona) e incluyen fibras procedentes de tallos de lino (*Linum usitatissimum*), cáñamo (*Cannabis sativa*), kenaf (*Hibiscus cannabinus*) y yute (*Corchorus capsularis*), así como fibras procedentes de hojas de sisal (*Agave sisalana*) y abacá (*Musa textilis*).

El estudio se centra en una caracterización general de las fibras basada en la cuantificación de las principales fracciones (polisacáridos, lignina, extraíbles, hidrosolubles y cenizas), poniendo especial énfasis en el estudio detallado de la composición de los extraíbles lipofílicos y la lignina, fracciones que presentan una especial relevancia en la fabricación de pasta de papel. En general, las fibras estudiadas se caracterizan por un alto contenido en holocelulosa (81-92%), y un contenido bajo en lignina (4-16%). Las fibras de lino y cáñamo son las que presentan un menor contenido en lignina (2,9 y 4,6%, respectivamente) mientras que kenaf, yute, sisal y abacá tienen algo más del 10% de lignina. También se caracterizan por su bajo contenido en cenizas (0,2-2%) y extraíbles lipofílicos (0,4-0,7%), por lo que en principio puede decirse que, respecto a la composición química, son buenas materias primas para la producción de pasta de papel.

Los principales lípidos identificados en las fibras mediante GC y GC/MS fueron ceras, *n*-ácidos grasos, *n*-alcanos y *n*-alcoholes, así como esteroides y triterpenoides (libres y/o conjugados). Las ceras son muy abundantes en las fibras procedentes de tallos (lino, cáñamo, kenaf y yute) estando prácticamente ausentes en las fibras procedentes de hojas (sisal y abacá). En estas últimas se identificaron series de ácidos *p*-hidroxicinámicos (*p*-cumárico y ferúlico) esterificados con *n*-alcoholes y  $\omega$ -hidroxiácidos de cadena larga. Ésta es la primera vez que se describe la presencia en plantas de *p*-cumaratos de  $\omega$ -hidroxiácidos.

El análisis de las fibras mediante Py-GC/MS permitió estudiar la composición de la lignina. Así, la pirólisis de las fibras de lino y cáñamo liberó principalmente compuestos derivados de carbohidratos, mientras que la pirólisis de las fibras de kenaf, yute, sisal y abacá liberó predominantemente compuestos procedentes de lignina y ácidos *p*-hidroxicinámicos, de acuerdo con el contenido en lignina en

cada una de las fibras. En cuanto a la composición de la lignina, las fibras de lino y cáñamo mostraron una composición predominantemente de tipo guayacilo (G), mientras que las fibras de kenaf, yute, sisal y abacá presentaron una lignina predominantemente de tipo siringilo (S). En las fibras de abacá, además, se observaron cantidades elevadas de ácido *p*-cumárico, probablemente esterificado en el carbono  $\gamma$  de la cadena lateral de la lignina. El análisis por Py-GC/MS de las fibras de kenaf, yute, sisal y abacá reveló la presencia de acetatos de los alcoholes sinapílico y coniferílico, siendo la primera vez que estos compuestos se identifican tras la pirólisis de materiales lignocelulósicos. La presencia de estos acetatos indica que la lignina nativa de estas fibras está, al menos parcialmente, acetilada en el carbono  $\gamma$  de la cadena lateral. Se sugiere que los acetatos de los alcoholes coniferílico y sinapílico pueden ser auténticos precursores de la lignina que se ven involucrados en su polimerización al igual que los alcoholes coniferílico y sinapílico sin acetilar.

El presente estudio abarcó también las modificaciones y los cambios estructurales ocurridos en los lípidos y la lignina durante la cocción alcalina. Se observó cómo las diferentes clases de lípidos tienen distintos comportamientos durante la cocción y cómo algunos de los compuestos lipofílicos presentes en las fibras sobreviven al proceso y están presentes en la pasta, lo cual puede dar lugar a diversos problemas, como la formación de depósitos de “pitch”. Las ceras y otros ésteres se hidrolizan completamente, dependiendo de la carga de álcali utilizada, los ácidos grasos forman sales solubles, mientras que los alcoholes y esteroides (y sus glicósidos), que apenas se solubilizan, permanecen en la pasta. En cuanto a la lignina de las fibras, se observó que en el proceso de cocción se produce una eliminación preferencial de las unidades S frente a las G. Esto es debido a que las unidades S están unidas preferentemente por enlaces éter ( $\beta$ -O-4) mientras que la lignina G es más condensada debido a la presencia de una alta proporción de enlaces C-C (en la posición 5-5'). Por tanto, la alta relación S/G de la lignina de las fibras de kenaf, sisal, yute y abacá hace que estas fibras sean más fáciles de deslignificar a causa del menor grado de condensación de la lignina, a pesar de tener un mayor contenido en lignina.

En conclusión, el estudio de la composición química de las fibras, así como su comportamiento durante la producción de pasta de papel, será útil para un mejor aprovechamiento de las mismas como materias primas para la fabricación de papel de alta calidad.

## **1. INTRODUCCIÓN**



## 1.1. ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN DE LOS MATERIALES LIGNOCELULÓSICOS

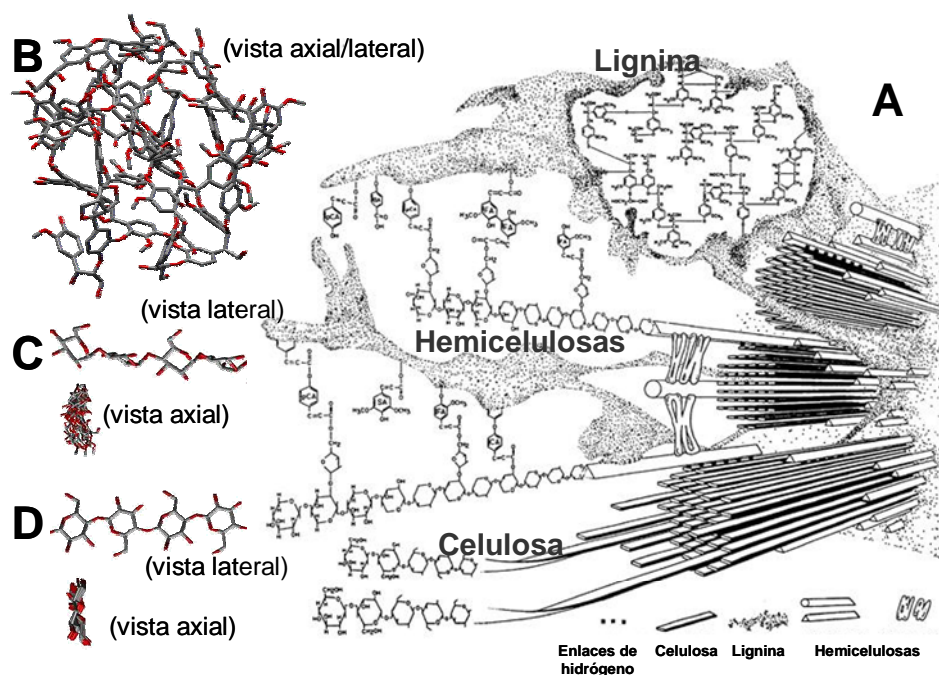
Los materiales lignocelulósicos, incluyendo los productos de origen agrícola y forestal, están constituidos por tres polímeros estructurales - celulosa, hemicelulosa y lignina - y una serie de compuestos de bajo peso molecular solubles en agua (fracción hidrosoluble) o solventes orgánicos (los denominados extraíbles). También presentan pequeños contenidos en proteína y sales minerales (estimadas como cenizas tras combustión). La celulosa es el componente mayoritario (sobre un 50%), seguida de la lignina (alrededor de un 20%) y de la hemicelulosa (alrededor de un 15%) (Fengel y Wegener, 1984). En la Figura 1 se muestra una representación esquemática de las relaciones entre los principales constituyentes de la pared celular vegetal (celulosa, lignina y hemicelulosa).

A nivel histológico, la lignina se encuentra más concentrada en la lámina media, que es la capa externa que une las paredes celulares de las fibras contiguas en los tejidos lignificados. El resto de las capas de la pared vegetal, incluyendo la pared secundaria que es la capa más gruesa, presentan también un cierto contenido de lignina pero están principalmente constituidas por celulosa (y hemicelulosa). Tal como se observa en la Figura 1, la lignina en la pared secundaria forma una matriz amorfa que protege a los polisacáridos frente a la degradación microbiana y la hidrólisis enzimática en general. En la pared vegetal existen enlaces interpolímeros que pueden ser directos, enlaces éter entre OH alcohólicos (de los polisacáridos) y fenólicos (de la lignina), o a través de puentes formados por los ácidos *p*-hidroxicinámicos. Estos últimos son precursores de la lignina pero en muchas plantas herbáceas se encuentran también en forma libre (incluidos en la fracción extraíble) y formando puentes lignina-polisacárido (Scalbert *et al.*, 1985; Grabber *et al.*, 2000; Bunzel *et al.*, 2001; Lam *et al.*, 2001; Sun *et al.*, 2002).

El uso de la madera y otros materiales lignocelulósicos en la industria química, así como en la alimentación animal, se basa generalmente en la utilización de la celulosa (obtención de fibras celulósicas para la fabricación de pasta de papel, o hidrólisis ácida o enzimática para obtener glucosa). Por consiguiente, la eliminación de la lignina representa el paso limitante en muchos de estos procesos.

### 1.1.1. Celulosa

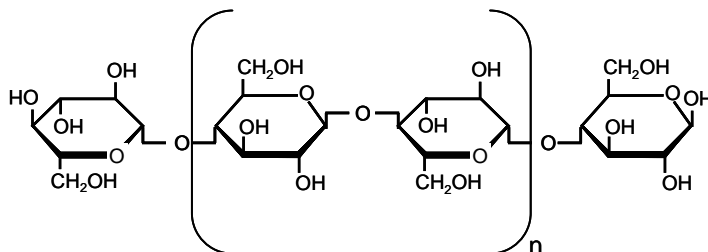
Es uno de los biopolímeros más abundantes en la Naturaleza, ya que se trata del principal componente estructural de las células vegetales. Comprende del 10% al 20% del peso seco de las hojas, el 50% del peso de la madera y la corteza de los



**Figura 1.** Representación esquemática de las relaciones entre los principales constituyentes de la pared celular vegetal (celulosa, lignina y hemicelulosa). Este esquema, correspondiente a la pared secundaria de una angiosperma no leñosa (como el lino o el kenaf) muestra las microfibrillas de celulosa, formadas por cadenas lineales de glucosa, inmersas en una matriz amorfa de lignina, constituida por tres tipos de unidades fenilpropano unidas por diferentes enlaces en una red tridimensional, en la que también se incluye la hemicelulosa, formada por cadenas ramificadas de pentosas (hexosas en las coníferas) unidas por enlaces laterales. Las uniones entre estos polímeros se completan mediante puentes intermoleculares formados por los ácidos cinámicos, *p*-cumárico (pCA), ferúlico (FA) y diferúlico, que se unen por un lado a la lignina y por otro a la hemicelulosa (enlaces éster y éter), mientras que esta última se asocia a la celulosa por puentes de hidrógeno. En las plantas leñosas, que no contienen cantidades apreciables de ácidos cinámicos, existen uniones directas lignina-polisacárido en forma de enlaces éter entre hidroxilos alcohólicos. Tomado de Bidlack *et al.* (1992).

árboles y aproximadamente el 90% del peso de las fibras de algodón (Streitwieser y Heathcock, 1983). Desde el punto de vista estructural, la celulosa es un polímero lineal, cuya unidad básica es la D-glucosa que se enlaza mediante un enlace glucosídico en la configuración  $\beta$ -(1-4) dando lugar a la unidad de celobiosa que se

repite exactamente en la cadena polimérica (Figura 2). En la pared celular, las cadenas de celulosa se agregan formando microfibrillas que constituyen el elemento base de los materiales celulósicos.



**Figura 2.** Molécula de celobiosa en la cadena de celulosa.

### 1.1.2. Hemicelulosas

Son polisacáridos químicamente heterogéneos, constituidos por diferentes unidades de monosacáridos incluyendo pentosas (xilosa y arabinosa), hexosas (glucosa, manosa y galactosa) y ácidos urónicos, enlazados entre sí por enlaces glicosídicos, formando estructuras ramificadas y en general amorfas. En la Figura 3 se muestran los monosacáridos constituyentes de las hemicelulosas. Algunas hemicelulosas están asociadas a la porción celulósica, mientras que otras lo están con la lignina. Actúan como matriz soporte para las microfibrillas de celulosa en la pared celular, y son de menor masa molecular, más accesibles, más fácilmente degradables y más fáciles de disolver que la celulosa.

La estructura de la celulosa es la misma en los distintos materiales lignocelulósicos. Sin embargo, en las hemicelulosas existe una considerable variación, especialmente entre las coníferas, frondosas y plantas herbáceas. En el caso de la madera de coníferas se suele apreciar una mayor cantidad de manosa y galactosa mientras que la xilosa es más abundante en las frondosas (Fengel y Wegener, 1984). En las plantas herbáceas, las hemicelulosas presentan una gran variedad en composición según las diferentes especies, siendo en algunas predominantes la manosa y la galactosa (Morrison *et al.*, 1999b) y en otras la xilosa (Neto *et al.*, 1996).



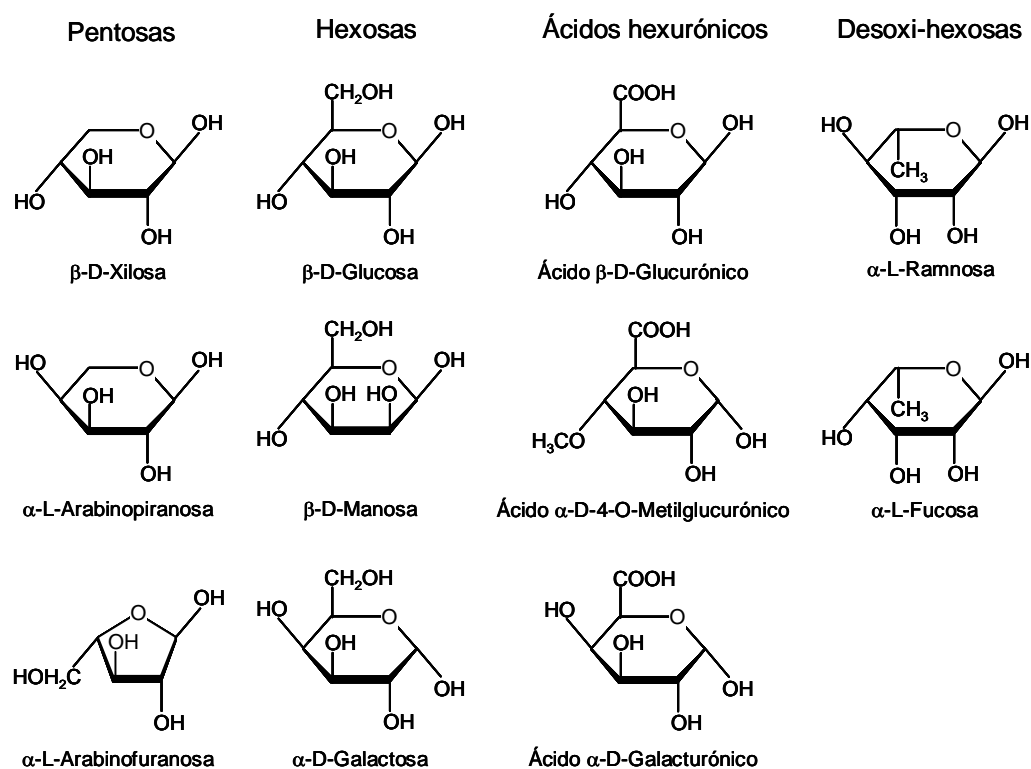
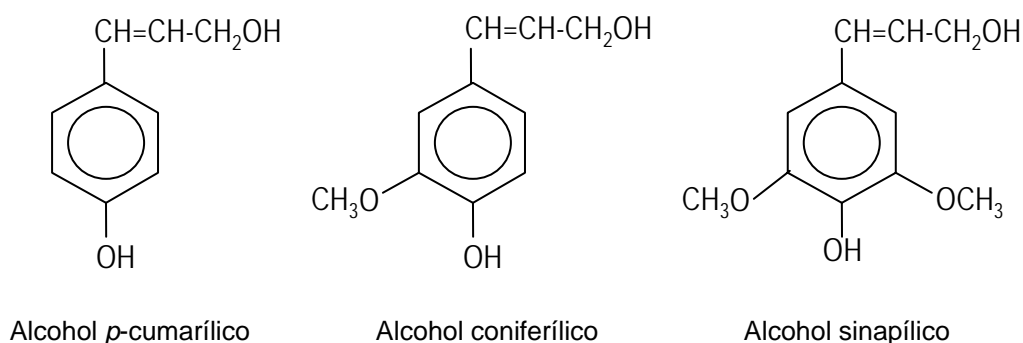


Figura 3. Monosacáridos componentes de las hemicelulosas (Fengel y Wegener, 1984).

### 1.1.3. Lignina

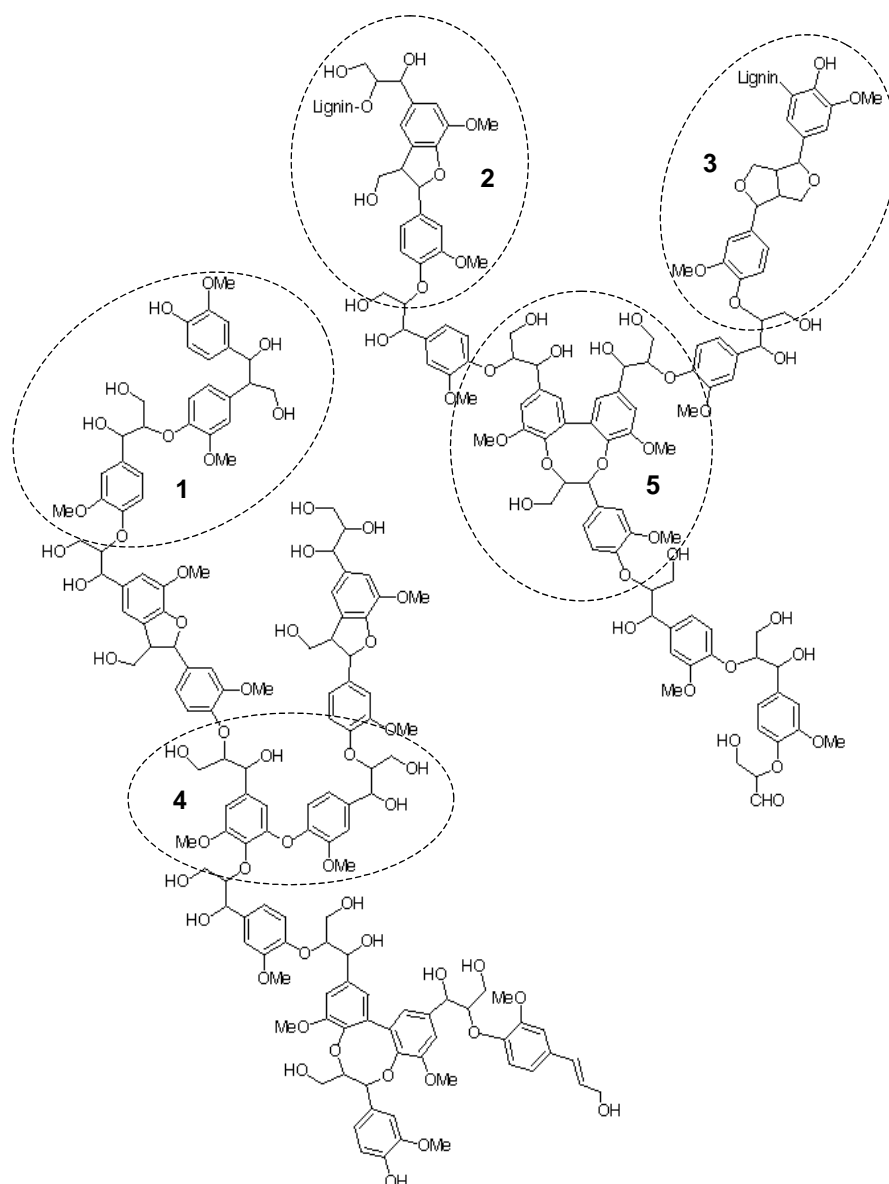
Es un polímero aromático formado por la condensación oxidativa de precursores fenólicos, muy ramificado y amorfo. La lignina es un componente característico de la pared celular de las plantas vasculares, donde se forma por polimerización oxidativa de tres alcoholes *p*-hidroxicinámicos - *p*-cumarílico (4-hidroxicinámico), coniferílico (4-hidroxi-3-metoxicinámico) y sinapílico (4-hidroxi-3,5-dimetoxicinámico) - (Figura 4) dando lugar a una red tridimensional con diferentes tipos de enlaces. Este polímero es muy resistente a la biodegradación y sus funciones son proteger a la celulosa del ataque microbiano, conferir resistencia e impermeabilidad a los materiales lignificados, y mantener unidas las fibras celulósicas, tal como se ha comentado anteriormente.



**Figura 4.** Alcoholes *p*-hidroxicinamílicos.

La mejor forma de comprender la complejidad estructural de la lignina es a través del examen de su biosíntesis (Higuchi, 1997). La lignina de las coníferas es la más sencilla al estar formada únicamente por unidades de tipo guayacilpropano (G) formadas a partir del alcohol coniferílico. Sin embargo, la complejidad de las ligninas producidas por las angiospermas leñosas y herbáceas, ligninas GS y HGS respectivamente, aumenta progresivamente al incluir también unidades H (*p*-hidroxifenilpropano), y S (siringilpropano) derivadas de los otros dos alcoholes *p*-hidroxicinamílicos. Estos alcoholes se sintetizan a través de dos rutas consecutivas. La primera, denominada del siquimato, es común a la biosíntesis de los aminoácidos aromáticos (fenilalanina y tirosina). La segunda, denominada del cinamato, incluye la síntesis de los tres ácidos cinámicos (*p*-cumárico, ferúlico y sinápico) por una combinación de reacciones enzimáticas de hidroxilación y metilación y su posterior reducción por deshidrogenasas a los correspondientes aldehídos y alcoholes.

La polimerización de los alcoholes *p*-hidroxicinamílicos se desencadena por la acción de una (o varias) peroxidasas (o lacasas) de la pared vegetal. Continúa por una serie de reacciones de condensación de radicales aromáticos y nuevas oxidaciones enzimáticas de los dímeros (dilignoles) y oligómeros formados hasta la formación del polímero de lignina. La acción de la peroxidasa sobre cada uno de los precursores fenólicos (alcoholes *p*-hidroxicinamílicos) da lugar a la formación de un radical fenoxilo (oxidación de un electrón). La variabilidad de enlaces y estructuras dentro del polímero de lignina (Figura 5) se debe a la variedad de reacciones de acoplamiento entre las diferentes formas resonantes de estos radicales fenoxilo formados durante la iniciación enzimática del proceso de polimerización.



**Figura 5.** Estructura química de la lignina. Modelo para la lignina de coníferas formada por polimerización deshidrogenativa del alcohol coniferílico en el que se muestran las correspondientes unidades guayacilpropano formando diferentes tipos de subestructuras: **1)** éter guayacilglicerol- $\beta$ -arílico; **2)** fenilcumarano; **3)** pinorresinol; **4)** éter difenílico; y **5)** dibenzodioxocina. La estructura **1** es la más frecuente, ya que 50-60% de las unidades de la lignina están unidas por enlaces  $\beta$ -O-4 (Adler, 1977). Mientras que **1-4** son estructuras diméricas, la estructura **5**, recientemente descrita (Karhunen *et al.*, 1995), es una estructura trimérica en la que los grupos OH de un bifenilo fenólico forman dos enlaces éter con los OH de los carbonos  $\alpha$  y  $\beta$  de la cadena lateral de una tercera unidad.

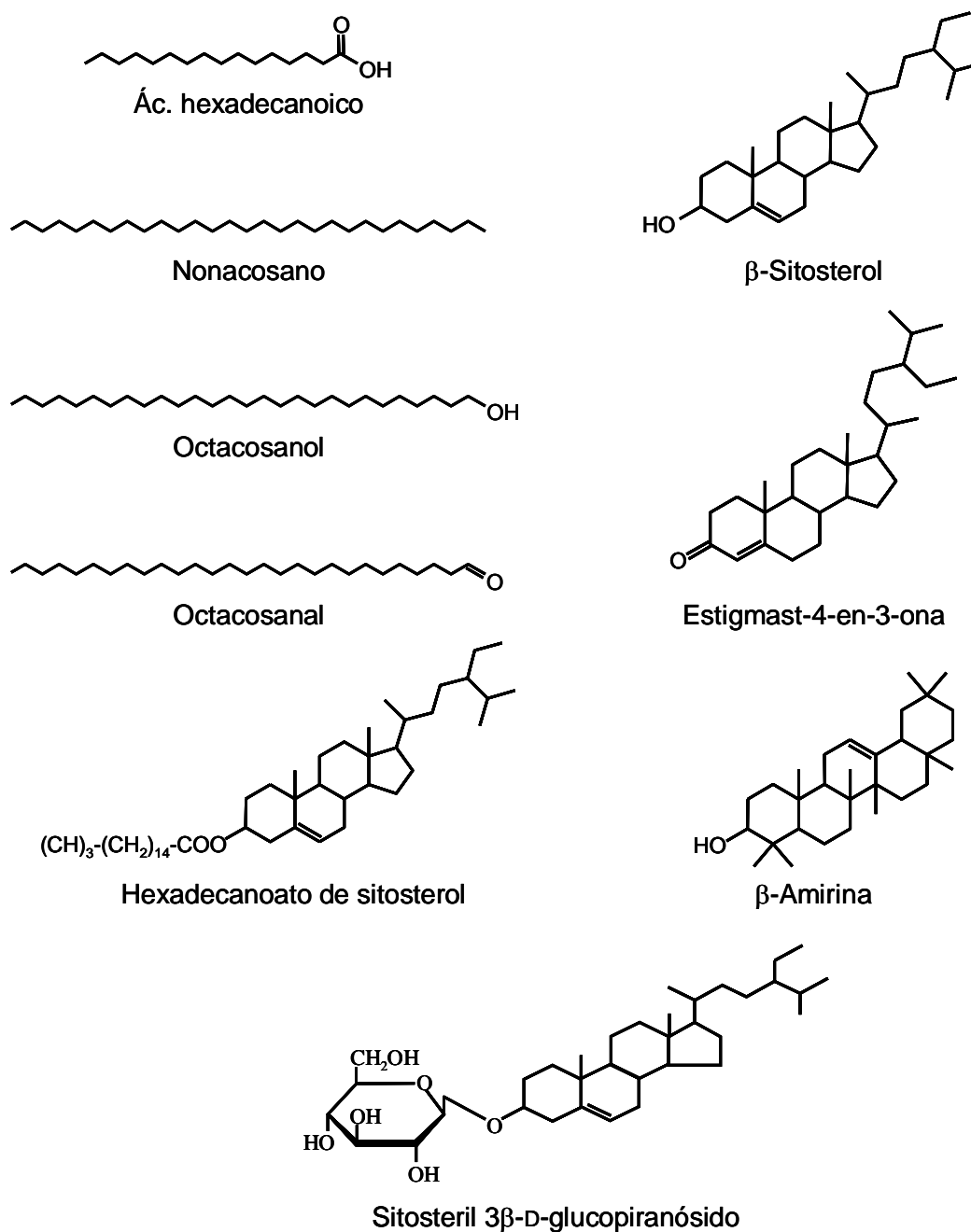
Los primeros modelos estructurales de lignina de coníferas (Adler, 1977) y frondosas (Nimz, 1974) se publicaron en los años setenta. Anteriormente sólo se tenía una idea muy general de su estructura, como un polímero aromático muy resistente a la degradación. Estos modelos incluyen más de doce tipos diferentes de enlaces (entre los que predominan los de tipo éter) dando lugar a diferentes subunidades. Entre éstas hay que mencionar una que contiene un anillo octogonal de dioxocina que ha sido identificada en ligninas de coníferas (Karhunen *et al.*, 1995), frondosas (Ammalahti *et al.*, 1998) y plantas anuales (Galkin *et al.*, 1997).

#### 1.1.4. Compuestos extraíbles

La biomasa vegetal incluye también una fracción de bajo peso molecular soluble en solventes orgánicos que engloba diferentes compuestos lipofílicos y polares (Hillis, 1962; Fengel y Wegener, 1984; Rowe, 1989; Sjöström, 1993). Una de las principales funciones de los compuestos extraíbles es la protección de la planta contra patógenos. La baja degradabilidad de muchos de estos compuestos contribuye a este fin, pero también origina problemas en ciertos aprovechamientos industriales de la biomasa vegetal que se describen a continuación (Hillis y Sumimoto, 1989).

Los extraíbles polares engloban diferentes compuestos fenólicos libres de bajo peso molecular, lignanos (dilignoles y compuestos relacionados), taninos y flavonoides, entre otros. Los compuestos fenólicos libres incluyen precursores de la lignina (ácidos *p*-hidroxicinámicos y aldehídos *p*-hidroxicinámicos), ácidos bencenocarboxílicos relacionados (como ácidos *p*-hidroxibenzoico, vainílico y siringico), aldehídos y cetonas aromáticos (*p*-hidroxibenzaldehído, vainillina, siringaldehído y propioguayacona). Los taninos son un grupo de compuestos caracterizados más por su acción curtiente sobre las proteínas de las pieles que por una estructura química común. Los taninos hidrolizables son ésteres del ácido gálico y sus dímeros (incluyendo el ácido elágico típico del eucalipto) con monosacáridos. Los flavonoides presentan diferentes estructuras derivadas del anillo de flavona (2-fenilbenzopirona). Los taninos no hidrolizables están constituidos por varias unidades de flavonoides condensadas.

A pesar de que muchas especies vegetales contienen cantidades muy significativas de extraíbles polares, la fracción lipofílica es predominante en algunas de ellas. Además, cuando estas especies vegetales son utilizadas para la fabricación de pasta de papel, estos compuestos lipofílicos deben ser tenidos muy en cuenta ya que pueden deteriorar significativamente la calidad de la pasta, tal como se describe más adelante. En la Figura 6 se muestran algunos de los constituyentes principales de la fracción lipofílica de los extraíbles presentes en los materiales lignocelulósicos.



**Figura 6.** Principales compuestos extraíbles lipofílicos presentes en materiales lignocelulósicos.

Entre estos compuestos se encuentran los ácidos grasos libres, alcoholes grasos libres, hidrocarburos, ceras, grasas, terpenos, y esteroides. Las ceras se definen como ésteres de ácidos grasos con alcoholes de cadena larga, mientras que las grasas son ésteres de ácidos grasos con glicerol (mono-, di- y triglicéridos). Los triglicéridos se encuentran entre los principales constituyentes de la fracción lipofílica de los extraíbles de muchas maderas (hasta un 50%). Los principales ácidos grasos esterificados en grasas y ceras son los ácidos oleico, linoleico y linolénico, junto con porcentajes muy inferiores de los ácidos palmítico y esteárico, entre otros. Se han identificado y aislado de la madera, principalmente de coníferas, más de 4000 terpenos diferentes. Estos compuestos se subdividen en varias clases dependiendo del número de unidades de isopreno que los constituyen: monoterpenos (2 unidades), sesquiterpenos (3 unidades), diterpenos (4 unidades), sesterterpenos (5 unidades) y triterpenos (6 unidades). Entre los compuestos de tipo diterpeno se encuentran los ácidos resínicos que son muy abundantes en la madera de coníferas (y están ausentes en la de frondosas). Los ácidos resínicos se caracterizan por su elevada toxicidad, comparados con los otros constituyentes de la fracción lipofílica de los extraíbles de la madera (Peng y Roberts, 2000).

Los principales compuestos de tipo triterpenoide son los esteroides que difieren de los triterpenos en su biosíntesis (Sjöström, 1993). Los esteroides son los esteroides más abundantes en la madera pero también existen cetonas e hidrocarburos esteroidales. Los esteroides pueden encontrarse libres o esterificados con ácidos grasos, siendo en ambos casos el sitosterol el principal esteroide, tanto en coníferas como en frondosas. También se ha descrito formando glicósidos y acilglicósidos en diferentes maderas (Gutiérrez y del Río, 2001). El sitosterol y los ésteres de sitosterol son compuestos con un alto grado de "pegajosidad" por lo que a menudo se encuentran en el origen de los depósitos de "pitch" (brea), descritos más adelante, que se forman por acumulación de extraíbles lipofílicos durante la fabricación de pasta de papel (Back y Allen, 2000). Así como hay diversos trabajos en la literatura sobre extraíbles lipofílicos en maderas, la composición de estos compuestos en las fibras de plantas herbáceas apenas se conoce. Una caracterización química adecuada de estas materias primas utilizadas para la fabricación de pasta de papel constituiría un requisito fundamental para llegar a identificar los compuestos que originan los problemas de "pitch" y diseñar estrategias adecuadas para su control.

## 1.2. FABRICACIÓN DE PASTA DE PAPEL

La pasta de papel es el producto que resulta de la separación de las fibras de la madera u otros materiales fibrosos y constituye un producto intermedio dentro del proceso global de transformación de las materias primas en papel. Sus propiedades, que incidirán ampliamente en las de los productos finales, papel y cartón, dependen

de la fuente de fibras y del proceso de pasteado utilizados, siendo el objetivo principal de ese proceso la liberación de las fibras por destrucción o debilitación de los enlaces que las mantienen unidas en una estructura bien cohesionada (García Hortal y Colom, 1992).

### **1.2.1. Materias primas para la fabricación de pasta de papel**

Para la fabricación de pasta de papel se utilizan diversos materiales lignocelulósicos de origen forestal y agrícola. La madera es actualmente el material lignocelulósico más utilizado para la fabricación de pasta de papel en los países desarrollados. Además de la madera se pueden utilizar plantas herbáceas, que constituyen una alternativa a los cultivos forestales en los países en vía de desarrollo. En los países industrializados, las plantas herbáceas se usan para la producción de papeles especiales. Por otro lado, el propio papel viejo puede ser reciclado, constituyendo por lo tanto una fuente de materia prima para la obtención de pasta de papel.

#### 1.2.1.1. Fibras procedentes de madera

Las coníferas constituyen el primer cultivo forestal a escala mundial para la obtención de pasta de papel, aunque también existe un importante mercado de pastas de frondosas. La madera de coníferas es blanda y fácil de trabajar. Las principales maderas de coníferas usadas para la fabricación de pasta de papel son la picea y el pino. La madera de coníferas se caracteriza por presentar fibras largas, con una longitud comprendida entre los 3 y 5 mm. Las fibras largas forman una capa fibrosa más coherente y por lo tanto son adecuadas para la fabricación de papeles de elevada resistencia mecánica. Este papel es ideal para hacer productos que requieren mayor consistencia. Como desventaja, tiene que el producto final es más áspero, por lo que no lo hace muy apto para papel de escritura, de impresión u otras aplicaciones similares.

La madera de frondosas, por su parte, es una madera dura. Las principales maderas de frondosas usadas para la fabricación de pasta de papel son el eucalipto, el abedul, el álamo o el haya. La madera de frondosas se caracteriza por presentar fibras cortas, con una longitud comprendida entre los 0,75 y los 2 mm de largo. El papel fabricado con especies de frondosas es más débil que los fabricados con maderas de coníferas pero su superficie es más lisa, y por lo tanto, es mejor para papel de escritura. Otra de las ventajas es que el crecimiento de las especies de frondosas utilizadas en la fabricación de pasta de papel es más rápido que el de las coníferas, dando lugar a mayor cantidad de fibra en menos tiempo.

#### 1.2.1.2. Fibras procedentes de plantas herbáceas

Los cultivos de plantas anuales constituyen una alternativa a los cultivos forestales para diferentes usos industriales. Esta posibilidad tiene especial interés para países con escasos recursos forestales y para los que disponen de residuos agrícolas fibrosos o cultivos de plantas fibrosas no madereras. En los países industrializados las fibras no madereras se utilizan para producir papeles especiales, sin embargo, en otros países (en vías de desarrollo) son la principal materia prima para la fabricación de papel, así, en China suponen el 60% de las fibras utilizadas para la producción de papel. Las especies más utilizadas son algodón, cáñamo, lino o paja de cereales.

Uno de los hechos apremiantes que conducen a la utilización de materia prima no maderera es su conocida abundancia que sobrepasa la utilización actual. Un beneficio relacionado con el anterior es la reutilización de terrenos agrícolas abandonados o en vías de reconversión. Existe en Europa, en algunos sectores, una sobreproducción de alimentos y los subsidios a la agricultura son una de las principales sangrías económicas de la UE. Grandes áreas de terreno agrícola han sido ya sustraídas a la producción de alimentos y de acuerdo con la actual política agrícola comunitaria, esta reducción continuará. Una alternativa para el aprovechamiento de estos terrenos sería su utilización para cultivos agro-industriales, en el presente caso cultivos destinados a la producción de pasta de papel, o energéticos.

A escala mundial, las fibras no madereras aportan una pequeña parte de la materia prima suministrada para la fabricación de papel, habiéndose incrementado su utilización en los últimos años. En el caso concreto de España, en la actualidad hay una producción de unas 12 mil toneladas de pastas celulósicas fabricadas con especies no madereras, lo que supone un 0,62% de producción de pastas de fibras no madereras respecto de la producción total de pastas papeleras (FAO, 2006) (Tabla 1).

En nuestro país, la empresa CELESA fabrica pasta de papel a partir de fibras no madereras. Dicha empresa ha suministrado las fibras estudiadas en esta Tesis y utiliza lino, cáñamo, yute, sisal y abacá para fabricar pasta para papeles especiales de distintas características, tales como papeles de cigarrillo, filtros especiales o papeles dieléctricos.



**Tabla 1.** Producción de pasta celulósicas en el Mundo y en España durante el periodo 2000-2004 (FAO, 2006).

<b>Producción pastas (Miles de t)</b>		<b>2000</b>	<b>2001</b>	<b>2002</b>	<b>2003</b>	<b>2004</b>
<b>Mundo</b>	Madera	171.742	165.509	167.848	171.048	174.634
	Fibras no madereras	18.224	18.407	15.903	16.855	17.351
	Total	189.966	183.916	183.751	187.903	191.985
	% Utilización fibras no madereras	9,60	10,00	8,65	8,97	9,04
<b>España</b>	Madera	1750	1721	1721	1894	1905
	Fibras no madereras	12	12	12	12	12
	Total	1762	1733	1733	1906	1917
	% Utilización fibras no madereras	0,68	0,69	0,69	0,63	0,62

### 1.2.2. Procesos de producción de pasta de papel

El objetivo de los procesos de pasteado es la separación de las fibras celulósicas que constituyen la materia prima para la obtención de la pasta que alimenta la máquina de papel. Básicamente, los procesos de obtención de pastas de papel se clasifican en mecánicos y químicos. Combinaciones de éstos dan lugar a procedimientos intermedios o semiquímicos. A continuación se incluye una breve descripción de los principales procesos.

#### 1.2.2.1. Procesos mecánicos

El tratamiento mecánico tiene como objetivo la disgregación y separación física de las fibras. La lignina que une la celulosa a las hemicelulosas no se disuelve. Las especies utilizadas para la fabricación de pasta mecánica son las maderas de coníferas aunque también se usan frondosas. La fabricación de pastas mecánicas ofrece la ventaja de dar como resultado rendimientos elevados (90-95%).

#### 1.2.2.2. Procesos químicos

En el pasteado o cocción química, la deslignificación se lleva a cabo con la ayuda de agentes químicos ácidos o básicos, en digestores o reactores a altas temperaturas y presiones. La pasta se produce con disolución de la lignina que se encuentra entre las fibras del material lignocelulósico, sin dañar sustancialmente la celulosa. En el pasteado químico los rendimientos son normalmente de 40 a 60%, ya que la mayor parte de la lignina y las hemicelulosas se pierden, el producto es más resistente y de mejor calidad. Los métodos químicos se dividen fundamentalmente en ácidos o alcalinos dependiendo del pH del reactivo.

Proceso a la sosa. Es el más antiguo y simple de los procesos químicos alcalinos. El proceso de cocción se realiza con sosa cáustica y vapor a alta presión y temperatura. Esta operación se efectúa en digestores continuos. El hidróxido de sodio, o sosa cáustica, es un producto muy útil para la deslignificación de materias primas vegetales, principalmente de maderas, pajas de cereales y plantas fibrosas en general. Además de la sosa cáustica, en el proceso de cocción se usa antraquinona (AQ), proceso a la sosa-AQ, que funciona como catalizador. Este aditivo presenta dos efectos fundamentales como son la aceleración del proceso de deslignificación alcalino y la estabilización de los carbohidratos, mejorando además los rendimientos respecto al proceso convencional en las mismas condiciones de operación.

Proceso kraft o al sulfato. El proceso kraft para la obtención de pasta de papel es un proceso químico alcalino que deriva del proceso a la sosa. En este proceso, además de hidróxido de sodio se utiliza el sulfuro sódico, siendo estos agentes de cocción conocidos como lejías blancas. El proceso se lleva a cabo en digestores que pueden ser tanto discontinuos como continuos, en los que se introducen las astillas junto a las lejías blancas llevándose a cabo la cocción a elevada temperatura (150-170°C) y presión. De un modo general, el proceso tiene lugar con una concentración de reactivos del 16-20% (expresados como peso de  $\text{Na}_2\text{O}$ , en relación al peso de la madera) y sus rendimientos varían entre un 40 y 60%. La ventaja de este proceso es que requiere tiempos de cocción relativamente bajos pues el sulfuro acelera la deslignificación reduciendo la degradación del material celulósico y produciendo así pastas de mejor calidad. La resistencia es su principal característica de donde deriva su nombre “kraft”, del alemán resistencia.

Proceso al sulfito ácido. Este proceso se fundamenta en una deslignificación con sulfitos y bisulfitos, siendo el segundo grupo más utilizado en los procesos químicos de obtención de pasta de papel. Está limitado en cuanto a los tipos de madera que se pueden utilizar y por la contaminación creada al eliminar la lejía negra residual sin tratar (tratamiento muy caro). A pesar de ocurrir la digestión en medio ácido, existen variantes en las que se utilizan un medio neutro o un medio alcalino. La lejía de cocción es de ácido sulfuroso y bisulfito de calcio. En estos procesos también se degradan los hidratos de carbono por destrucción de los enlaces glicosídicos, lo que provoca una disminución del grado de polimerización todavía mayor que en los procesos kraft siendo la pasta resultante menos resistente, pero por el contrario estas pastas son más fáciles de blanquear.

### 1.2.3. Proceso de blanqueo de pasta de papel

Durante las cocciones químicas se elimina la mayor parte de la lignina presente en la materia prima utilizada para la fabricación de pasta de papel, pero la lignina residual que queda en la pasta presenta un color oscuro como consecuencia de las reacciones de oxidación durante la cocción. El blanqueo tiene como objetivo eliminar estos restos de lignina que son responsables del color de las pastas. Los reactivos comerciales más utilizados para el blanqueo son o han sido el cloro gas, el hipoclorito, el peróxido de hidrógeno y el dióxido de cloro. El proceso de blanqueo ha sido una de las secciones de la industria de pasta y papel que ha sufrido más cambios durante los últimos años. La decisión de eliminar el cloro y, en algunos casos el dióxido de cloro, en las secuencias de blanqueo se debe a la necesidad de reducir las emisiones de AOX en los efluentes. El desarrollo de leyes más restrictivas con respecto a los procesos contaminantes (Brooks *et al.*, 1994) y en especial contra los compuestos clorados, calificados como contaminantes prioritarios por la EPA por su persistencia en el suelo y el agua, ha llevado a una parte de la industria europea de pasta y papel (especialmente a la de los países nórdicos) a introducir secuencias de blanqueo de la pasta de papel totalmente libres de cloro (blanqueo TCF, “totally chlorine free”) basadas principalmente en el blanqueo con peróxido de hidrógeno, oxígeno y ozono. Otra parte de la industria papelera mundial, incluyendo buena parte de la industria norteamericana de este sector, ha eliminado el Cl<sub>2</sub> pero continúa utilizando dióxido de cloro en el blanqueo (blanqueo ECF, “elementary chlorine free”). La novedad de las secuencias de blanqueo TCF obliga a solucionar nuevos problemas que se describen en el apartado siguiente. En España, diversas empresas papeleras, incluyendo CELESA (que ha suministrado las fibras y pastas estudiadas en la presente Tesis) han realizado un considerable esfuerzo de inversión y modernización de sus fábricas con objeto de adaptarlas a las modernas tecnologías ECF y TCF.

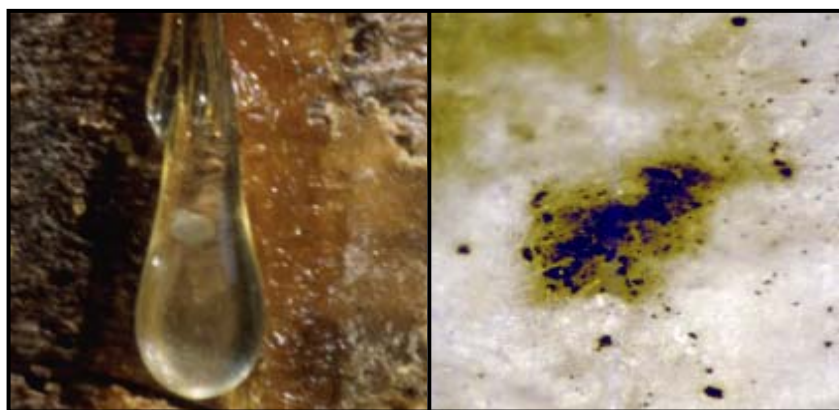
### 1.2.4. Calidad de las pastas

La fabricación de pastas de papel mediante tecnologías menos contaminantes ha traído consigo nuevos problemas en el blanqueo de la pasta, que no se daban al utilizar reactivos más agresivos (aunque también más contaminantes) y/o en sistemas con un menor grado de cierre de los circuitos.

La acción deslignificante del oxígeno se conoce desde hace tiempo pero el desarrollo del blanqueo con oxígeno ha sido bastante lento por la degradación de la celulosa y demás polisacáridos de la madera. Como consecuencia, el blanqueo con oxígeno viene acompañado a menudo por pérdidas de rendimiento y viscosidad de la pasta. Las ventajas del peróxido se apoyan en su facilidad de manipulación y

aplicación, su versatilidad y la naturaleza relativamente inocua de los productos de reacción. Una parte de los problemas que han surgido con la introducción de estos reactivos está relacionada con la blancura de las pastas, porque de momento ni el oxígeno ni la combinación de oxígeno y peróxido pueden igualar la eficacia de la cloración para la eliminación de los productos derivados de la lignina, responsables del color de las pastas. La modificación de los procesos de cocción, con objeto de obtener pastas con menores contenidos en lignina, representa otra alternativa para facilitar la blanqueabilidad de las pastas.

Otra parte de estos problemas está relacionada con los extraíbles de los materiales lignocelulósicos descritos anteriormente. Entre los problemas causados por este tipo de compuestos ocupa un lugar importante la formación de depósitos de "pitch" en las máquinas de papel (que obligan a realizar paradas técnicas) y en la misma pasta (Allen, 1980; Hillis y Sumimoto, 1989). Estos últimos reducen drásticamente la calidad del producto final (Figura 7). Generalmente el término "pitch" se aplica tanto a los extraíbles lipofílicos de la madera como a los depósitos que estos lípidos causan durante el proceso de fabricación de la pasta y el papel. Muchos de estos compuestos estaban presentes en concentraciones más bajas cuando se utilizaban volúmenes de agua mayores en el lavado de la pasta y menor grado de cierre de los circuitos. Por otro lado, aunque no se conoce adecuadamente la posible incidencia medioambiental de estos compuestos en los vertidos (Swan, 1989), ya se ha indicado anteriormente que algunos de ellos pueden ser fuertemente tóxicos.



**Figura 7.** Imagen de la resina en el árbol (izquierda) y de los depósitos de "pitch" en la pasta (derecha).

La problemática del "pitch" es muy compleja porque varía con la materia prima así como con el proceso empleado para la fabricación de pasta y papel. La formación de los depósitos de "pitch" durante la fabricación de pastas de papel a partir de coníferas ha sido estudiado desde hace años, dado el uso mayoritario de este tipo de madera en los principales países productores de pasta (USA, Canadá y países nórdicos de la UE), sin embargo la formación de estos depósitos en procesos que utilizan madera de frondosas está menos estudiada y prácticamente no existe información en la literatura sobre dicha problemática en la fabricación de pasta de papel a partir de fibras de plantas herbáceas (Gutiérrez y del Río, 2005).

En la presente Tesis se plantea el estudio de las fracciones de lignina y compuestos extraíbles, introducidos en los apartados precedentes, en diferentes fibras de plantas herbáceas utilizadas en nuestro país como materia prima para la fabricación de pastas de papel de alta calidad. Estas pastas de papel de alta calidad se obtienen mediante procedimientos químicos, como las cocciones alcalinas (cocción sosa-AQ) seguidas de blanqueo libre de cloro. La información obtenida en el presente estudio servirá para mejorar en el futuro algunos de los aspectos de estos procesos descritos anteriormente.

## **2. OBJETIVOS**



El objetivo general de esta Tesis es llevar a cabo una caracterización química de las fibras de diversas plantas herbáceas que se utilizan para la fabricación de pasta de papel de alta calidad, con objeto de poder mejorar posteriormente los procesos industriales en los que se utilizan como materia prima.

La caracterización de las fibras a estudiar se centra principalmente en dos de las fracciones que, por su difícil degradabilidad, presentan una importancia significativa en la fabricación de pasta de papel. Estas dos fracciones son: i) el polímero de lignina, cuya composición varía entre las distintas especies y ii) los compuestos extraíbles que presentan también composiciones diferentes según el tipo de material lignocelulósico.

Los objetivos específicos de la Tesis incluyen:

- Una caracterización general de las diferentes fibras seleccionadas (lino, cáñamo, kenaf, yute, sisal y abacá) basada en la cuantificación de las principales fracciones (lignina, polisacáridos, extraíbles totales, cenizas, etc.).
- El fraccionamiento del material extraíble y la caracterización cromatográfica de los compuestos lipofílicos con objeto de definir su composición en las diferentes especies vegetales y los cambios estructurales producidos después de la cocción alcalina.
- La caracterización del polímero de lignina en estas fibras y el estudio de los cambios estructurales producidos durante la cocción alcalina. Por lo tanto, también se estudia la composición de las ligninas alcalinas obtenidas después del proceso de cocción.

La novedad y relevancia de los objetivos planteados radica en el hecho de que las fibras a analizar han sido escasamente estudiadas a pesar de su gran valor como materias primas industriales para la fabricación de pastas de alta calidad para papeles especiales.





### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**



### 3.1. MATERIALES

Para este trabajo se han seleccionado diversas fibras de plantas herbáceas utilizadas para la fabricación de pasta de papel de alta calidad. También se seleccionaron pastas de papel y ligninas aisladas del proceso sosa-antraquinona para determinar las modificaciones y los cambios estructurales producidos durante la cocción alcalina.

#### 3.1.1. Fibras

Las fibras utilizadas para este estudio fueron suministradas por la empresa CELESA (Tortosa, Tarragona), e incluyen fibras de tallos de lino, cáñamo, kenaf y yute (con un porcentaje entre el 15 y 20% de fibras del leño) así como fibras de hojas de sisal y abacá. Todas las fibras se molieron finamente con un molino de cuchillas (Janke y Kunkel, Analysenmühle) antes de los análisis.

##### 3.1.1.1. Lino

El lino (*Linum usitatissimum*) es una planta herbácea anual dicotiledónea de la familia de las Lináceas. Es oriunda del Cáucaso y se ha cultivado en grandes plantaciones no sólo en Europa y Asia, sino en Australia, Argentina o Brasil. En la Figura 8 se muestran las fotografías de la planta de lino y de su fibra correspondiente.



**Figura 8.** Planta (izquierda) y fibras (derecha) de lino.

Existen principalmente dos tipos de lino, el lino oleaginoso, cultivado por el aceite de sus semillas, y el lino textil, cultivado por las fibras de sus tallos. El

*L. usitatissimum* es el único miembro de la familia importante para la producción de fibra. Este cultivo tiene relevancia en Europa y en otras partes del mundo y en la actualidad existe un interés creciente en Estados Unidos en la producción de fibras de lino para uso textil y para la fabricación de productos de alto valor añadido (Morrison y Akin, 2001).

La altura de la planta varía desde los 25 cm en variedades oleaginosas hasta 150 cm en algunas variedades de lino textil. La planta de lino tiene dos regiones en el tallo, una formada por fibras largas liberianas y una interna que contiene fibras cortas del leño. La longitud de las fibras liberianas varía entre 10 y 55 mm y el ancho entre 12 y 30  $\mu\text{m}$  (García Hortal, 1993). Las fibras leñosas son más parecidas morfológicamente a las fibras de frondosas, con una longitud entre 0,05 y 0,5 mm y una anchura entre 10 y 30  $\mu\text{m}$ . Las fibras liberianas se separan normalmente de los tejidos del tallo por un procedimiento denominado enriado (proceso hidrolítico en el que participan enzimas de hongos y bacterias que disuelven las pectinas que mantienen adheridas las fibras), y se usan en la industria textil y en la fabricación de papeles de calidades especiales. Las fibras de lino proporcionan unos papeles densos, resistentes y permanentes, ideales para papeles especiales como papel moneda o papel de registro permanente de alta calidad y papel de cigarrillos.

#### 3.1.1.2. Cábano

El cábano (*Cannabis sativa*) es una planta herbácea anual dicotiledónea de la familia de las Cannabináceas. Es originario de Asia central y se ha cultivado en China desde la antigüedad. En la actualidad se cultiva principalmente en Europa central y en los países balcánicos, Rusia, China, Turquía, Japón, Chile y Canadá. En la Figura 9 se muestran las fotografías de una planta de cábano y de su fibra correspondiente.



**Figura 9.** Planta (izquierda) y fibra (derecha) de cábano.

El cáñamo industrial y la marihuana (Vantreese, 1998; USDA, 2000) son dos variedades diferentes de la especie *C. sativa*. Ambas contienen concentraciones variables de 9- $\delta$ -tetrahidrocannabinol, THC (principio psicoactivo). Por definición, el cáñamo industrial se refiere a las variedades de *C. sativa* que contienen menos del 1% de THC (Vantreese, 1998, Bowyer, 2001). La mayoría de los países desarrollados que permiten el cultivo de cáñamo industrial, limitan la producción de estas variedades a menos del 0,3% THC, por lo que el cáñamo que se cultiva con fines industriales contiene niveles de cannabinoides muy bajos.

El cáñamo crece en cualquier latitud, excepto en los polos, no exige grandes inversiones siendo muy competitivo con las malas hierbas, por lo que generalmente son innecesarios los herbicidas en su producción (Struik *et al.*, 2000), lo que favorece su uso como materia prima. El tallo de la planta del cáñamo tiene morfológicamente dos regiones diferenciadas con diferentes composiciones químicas. La parte externa contiene fibras largas liberianas (con menor contenido en lignina) y la interna posee fibras cortas del leño (con mayor contenido en lignina). La longitud de las fibras liberianas varía entre 5 y 50 mm y el ancho alrededor de los 40  $\mu$ m, mientras que la longitud de las fibras del leño es de alrededor de 0,55 mm y una anchura de 22  $\mu$ m (Zomers *et al.*, 1995).

La enorme versatilidad del cáñamo, debido a la gran variedad de usos que se le atribuyen a esta planta y a sus derivados, le otorga un poderoso potencial para competir con otras fibras en el mercado. El sector del papel es un mercado potencial importante para la fibra industrial del cáñamo. Como otras fibras no madereras, las ventajas del papel hecho con fibras industriales del cáñamo son su fuerza y longitud. El principal uso está en papeles especiales que requieren una fibra más fuerte y en algunos casos, una fibra que sea más fuerte cuando se moja. Del cáñamo se obtiene papel de altísima calidad, como el papel de fumar, papel biblia, filtros de café, bolsitas de té, papel aislante, pañales y varios tipos de papel para las artes.

#### 3.1.1.3. Kenaf

El kenaf (*Hibiscus cannabinus*) es una planta herbácea anual dicotiledónea de la familia de las Malváceas. Se cultiva en regiones tropicales y subtropicales, aunque se desarrolla mejor en las regiones tropicales, resultando ser un cultivo muy sensible a las heladas. Su fibra se ha utilizado en Asia y África desde hace varios cientos de años y ha sido cultivado en la India, Pakistán y China entre otros países. En la Figura 10 se muestran las fotografías de una planta de kenaf y de su fibra correspondiente.



**Figura 10.** Planta (izquierda) y fibra (derecha) de kenaf.

La planta de kenaf contiene fibras moderadamente largas en la parte externa del tallo y fibras cortas en el núcleo. La longitud de las fibras liberianas es alrededor de 2,5 mm mientras que la de las fibras del leño es del orden de 0,6 mm (Pande y Roy, 1998). Ambas son apropiadas para la fabricación de papel y otros productos, siendo las fibras largas especialmente adecuadas para la fabricación de papeles de calidad especial.

El comercio mundial de kenaf cobra cada día mayor importancia pues ha pasado de ser un cultivo puramente textil (como la producción de sacos para envasar productos agrícolas y de la industria) a un cultivo en el cual cada vez es más importante la variedad industrial de sus usos, incrementándose así su valor económico, máxime cuando se está imponiendo a nivel mundial la vertiente ecológica de su plantación productiva como alternativa a la madera en la elaboración de pasta papelera de alta calidad y bajo costo (Kaldor *et al.*, 1990; Sabharwal *et al.*, 1994). Entre las propiedades de sus fibras destaca la porosidad, la resistencia y la elasticidad, siendo una excelente materia prima para la fabricación de papel para bolsas de té y filtros de café. Al tener el papel de kenaf buena adherencia también se utiliza como papel de imprenta.

#### 3.1.1.4. Yute

El yute (*Corchorus capsularis*) es una planta anual dicotiledónea de la familia de las Tiliáceas. Se pueden explotar varias especies de este género para obtener fibras pero las dos especies que se cultivan principalmente para este propósito son el *C. capsularis* y el *C. olitorius* (centrándose este estudio en el primero). En la

Figura 11 se muestran las fotografías de una planta de yute y de su fibra correspondiente.



**Figura 11.** Planta (izquierda) y fibra (derecha) de yute.

El yute se cultiva desde tiempos remotos en la región del Golfo de Bengala. En la actualidad, la producción se concentra principalmente en India y Bangladesh, pero se cultiva en numerosos países como Brasil, Camboya, Camerún, China, Egipto, Irán, Pakistán, Perú, Tailandia y Vietnam.

La planta de yute, de tipo herbáceo, mide de 3 a 4 m de altura. El yute crece en un clima caliente y húmedo, sobre un suelo de tipo aluvial o arcillo-arenoso. La longitud de las fibras varía de 2 a 5 mm (Han, 1998) siendo la fibra de yute explotable la de los vasos de floema situados bajo el tallo principal. La principal utilización conocida del yute es la fabricación de sacos para el transporte de materias agrícolas como el café, el cacao o el arroz. Además de esta utilización, la confección de alfombras, piezas de tela, hilo y cuerdas son los principales mercados para los países en desarrollo. Estos productos son consumidos localmente o exportados tanto hacia países industrializados como hacia países en desarrollo. Como consecuencia de la severa competencia que existe por parte de los productos sintéticos y del transporte a granel, han aparecido nuevos mercados para los productos del yute. Además del uso tradicional que se le da a esta planta, se está imponiendo su plantación en la elaboración de pasta papelera debido a las propiedades de sus fibras, porosidad, largura y elasticidad. Entre sus usos destaca su utilización para bolsas de té y papel de fumar.



#### 3.1.1.5. Sisal

El sisal (*Agave sisalana*) es una planta monocotiledónea de la familia de las Agaváceas. Es una planta robusta que puede soportar condiciones muy secas, siendo esencialmente una planta de zonas tropicales. Originaria de América central y México, la mayor producción se centra en Brasil, este de África e Indonesia. En la Figura 12 se muestran las fotografías de la planta de sisal y de las fibras obtenidas de sus hojas.



**Figura 12.** Planta (izquierda) y fibra (derecha) de sisal.

Las fibras de sisal se obtienen de las hojas de la planta, tras ser cortadas y descortezadas. El descortezado se debe hacer tan pronto como sea posible una vez cortadas para reducir el deterioro de las fibras. Las fibras se extraen de las hojas por un proceso de trituración y de raspado para eliminar la materia verde que las rodea. La longitud de la fibra varía entre 2 y 4 mm (McDougall *et al.*, 1993). Estas fibras se emplean principalmente en la fabricación de cuerdas y papeles especiales debido, sobre todo, a la alta porosidad de sus pastas, haciendo de las fibras de sisal un excelente material para la obtención de papel para bolsas de té, papeles dieléctricos, papel de filtro, etc. Por otra parte, también se utiliza como refuerzo para los papeles delgados (Moore, 1996).

#### 3.1.1.6. Abacá

El abacá (*Musa textilis*), también denominado cáñamo de Manila, es una planta herbácea monocotiledónea que pertenece a la familia de las Musáceas. Es nativa de Filipinas y las dos áreas de producción son el sur de Filipinas, Malasia y Sumatra

(en Asia) y Panamá, Costa Rica, Honduras, y Guatemala (en América), siendo Filipinas, el principal productor con un 85% de la producción mundial (Peralta, 1995). En la Figura 13 se representan dos fotografías, una de la planta de abacá y otra de las fibras obtenidas de sus hojas.



**Figura 13.** Planta (izquierda) y fibra (derecha) de abacá.

La planta se asemeja a la del platanero, pero con hojas más pequeñas y frutos no comestibles. Es una hierba con aspecto de árbol que crece por encima de los 6 m, con un tronco formado por la superposición de hojas. Las fibras se extraen de las capas superficiales de las envolturas de las hojas. La longitud de la fibra varía entre 2,5 y 12 mm y el diámetro entre 16 y 32  $\mu\text{m}$  (Moore, 1996). Es una fibra fuerte, tersa, rígida, ligera de peso, de color crema y resistente al agua salada. Su uso ha sido muy variado a lo largo de la historia, siendo la utilización más conocida la fabricación de redes de pesca. En el sector papelerero, los papeles producidos son altamente porosos, una característica especialmente conveniente para la fabricación de papeles de bolsitas de té y de envolturas de embutidos. Debido a sus características, se considera una excelente materia prima para la fabricación de papel de seguridad y de alta calidad, como papel moneda, pañales, servilletas, papel tisú, filtros para maquinaria, accesorios para hospitales (mandiles, gorras, guantes) y cables de conducción eléctrica, entre otros.

### **3.1.2. Pastas sosa/AQ**

Las pastas de papel seleccionadas para este estudio fueron suministradas por la empresa CELESA e incluyen dos pastas alcalinas de lino de distinto número kappa

(kappa 28 y kappa 6) y una pasta de papel de kenaf (kappa 6) obtenidas tras cocción sosa/AQ (Holton, 1977). Las pastas se secaron en una estufa de aireación a 40°C antes de los análisis.

### 3.1.3. Ligninas alcalinas

Las ligninas procedentes de la cocción alcalina de las distintas fibras seleccionadas fueron obtenidas en la empresa CELESA, donde se aislaron de los líquidos de cocción por precipitación ácida y se lavaron con agua antes del análisis.

## 3.2. MÉTODOS ANALÍTICOS

La determinación cuantitativa de las diversas fracciones se obtuvo mediante un fraccionamiento secuencial. En primer lugar, las fibras se extrajeron con acetona separándose la fracción lipofílica y a continuación se extrajeron con agua destilada en caliente para obtener la fracción hidrosoluble. Posteriormente, las fibras libres de extraíbles e hidrosolubles se sometieron a una hidrólisis ácida obteniéndose por una parte la lignina Klason (precipitado) y por otro lado la lignina soluble en ácido. Finalmente, se analizó la composición química de los monosacáridos neutros del hidrolizado resultante. Por otra parte, la composición química de la lignina y la determinación de las cenizas se midieron “*in situ*”.

### 3.2.1. Análisis de la fracción extraíble lipofílica

#### 3.2.1.1. Extracción de los compuestos lipofílicos

Las fibras molidas (2-5 g), así como las pastas, se depositaron en un cartucho de celulosa y se extrajeron con acetona en un Soxhlet durante 8 h. Una vez concluida la extracción se evaporó el disolvente a sequedad en rotavapor y posteriormente se pasó a un vial donde se terminó de secar con corriente de nitrógeno. Los viales, previamente tarados, se pesaron para determinar la cantidad de material extraído. Los extractos se redisolviéron totalmente en cloroformo para el análisis cromatográfico por GC y GC/MS. Las extracciones y los análisis se realizaron por duplicado.

#### 3.2.1.2. Fraccionamiento de los lípidos mediante extracción en fase sólida (SPE)

Para llevar a cabo una caracterización más detallada de algunos compuestos de interés presentes en los extractos se procedió a su aislamiento y purificación mediante SPE. En el método SPE utilizado, los compuestos lipofílicos se retuvieron en la columna y se eluyeron por orden creciente de polaridad. El

extracto lipídico de las fibras se fraccionó por un procedimiento SPE desarrollado por Gutiérrez *et al.* (1998) en cartuchos (500 mg) con fase aminopropilo (Waters, Millipore). El extracto seco (5-10 mg) se suspendió en un volumen mínimo (<0.5 ml) de hexano-cloroformo (4:1) con el que se cargó el cartucho, previamente acondicionado con hexano (4 ml). La primera fracción se eluyó con 8 ml de hexano (fracción A, contiene los compuestos más apolares como ésteres de esteroides, ceras e hidrocarburos), la segunda con 6 ml de hexano-cloroformo (5:1) (fracción B, rica en triglicéridos), la tercera con 10 ml de cloroformo (fracción C, contiene principalmente esteroides y alcoholes libres) y la cuarta fracción con 10 ml de una mezcla de éter etílico-ácido acético (98:2) (fracción D, compuestos ácidos). Cada fracción aislada se llevó a sequedad con nitrógeno, se pesó y se analizó por GC y GC/MS.

#### 3.2.1.3. Cromatografía en capa fina (TLC)

La TLC se utilizó para aislar y purificar el compuesto mayoritario presente en el extracto de algunas fibras de abacá para su posterior análisis por NMR. Para ello, una pequeña cantidad del extracto disuelto en cloroformo se depositó mediante una micropipeta en la parte inferior de la placa (20 x 20 cm, sílica gel 60, 2 mm, Merck) y se usó una mezcla hexano-acetato de etilo (80:20) como fase móvil. Las distintas bandas se localizaron con una lámpara de ultravioleta. Posteriormente, se recuperó el compuesto recogiendo la banda que lo contenía. Seguidamente, se filtró en un embudo y se arrastró con metanol y se recogió en un matraz de fondo redondo. Tras lavarlo varias veces más con metanol se llevó a sequedad en rotavapor y se recuperó con metanol. Una vez recuperado se secó con corriente de nitrógeno.

#### 3.2.1.4. Saponificación de ésteres de esteroides

La identificación completa de la estructura de los ésteres de esteroides por GC/MS no es posible debido a que los espectros de masas sólo muestran fragmentos procedentes de la molécula del esteroide y raramente presentan iones moleculares detectables (Lusby *et al.*, 1984; Evershed *et al.*, 1989). La fracción A obtenida tras SPE del extracto de las fibras (enriquecida en ésteres de esteroides) se hidrolizó a reflujo con una disolución de hidróxido potásico 0,5 M al 90% en etanol durante 8 h (Gutiérrez *et al.*, 1999). Una vez concluida la saponificación y enfriada la solución, la fracción neutra se extrajo con hexano (3 x 20 ml), eliminando los restos de humedad con sulfato sódico anhidro. Posteriormente, la fracción neutra se llevó a sequedad en rotavapor. Por otra parte, la fase acuosa se acidificó con ácido clorhídrico 6 M y la fracción ácida se extrajo con hexano (3 x 20 ml). Los ácidos grasos libres se recuperaron después de eliminar la humedad del extracto con sulfato sódico anhidro y evaporar el disolvente en el rotavapor. Ambas fracciones se analizaron por GC y GC/MS.

### 3.2.1.5. Cromatografía de gases (GC)

Los análisis cromatográficos de los extractos se llevaron a cabo en un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard HP-5890 equipado con un detector de ionización de llama (FID) y una columna capilar corta de sílice fundida (DB-5HT, J&W; 5 m x 0,25 mm ID, espesor de película 0,1  $\mu\text{m}$ ). El programa de calentamiento del horno empezó a 100°C (1 min), seguido de un incremento de temperatura hasta 350°C (3 min) a 15°C/min. La temperatura del inyector y del detector se mantuvieron a 300°C y 350°C, respectivamente. El gas portador fue helio y la inyección se realizó en modo splitless.

### 3.2.1.6. Cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS)

El análisis por GC/MS se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases Varian Star 3400 acoplado a un detector de trampa de iones (ITD, Varian Saturn 2000), usando una columna capilar de sílice fundida (DB-5HT, J&W; 12 m x 0,25 mm ID, con espesor de película de 0,1  $\mu\text{m}$ ). El horno se calentó de 120°C (1 min) a 380°C (5 min) a 10°C/min. La línea de transferencia se mantuvo a 300°C. La temperatura del inyector se programó de 120°C (0,1 min) a 380°C con una rampa de 200°C/min y manteniéndose hasta el final del análisis. Se usó helio como gas portador. La identidad de cada componente se determinó por comparación de sus espectros de masas con los de sustancias patrones inyectados en las mismas condiciones, con los existentes en librerías (Wiley, NIST), con espectros publicados anteriormente y por los tiempos de retención.

### 3.2.1.7. Métodos de derivatización

Muchos compuestos orgánicos no pueden analizarse en condiciones óptimas por GC debido a su baja volatilidad y/o inadecuada separación en columnas de poca polaridad. En estos casos es necesario recurrir a métodos de derivatización para hacerlos más volátiles. Las técnicas empleadas en este trabajo incluyeron la metilación de grupos carboxilo y la silanización de grupos hidroxilo.

Metilación con (trimetilsilil)diazometano. Se usó para metilar los grupos carboxílicos de ácidos grasos libres, hidroxiaácidos, etc. Este método también metila los grupos fenólicos. Una vez seca la muestra, se añadió 0,1 ml de metanol y 0,025 ml de una solución de trimetilsilil diazometano 2,0 M en hexano, se mantuvo 20 min en el baño de ultrasonidos. A continuación se evaporó con nitrógeno hasta sequedad, para resuspenderla en cloroformo y analizarla por GC/MS.

Silanización con N,O-bis-(trimetilsilil)-trifluoroacetamida (BSTFA). Se usó para silanizar los grupos hidroxilo de alcoholes, esteroides, etc. Una vez seca la muestra, se añadió 0,1 ml de BSTFA y 0,2 ml de piridina. A continuación se

calentó a 70°C durante 2 h y se evaporó la mezcla con nitrógeno hasta sequedad. Posteriormente, se redisolvió en cloroformo para analizarla por GC/MS.

#### 3.2.1.8. Métodos de cuantificación

En el presente estudio se utilizaron patrones externos para la cuantificación de los extractos lipofílicos. Para ello se usó una mezcla de compuestos (nonadecano, ácido palmítico, sitosterol, oleato de colesterol y trioleína) a una concentración de 0,2 mg/ml. Dicha mezcla de patrones se inyectó en las mismas condiciones cromatográficas que los extractos lipídicos de las fibras estudiadas. Las áreas obtenidas tras la inyección del patrón se extrapolaron respecto a la concentración de patrón inyectada y se compararon con las correspondientes a cada compuesto en las muestras problema.

#### 3.2.2. Determinación de la fracción hidrosoluble

El porcentaje de los compuestos hidrosolubles se determinó según la norma Tappi T 207 om-88. Para ello, los cartuchos con las muestras de fibras tras la extracción con acetona, una vez secos, se colocaron en matraces con 100 ml de agua destilada y se tuvieron en un baño a 100°C durante 3 h, al cabo de las cuales el extracto se concentró en rotavapor y se secó a 100°C para su determinación gravimétrica.

#### 3.2.3. Determinación de la lignina Klason o lignina ácido-insoluble

La lignina Klason se determinó según la norma Tappi 222- om88, con algunas modificaciones. Para ello, las fibras libres de extraíbles e hidrosolubles (300 mg) se hidrolizaron con ácido sulfúrico al 72% (p/p), a 30°C durante 1 h en frascos pyrex. Posteriormente, las soluciones se diluyeron con agua destilada hasta alcanzar una concentración de ácido sulfúrico del 4%, y se tuvieron durante 1 h a 110°C. Una vez enfriados, se filtraron a través de filtros de vidrio poroso (Vidra FOC 663/3), previamente tarados (4 h a 100°C). Los primeros 100 ml de los filtrados se recogieron para el posterior análisis de los azúcares libres. La lignina Klason se retuvo en los filtros de vidrio poroso. El residuo (lignina Klason) se lavó con agua destilada hasta pH neutro y se secó a 100°C, durante 4 h. Los porcentajes de lignina Klason se calcularon por diferencia de peso. El contenido en cenizas de la lignina Klason se determinó mediante la norma Tappi 211 om-85 tal como se describe para la fibra (ver apartado 3.2.7). Dicho contenido fue deducido del porcentaje total de lignina presente en las muestras.

#### **3.2.4. Determinación de la lignina ácido-soluble**

Para la determinación de la lignina ácido-soluble se cogieron pequeños volúmenes de los hidrolizados anteriores y se midieron en un espectrofotómetro Shimadzu UV-160 a una longitud de onda de 205 nm. El porcentaje de lignina ácido-soluble se calculó según la siguiente fórmula:  $L.A.S (\%) = A_{205} \times V (ml) / 1100 \times M (g)$ , donde “L.A.S” es el porcentaje estimado de lignina ácido soluble, “V” el volumen final del hidrolizado, “ $A_{205}$ ” la absorbancia a 205 nm y “M” el peso del material de partida.

#### **3.2.5. Determinación de la composición de los polisacáridos**

La composición en monosacáridos neutros de las fibras se determinó según la norma Tappi 249 om-85. Una vez realizada la hidrólisis ácida descrita en el apartado 3.2.3 se llevó a cabo la determinación de los azúcares libres presentes en las muestras. Se tomaron 3 ml de los hidrolizados y se añadió como patrón interno 1 ml de inositol (1 mg/ml) a cada muestra. Las muestras se neutralizaron con carbonato de bario hasta pH 7, y se centrifugaron a 9000 rev/min durante 5 min. Los sobrenadantes se recogieron en tubos de vidrio y se evaporaron a sequedad en rotavapor. Después, se desprendieron con agua destilada y se pasaron a un tubo de rotavapor donde se mezclaron con otros 0,5 ml de agua destilada y borohidruro sódico hasta pH básico, dejándolo reaccionar toda la noche. Posteriormente, se llevaron a pH ácido con ácido clorhídrico concentrado y se secaron en rotavapor. Al residuo se le añadieron 2 ml (x 3) de metanol que se evaporaron en el rotavapor para eliminar el borohidruro sódico. Una vez reducidas las muestras, se acetilaron con 0,25 ml de piridina y 0,25 ml de anhídrido acético, dejándolo reaccionar 1 h a 100°C antes de secarlas en rotavapor. Los acetatos de alditol se resuspendieron en cloroformo y se analizaron por GC en un cromatógrafo Perkin Elmer Sigma 3, utilizando una columna (2 m x 2 mm) con 3% SP-2340 sobre 100/120 Supelcoport como fase estacionaria, nitrógeno como gas portador (30 ml/min), una rampa de temperatura de 10°C/min desde 200°C (3 min isoterma) hasta 230°C (8 min isoterma) y un detector FID.

#### **3.2.6. Análisis de metales y otros elementos por espectrometría de emisión por plasma (ICP-OES)**

Las muestras de fibras, una vez lavadas y secas (70°C, 48 h), se molieron y se sometieron a digestión ácida. Para ello, se añadió 4 ml de ácido nítrico concentrado a 0,5 mg de muestra, manteniéndolas 15 min en un horno microondas (Jones & Case, 1990). Posteriormente se filtraron con filtro Whatman del número 2, y se

recogieron en un matraz que se enrasó hasta 50 ml. La concentración de metales y otros elementos en la disolución obtenida se determinó por ICP-OES en un espectrómetro Thermo Jarrell Ash, modelo IRIS Advantages.

### 3.2.7. Determinación del contenido en cenizas

Se determinó mediante la norma Tappi 211 om-85. Para ello, 200 mg de fibras se depositaron en crisoles de porcelana previamente tarados y se mantuvieron en la mufla a 575°C durante 6 h. Para tararlos, se limpiaron con ácido clorhídrico y se introdujeron en la mufla 575°C durante 1 h. Posteriormente se sacaron los crisoles de la mufla y se pesaron una vez que alcanzaron la temperatura ambiente en el desecador. Las cenizas resultantes se expresaron como porcentaje de la materia inicial.

### 3.2.8. Pirólisis-GC/MS (Py-GC/MS)

La pirólisis se llevó a cabo en un pirolizador de punto de Curie (Horizon Instruments Ltd.) acoplado a un GC/MS (Varian Saturn 2000) equipado con una columna DB-5 de 30 m x 0,25 mm ID (espesor de película de 0,25 µm). Aproximadamente 100 µg de muestra finamente dividida se depositaron en un hilo ferromagnético y se insertaron dentro de un tubo de cuarzo para ser introducidos en el pirolizador. La pirólisis se realizó a 610°C durante 4 s. El cromatógrafo se programó desde 40°C (1 min) hasta 300°C, con una rampa de 6°C/min, manteniéndose 20 min la temperatura final. A su vez, el inyector se programó desde 40°C a 300°C siendo la rampa de 200°C/min, mientras la interfase del GC-MS permaneció a 300°C.

Para la pirólisis en presencia de hidróxido de tetrametilamonio (TMAH), 100 µg de muestra se mezclaron con 0,5 µl de TMAH (25%, en metanol) y se depositaron en un hilo ferromagnético. Posteriormente, el hilo se insertó dentro del tubo de cuarzo y se introdujo en el pirolizador. Las condiciones de pirólisis fueron las mismas que las descritas anteriormente.

Los productos derivados de la pirólisis se identificaron por comparación de sus espectros con los publicados en la bibliografía (Ralph y Harfield, 1991; Faix *et al.*, 1990) y los encontrados en las librerías Wiley y NIST. La estimación de las abundancias molares relativas de los diferentes productos de pirólisis se calculó normalizando la suma de las áreas molares de todos ellos al 100%.



### 3.2.9. Resonancia Magnética Nuclear (NMR)

Para la determinación de la estructura del compuesto desconocido presente en algunas fibras de abacá, se recurrió a la técnica de NMR. La muestra para los experimentos de NMR se preparó en cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ), con una concentración *ca.* 10 mM. Los espectros de NMR se registraron en un espectrómetro Bruker AVANCE 500 MHz, equipado con una sonda triple con gradientes en el eje z, a una temperatura de 300 K. Las asignaciones de las señales se realizaron empleando las secuencias estándar COSY (Espectroscopía de correlación) (Aue *et al.*, 1976), NOESY (Espectroscopía de efecto nuclear Overhauser) (Neuhaus y Williamson, 1989), HSQC (Correlación heteronuclear a un enlace) (Santoro y King, 1992) y HMBC (Correlación heteronuclear en enlace múltiple) (Summers *et al.*, 1986), proporcionadas por Bruker.

Los experimentos COSY y NOESY se realizaron con 16 y 48 acumulaciones, respectivamente, usando una matriz de datos de 256 incrementos en la dimensión indirecta y adquiriendo 2048 puntos en la dimensión de adquisición. La anchura espectral fue de 9 ppm en ambas dimensiones. El experimento HSQC se realizó con 16 acumulaciones, usando una matriz de datos de 256 incrementos en la dimensión indirecta y adquiriendo 2048 puntos en la dimensión de adquisición. La anchura espectral fue de 150 ppm en la dimensión indirecta y de 9 ppm, en la de adquisición. El experimento HMBC se realizó con 32 acumulaciones, respectivamente, usando una matriz de datos de 256 incrementos en la dimensión indirecta y adquiriendo 2048 puntos en la dimensión de adquisición. La anchura espectral fue de 180 ppm en la dimensión indirecta y de 9 ppm en la de adquisición.

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**



#### 4.1. COMPOSICIÓN GENERAL DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES DE LAS FIBRAS

La caracterización general de las fibras incluye la cuantificación de las principales fracciones, polisacáridos, lignina, extraíbles totales, material hidrosoluble y cenizas. En la Tabla 2 se muestra la composición de los principales constituyentes de las fibras. En general, las fibras aquí estudiadas se caracterizan por un alto contenido en holocelulosa (81-92%) y un contenido bajo en lignina (4-16%). También se caracterizan por su bajo contenido en cenizas (0,2-2%) y extraíbles lipofílicos (0,4-0,7%) por lo que en general puede decirse que son buenas materias primas para la producción de pasta de papel, en lo que a composición química se refiere.

**Tabla 2.** Composición general (%) de los principales componentes de las fibras.

Muestras	Holocelulosa	Hidrosolubles	Lignina Klason	Lignina ácido-soluble	Extraíbles lipofílicos	Cenizas
<b>Lino</b>	92,0	1,3	2,9	1,6	0,7	1,5
<b>Cáñamo</b>	90,3	1,2	4,6	1,5	0,5	2,0
<b>Kenaf</b>	81,9	1,1	12,2	3,0	0,5	1,5
<b>Yute</b>	81,6	1,0	13,3	2,8	0,4	1,0
<b>Sisal</b>	85,0	0,5	10,8	3,0	0,5	0,2
<b>Abacá</b>	85,6	0,3	11,8	1,4	0,4	0,5

##### 4.1.1. Contenido en lignina Klason y lignina ácido-soluble

Para cuantificar el contenido en lignina de las fibras se utilizó el método Klason (determinación de la lignina ácido-insoluble). Los resultados obtenidos se corrigieron mediante la determinación del contenido en cenizas, evitando su sobreestimación por la presencia de las sustancias minerales (Lai y Sarkanen, 1971). El método Klason es probablemente el más conocido y utilizado para cuantificar el contenido de este polímero en diferentes sustratos lignocelulósicos (Effland, 1977), si bien no puede ser considerado como una preparación útil para el estudio de la estructura debido a que el tratamiento con el ácido resulta bastante agresivo dando lugar a una lignina muy condensada y alterada.

También se llevó a cabo la determinación de la lignina ácido-soluble (lignina no precipitada tras la hidrólisis con ácido sulfúrico) mediante espectrofotometría para obtener una mejor evaluación del contenido en lignina (Schöning y Johansson, 1965) debido a que un pequeño porcentaje de la lignina es soluble en ácido.

Los resultados del contenido en lignina en las diferentes fibras se muestran en la Tabla 2. Entre las fibras estudiadas hay que destacar el bajo contenido en lignina de las fibras de lino y cáñamo (2,9 y 4,6%, respectivamente). Estos valores son similares a los descritos en la bibliografía (Mc-Dougall *et al.*, 1993; van Dam, 1994; Moore, 1996; Lewin y Pearce, 1998; Kelley *et al.*, 2004). Por otro lado, el resto de fibras liberianas estudiadas (kenaf y yute) así como las fibras de hojas (sisal y abacá), presentan contenidos mayores de lignina (10,8-13,3%) encontrándose en el rango de los publicados en la bibliografía (Macmillan *et al.*, 1956; Mosihuzzaman *et al.*, 1982; Sun *et al.*, 1997; Seca *et al.*, 1998; Rowell y Stout, 1998; Mazumder *et al.*, 2005; Jiménez *et al.*, 2005).

Estos porcentajes indican que el contenido en lignina de estas plantas es significativamente inferior al de la madera, donde oscila entre el 26 y el 30% en las maderas de pino, chopo y picea (Moore, 1996) y el 22% en la madera de eucalipto (Botello *et al.*, 1999). Este bajo contenido en lignina es una de las ventajas que presentan estas fibras en el proceso de fabricación de pasta de papel, pues disminuye los requerimientos químicos para el blanqueo, siendo las cocciones que se realizan normalmente más suaves que las convencionales que emplean madera como materia prima. Sin embargo, aunque estas fibras posean un bajo contenido en lignina, la composición de la lignina influirá en gran medida en el proceso de fabricación de pasta de papel, al ser la eficacia y el rendimiento del proceso de deslignificación directamente proporcional a la cantidad de unidades de siringilo de la lignina (González-Vila *et al.*, 1999; del Río *et al.*, 2005).

#### **4.1.2. Contenido en cenizas y composición de metales y otros elementos de las fibras**

El contenido en cenizas de las fibras estudiadas se muestra en la Tabla 2. El porcentaje en cenizas de las fibras liberianas (lino, cáñamo, kenaf y yute) varía entre el 1 y el 2%. Estos valores son similares a los publicados por otros autores (Mosihuzzaman *et al.*, 1982; Rowell y Stout, 1998; Barba, 2002; Sain y Fortier, 2002; Khristova *et al.*, 2002; Williams y Reed, 2003). Por otra parte, en las fibras de hojas (sisal y abacá) se obtuvieron valores algo más bajos (0,2-0,5%), que resultaron ligeramente inferiores a los encontrados por otros autores (van Dam *et al.*, 1994; Han, 1998; Jiménez *et al.*, 2005).

El contenido en cenizas de las fibras estudiadas son bajos comparados con otras fibras de plantas herbáceas como la paja de algodón (7,2%), el bambú (4,9%), la paja de arroz (18,2%) (Moore, 1996) y la paja de trigo (6,9%) (Martínez *et al.*, 1991), si bien, son del mismo rango que los obtenidos para el chopo (0,3%) y el eucalipto (0,3-0,5%) (Moore, 1996). Los componentes inorgánicos o sustancias minerales dependen de las condiciones del suelo de cultivo y de factores intrínsecos de las plantas (Anglés *et al.*, 1997; Angelova, *et al.*, 2004). En la planta, varían dependiendo de la especie, de la edad y de la parte estudiada (Anglés *et al.*, 1997).

Por otro lado, en la Tabla 3 se muestra la composición en metales y otros elementos de las fibras estudiadas. En general, dentro de los metales analizados, K y Ca son los más abundantes, siendo el K el mayoritario en las fibras de lino, kenaf y abacá, y el Ca el mayoritario en las fibras de cáñamo, yute y sisal. También es de destacar el alto contenido en Al y Fe en la fibra de yute y en Mg en la fibra de kenaf.

**Tabla 3.** Contenido en metales y otros elementos (mg/kg) de las fibras.

Metales	Lino	Cáñamo	Kenaf	Yute	Sisal	Abacá
Al	108,0	240,5	38,5	404,5	15,9	14,9
B	5,5	6,5	5,8	2,2	2,0	1,8
Ba	4,8	6,6	4,9	6,8	5,6	3,1
Ca	2970,0	5330,0	2306,7	2023,3	1460,0	992,5
Cr	3,6	2,9	0,7	7,8	0,6	2,3
Cu	2,1	2,0	2,4	2,1	0,6	0,6
Fe	110,1	207,8	49,5	504,5	16,5	24,3
K	3523,3	2103,3	3826,7	260,0	393,3	1735,0
Mg	353,3	480,0	1210,0	380,0	286,7	65,0
Mn	16,2	47,1	4,9	36,5	<1,0	17,7
Na	116,7	26,7	30,0	53,3	53,3	75,0
Ni	1,8	1,2	<1,0	4,2	<1,0	1,2
P	566,7	666,7	813,3	163,3	13,3	17,5
Pb	2,2	<1,0	1,9	1,1	1,2	1,4
S	351,7	371,7	614,3	286,7	79,3	78,3
Sr	9,4	17,0	8,4	8,3	8,9	10,1
Si	9,8	19,5	8,0	25,0	5,1	5,7
Ti	1,6	3,7	<1,0	14,1	<1,0	<1,0
Zn	8,1	4,5	11,9	4,3	1,8	3,7

Uno de los principales problemas del uso de las fibras no madereras (principalmente en el caso de la paja de trigo) desde el punto de vista medioambiental, es el alto contenido en sílice de las mismas, que dificulta extraordinariamente el procesado de lejías negras y el tratamiento de los efluentes. En estas fibras el contenido en sílice, calculado a partir del contenido en Si, varía de 0,11 a 0,53%. Estos contenidos están de acuerdo con los publicados anteriormente (Hunsigi, 1989; Saijonkari-Pabkala, 2003), siendo muy bajos si los comparamos con otras fibras no madereras como son el bagazo (1,8%), el bambú (3,3%), la paja de arroz (11,8%) y la paja de trigo (3,2%) (Moore, 1996). El bajo contenido en sílice de estas fibras es una ventaja para su uso en la industria del papel.

#### 4.1.3. Composición química de los polisacáridos de las fibras

Los resultados del análisis de los azúcares neutros de las diferentes fibras se muestran en la Tabla 4. La glucosa proviene mayoritariamente de la hidrólisis de la celulosa, siendo el monosacárido mayoritario en todas las muestras.

**Tabla 4.** Composición de los monosacáridos de las fibras.

Monosacáridos	Ramnosa	Arabinosa	Xilosa	Manosa	Galactosa	Glucosa
<b>Lino</b>	0,4	0,9	1,1	8,8	3,5	85,3
<b>Cáñamo</b>	0,4	0,6	1,0	9,9	1,6	86,4
<b>Kenaf</b>	0,5	2,1	10,5	4,9	0,5	81,5
<b>Yute</b>	0,5	1,5	7,9	4,2	0,5	85,4
<b>Sisal</b>	0,3	1,9	12,0	3,6	0,6	81,7
<b>Abacá</b>	0,3	1,6	7,5	3,5	0,3	86,9

Entre las fibras estudiadas, el lino y el cáñamo contienen cantidades importantes de manosa seguida de galactosa, mientras que el resto de las fibras (kenaf, yute, sisal y abacá) contienen principalmente xilosa seguida de manosa. El alto contenido en manosa y galactosa de las hemicelulosas de las fibras de lino y cáñamo las asemeja a la madera de coníferas, mientras que el alto contenido en xilosa de las demás fibras (kenaf, yute, sisal y abacá) las asemeja a las hemicelulosas de frondosas, constituidas principalmente por xilanos (Fengel y Wegener, 1984; Sjöström, 1993; Shimizu, 2001).

## 4.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS LÍPIDOS

### 4.2.1. Análisis por GC y GC/MS

Para el análisis de las fracciones lipofílicas de las fibras por GC y GC/MS se utilizaron columnas capilares de alta temperatura de longitud corta (GC) y mediana (GC/MS). Éstas permiten la elución y separación de lípidos en un margen amplio de masa molecular, desde ácidos grasos hasta ceras, ésteres de esteroides y triglicéridos (Wakeham y Frew, 1982; Lusby *et al.*, 1984; Evershed *et al.*, 1989; Sitholé *et al.*, 1992; Örsa y Holmbom, 1994; Gutiérrez *et al.*, 1998). La identificación de los compuestos se llevó a cabo por MS, mediante comparación con compuestos patrones, con los existentes en las librerías (NIST, Wiley) o con los publicados anteriormente. A continuación se muestran los espectros de masas de compuestos representativos de las principales familias de lípidos presentes en los extractos de las fibras aquí estudiadas.

#### 4.2.1.1. *n*-Alcanos

Los espectros de masas de los *n*-alcanos son fácilmente identificables, ya que todos presentan el mismo tipo de rotura, con un pico base a  $m/z$  57 proveniente del fragmento  $[\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_3]^+$  y fragmentos característicos a  $m/z$   $57 + (\text{CH}_2)_n$ . El ión molecular suele verse aunque presenta una abundancia relativamente pequeña. En la Figura 14 se muestra el espectro de masas del nonacosano, que se caracteriza por un ión molecular a  $m/z$  408 y los fragmentos a  $m/z$  57, 71, 85... antes mencionados.

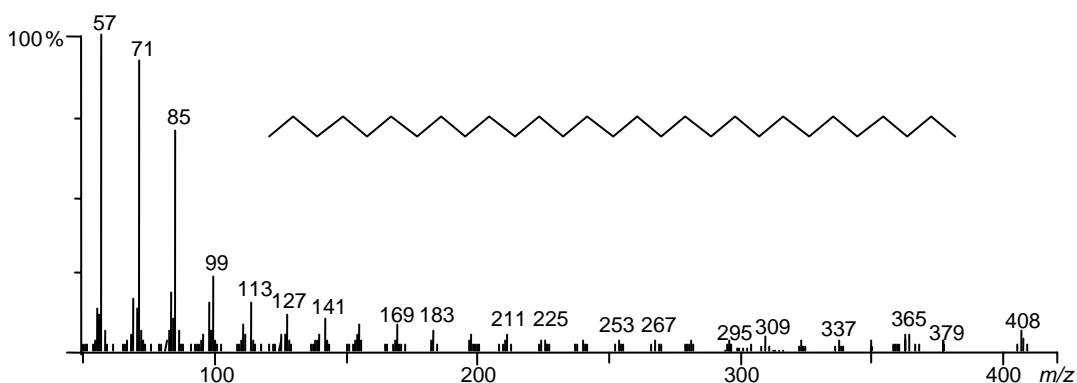


Figura 14. Espectro de masas del nonacosano.



4.2.1.2. *n*-Ácidos grasos

Los ácidos grasos se identificaron tanto sin derivatizar como formando los correspondientes ésteres metílicos. Los espectros de masas de los ácidos grasos sin derivatizar presentan un pico base característico a  $m/z$  60, debido a la transposición de McLafferty y una serie de iones de fórmula general  $[\text{HOCO}-(\text{CH}_2)_n]^+$ , entre ellos los fragmentos a  $m/z$  73, 115, 129, 199, así como el ión molecular. El espectro de masas del ácido hexadecanoico (Figura 15) muestra el ión molecular a  $m/z$  256 y los fragmentos mencionados anteriormente.

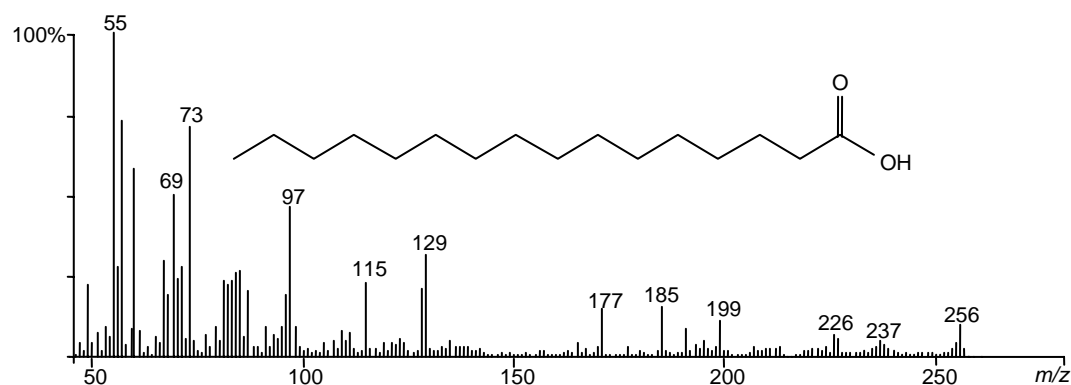


Figura 15. Espectro de masas del ácido hexadecanoico.

Los espectros de masas de los ésteres metílicos de los ácidos grasos presentan un pico base característico a  $m/z$  74, debido a la transposición de McLafferty y fragmentos típicos a  $m/z$  87, 101 y 143. Los iones moleculares se pueden apreciar en el espectro. El espectro de masas del ácido hexadecanoico metilado se muestra en la Figura 16. Dicho espectro de masas se caracteriza por el pico base a  $m/z$  74,



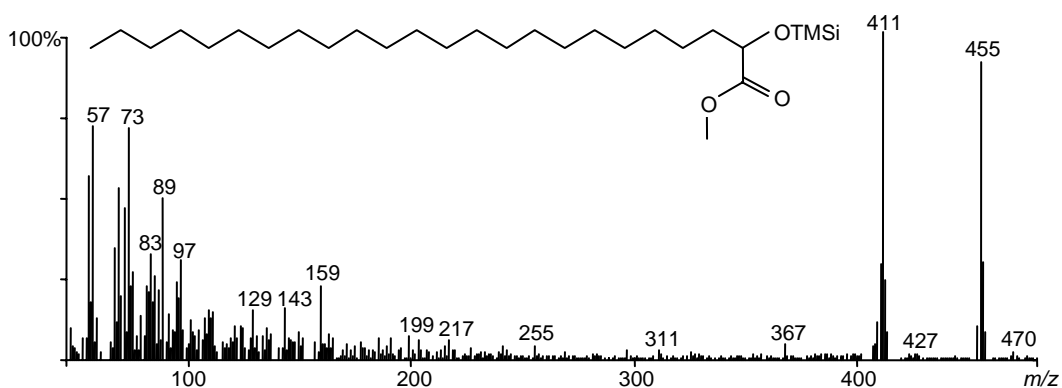
Figura 16. Espectro de masas del ácido hexadecanoico metilado.

por el ión molecular a  $m/z$  270 y otros iones significativos como son los fragmentos a  $m/z$  239  $[M-31]^+$  (pérdida de metanol) y a  $m/z$  227  $[M-43]^+$  (debido a pérdidas de  $C_2$ ,  $C_3$  y  $C_4$  como resultado de un complejo reajustamiento), junto con una serie de iones de fórmula general  $[CH_3OCO(CH_2)_n]^+$ , a menudo con intensidad máxima a  $m/z$  87, 143, 199.

#### 4.2.1.3. Hidroxiácidos

Los hidroxiácidos identificados en las fibras estudiadas fueron de dos tipos,  $\alpha$ -hidroxiácidos y  $\omega$ -hidroxiácidos. La detección de los hidroxiácidos requirió la metilación previa del grupo carboxilo y una posterior silanización del grupo hidroxilo. Los  $\alpha$ -hidroxiácidos y los  $\omega$ -hidroxiácidos presentan espectros de masas bien diferenciados.

Los espectros de masas de los  $\alpha$ -hidroxiácidos se caracterizan por fragmentos a  $[M-15]^+$  y  $[M-59]^+$  correspondientes a la pérdida de un grupo metilo y un grupo  $CO_2CH_3$ , respectivamente, siendo el ión molecular muy poco intenso. En la Figura 17 se muestra el espectro de masas del ácido 2-hidroxitetracosanoico metilado y silanizado. Dicho espectro de masas se caracteriza por el ión molecular a  $m/z$  470 y los fragmentos característicos a  $m/z$  455  $[M-15]^+$  y a  $m/z$  411  $[M-59]^+$ .



**Figura 17.** Espectro de masas del ácido  $\alpha$ -hidroxitetracosanoico metilado y silanizado.

Los éteres de TMSi de los metil  $\omega$ -hidroxiácidos presentan espectros de masas caracterizados por los fragmentos  $[M-15]^+$  y  $[M-47]^+$ , correspondientes a la pérdida de un grupo metilo y de un grupo  $[M-Me-MeOH]^+$ , respectivamente. Al igual que

el caso anterior el ión molecular es muy poco intenso, aunque fácilmente reconocible por el fragmento  $[M-15]^+$ . En la Figura 18 se muestra el espectro de masas del ácido 22-hidroxidocosanoico metilado y silanizado, siendo los fragmentos característicos de  $m/z$  427  $[M-15]^+$ , 395  $[M-47]^+$  y el ión molecular de  $m/z$  442.

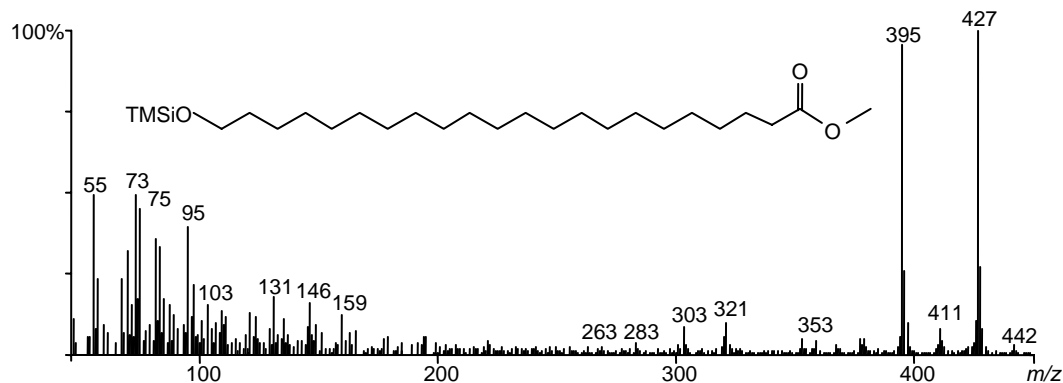


Figura 18. Espectro de masas del ácido  $\omega$ -hidroxidocosanoico metilado y silanizado.

#### 4.2.1.4. *n*-Alcoholes

Los *n*-alcoholes de cadena larga se analizaron como éteres de TMSi y sus espectros de masas se caracterizan por un pico base muy intenso a  $[M-15]^+$  y un pico abundante a  $m/z$  75 proveniente del fragmento  $[Me_2SiOH]^+$ , mientras que el ión molecular es inapreciable en la mayoría de los casos. En la Figura 19 se muestra el espectro de masas del octacosanol silanizado. Dicho espectro de masas

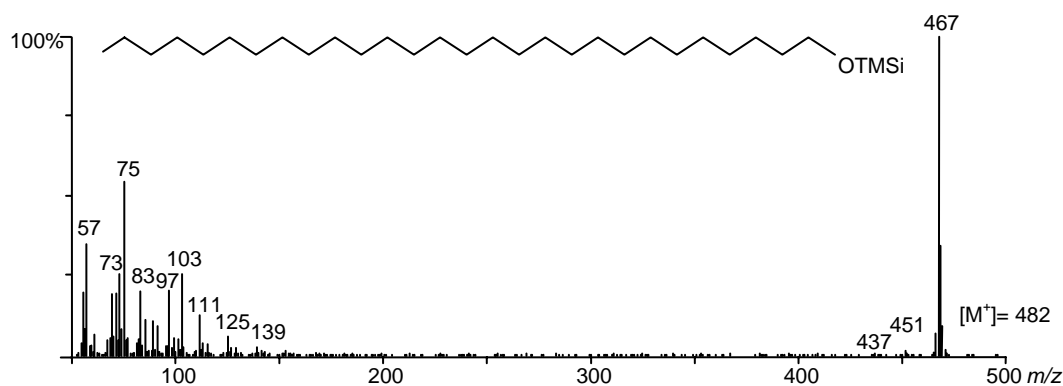
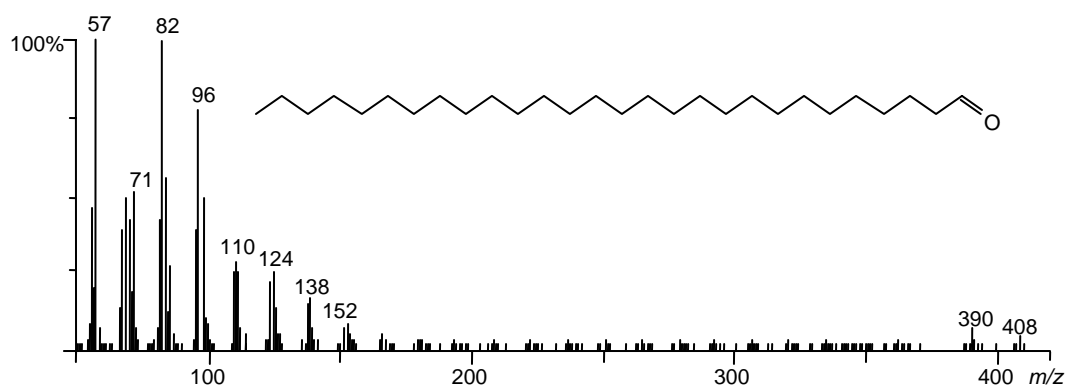


Figura 19. Espectro de masas del octacosanol silanizado.

se caracteriza por un pico base muy intenso a  $m/z$  467 que corresponde a  $[M-15]^+$  y un pico abundante a  $m/z$  75, siendo el ión molecular poco significativo.

#### 4.2.1.5. *n*-Aldehídos

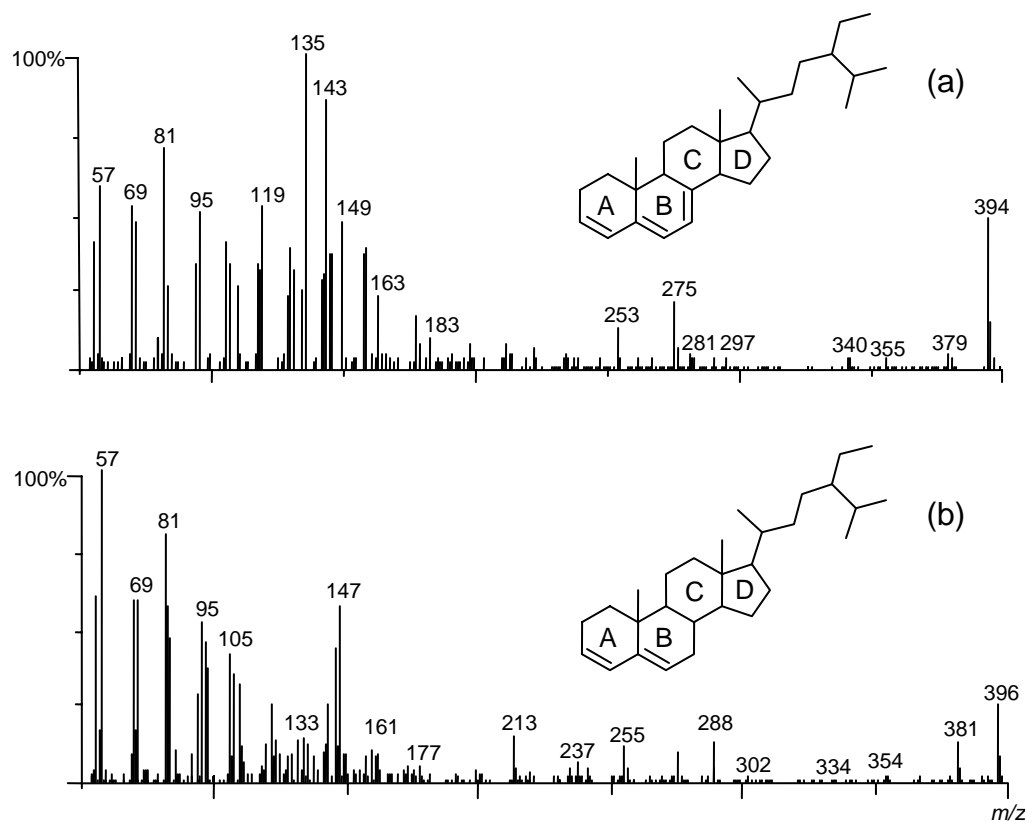
Los espectros de masas de los *n*-aldehídos presentan un pico base a  $m/z$  82 proveniente de la rotura  $[C_6H_{10}]^+$  y fragmentos característicos a  $m/z$  82 + 14*n* y  $[M-18]^+$ . El espectro de masas del octacosanal se muestra en la Figura 20 y se caracteriza por un ión molecular a  $m/z$  408 muy débil y por el fragmento a  $m/z$  390 debido a la pérdida de una molécula de agua  $[M-18]^+$ , además de los fragmentos antes mencionados a  $m/z$  82, 96, 110, 138.



**Figura 20.** Espectro de masas del octacosanal.

#### 4.2.1.6. Hidrocarburos esteroidales

Dentro de la familia de los hidrocarburos esteroidales se han seleccionado los espectros de masas de dos compuestos representativos, estigmasta-3,5,7-trieno y estigmasta-3,5-dieno, que se muestran en la Figura 21. Los espectros de masas se caracterizan por el ión molecular a  $m/z$  394 y 396, respectivamente y por la pérdida de un grupo metilo  $[M-15]^+$  a  $m/z$  379 y 381, respectivamente. Otros fragmentos característicos son los de  $m/z$  143 y 147, respectivamente, provenientes de la pérdida de la cadena lateral y de los ciclos C y D. La fragmentación del estigmasta-3,5,7-trieno es parecida a la publicada para el colestá-3,5,7-trieno (Buckley *et al.*, 1999).

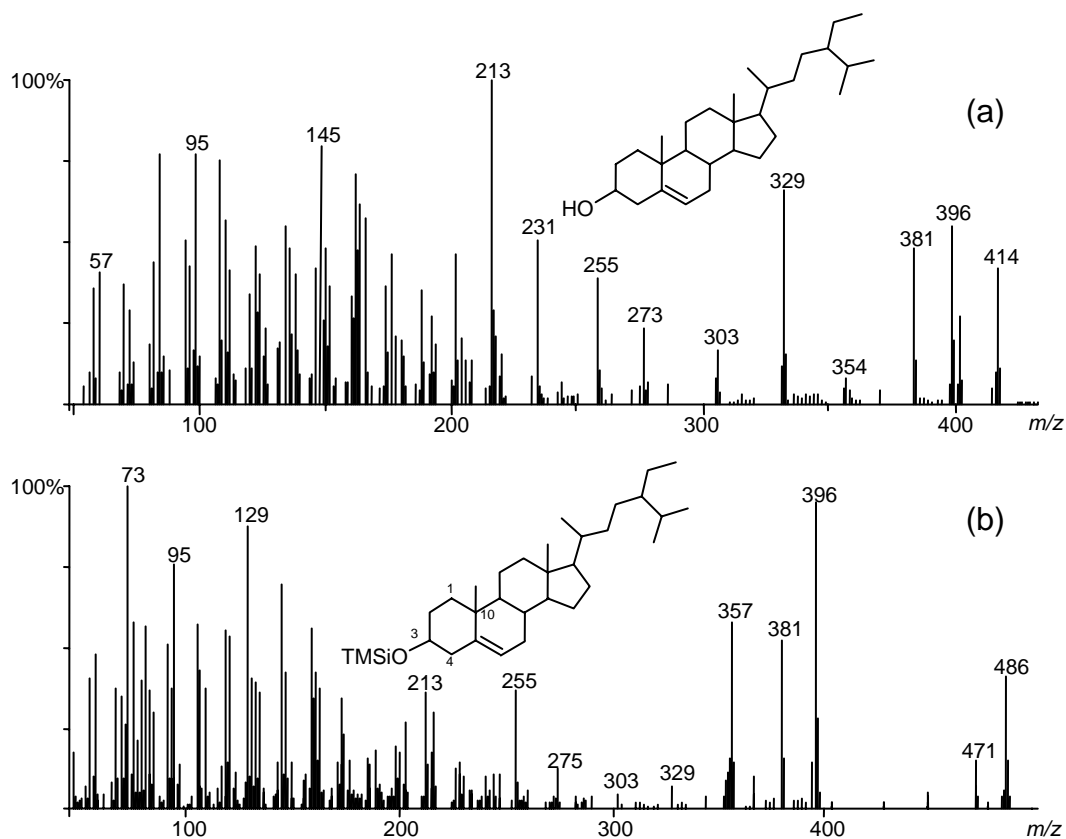


**Figura 21.** Espectros de masas del estigmasteran-3,5,7-trieno (a) y estigmasta-3,5-dieno (b).

#### 4.2.1.7. Esteroles

Los esteroles se caracterizan por tener un grupo hidroxilo en la posición C-3 y una cadena larga de longitud variable en la posición C-17. Los esteroles se analizaron por GC y GC/MS tanto sin derivatizar como formando los correspondientes éteres de TMSi. En la Figura 22 se muestran los espectros de masas del sitosterol sin derivatizar y silanizado. El espectro de masas del sitosterol sin derivatizar (Figura 22a) se caracteriza por el ión molecular a  $m/z$  414 y por los fragmentos a  $m/z$  396, debido a la pérdida de una molécula de agua, y a  $m/z$  381 debido a la pérdida posterior de un grupo metilo. Por otra parte el espectro de masas del sitosterol silanizado (Figura 22b) se caracteriza por el ión molecular a  $m/z$  486 debido al aumento de 72 una por la presencia del grupo TMSi y por los fragmentos a  $m/z$  471  $[M-15]^+$ , 396  $[M-90]^+$  y 381  $[M-105]^+$ , que corresponden a

las pérdidas de un grupo metilo, un grupo  $\text{HOSi}(\text{CH}_3)_3$  y a la pérdida de un metilo adicional, respectivamente. Otros fragmentos característicos aparecen a  $m/z$  129 y 357  $[\text{M}-129]^+$  provenientes de la rotura de los enlaces C1-C10 y C3-C4, con la transferencia de un átomo de hidrógeno (Dumazer *et al.*, 1986).



**Figura 22.** Espectros de masas del sitosterol, sin derivatizar (a) y silanizado (b).

En la Figura 23 se muestra el espectro de masas del 7-oxositosterol, también presente en los extractos de yute, sisal y abacá. Su espectro de masas, al igual que el de sitosterol, se caracteriza por el ión molecular, en este caso a  $m/z$  428 y por los fragmentos debidos a la pérdida de agua y de un grupo metilo, a  $m/z$  410 y 395, respectivamente.

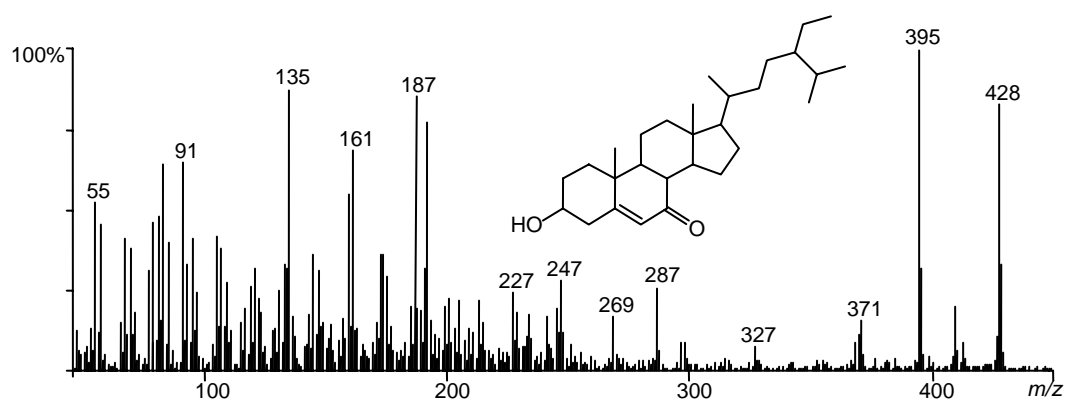


Figura 23. Espectro de masas del 7-oxositosterol.

Otro ejemplo de esteroide es el 24-metilencicloartanol, caracterizado por la presencia de dos grupos metilo en la posición 4 y un ciclopropano en el ciclo B. Su espectro de masas se muestra en la Figura 24 y al igual que el de sitosterol se caracteriza por el ión molecular, en este caso a  $m/z$  440, y la pérdida de una molécula de agua y de un grupo metilo, dando lugar a los picos a  $m/z$  422 y 425, respectivamente. Por otra parte, la pérdida de un grupo metilo adicional da lugar al fragmento a  $m/z$  407.

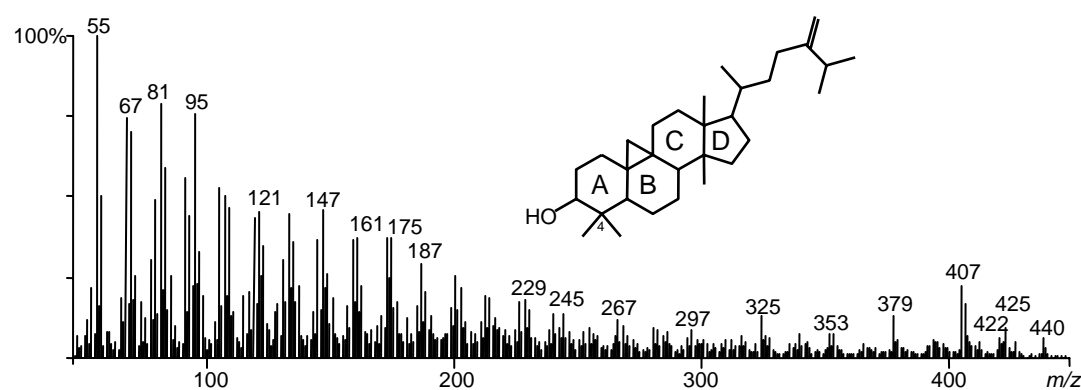


Figura 24. Espectro de masas del 24-metilencicloartanol.

## 4.2.1.8. Triterpenoles

En la Figura 25 se muestran los espectros de masas de la  $\beta$ - y la  $\alpha$ -amirinas. Los espectros de masas de estos compuestos, al igual que los de sus derivados, difieren sólo ligeramente en la intensidad de algunos fragmentos (Budzikiewicz, 1963). Ambos triterpenoles se caracterizan por un pico base a  $m/z$  218, procedente de la fragmentación retro Diels-Alder en el C12 (Budzikiewicz *et al.*, 1963; Ogunkoya, 1981). Los espectros de masas de ambos compuestos se diferencian por la intensidad relativa de los fragmentos a  $m/z$  189 y 203, correspondientes a las pérdidas de un grupo  $\text{CH}_3\text{CH}_2$  y  $\text{CH}_3$ , respectivamente, del pico base. En el espectro de la  $\beta$ -amirina (Figura 25a) el fragmento a  $m/z$  203 es más intenso que el de  $m/z$  189, mientras que en el espectro de la  $\alpha$ -amirina (Figura 25b) ambos picos presentan intensidades similares (Vilegas *et al.*, 1997). En ambos casos el ión molecular, a  $m/z$  426, se aprecia ligeramente.

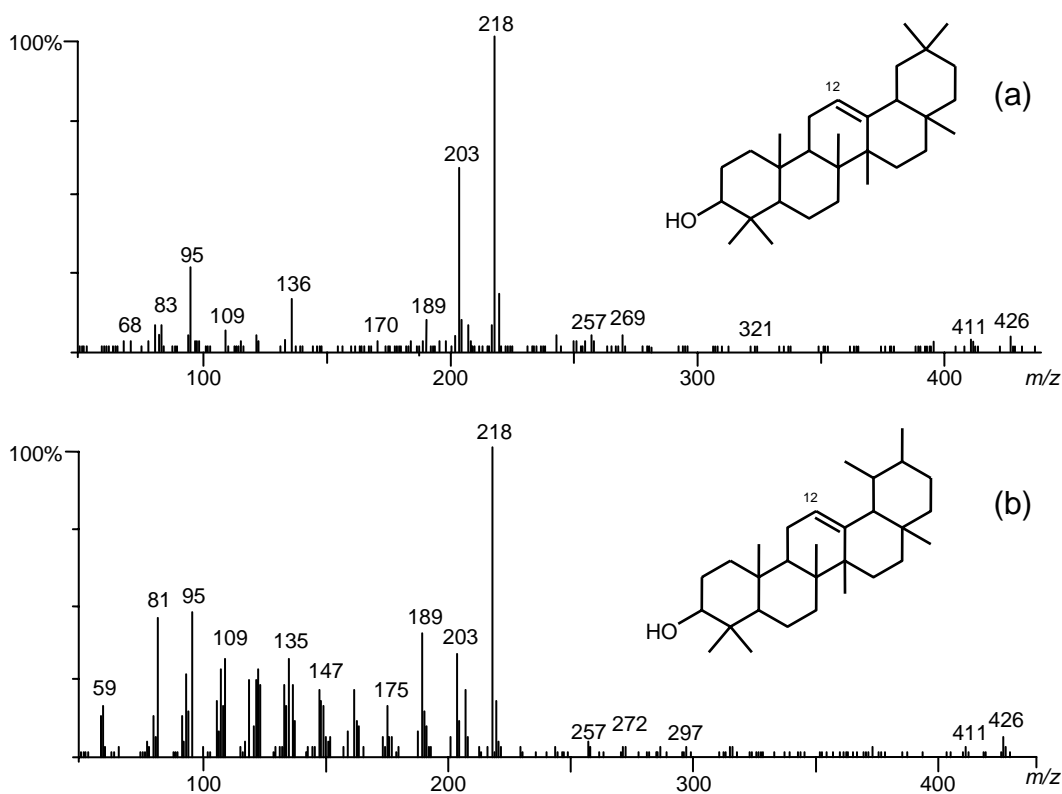


Figura 25. Espectros de masas de la  $\beta$ -amirina (a) y de la  $\alpha$ -amirina (b).



En la Figura 26 se muestran los espectros de masas de dos triterpenoles, identificados como motiol y glutinol, que se encontraron únicamente en las fibras de kenaf. Dichos espectros de masas se caracterizan por un ión molecular a  $m/z$  426. Otros fragmentos presentes son los de  $m/z$  411 (debido a la pérdida de un grupo metilo) y  $m/z$  393 (pérdida de una molécula de agua). Por otra parte, el espectro del glutinol (Figura 26b) presenta un ión a  $m/z$  274 procedente de una rotura retro-Diels-Alder y un ión a  $m/z$  259, debido a la pérdida de un grupo metilo de dicho fragmento (Aplin *et al.*, 1966).

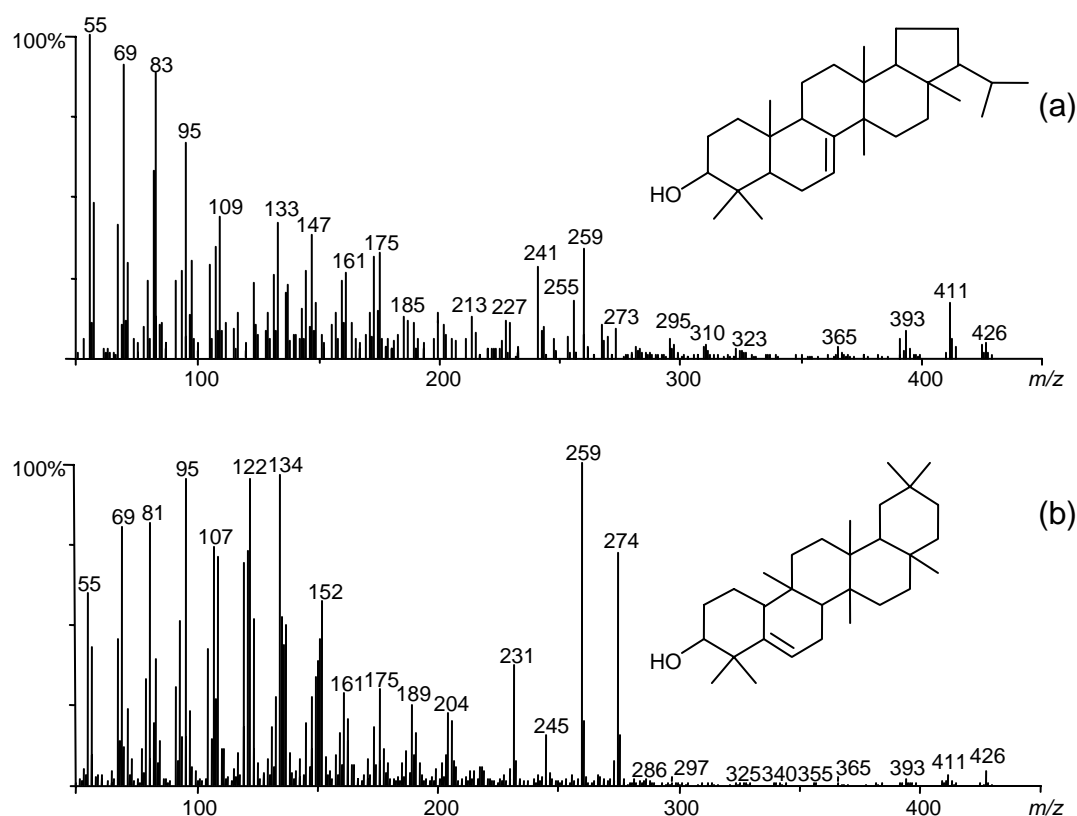
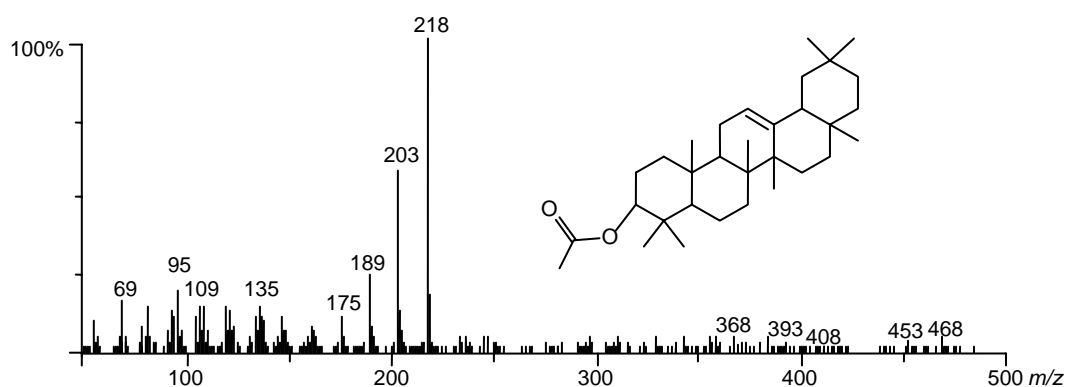


Figura 26. Espectros de masas del motiol (a) y glutinol (b).

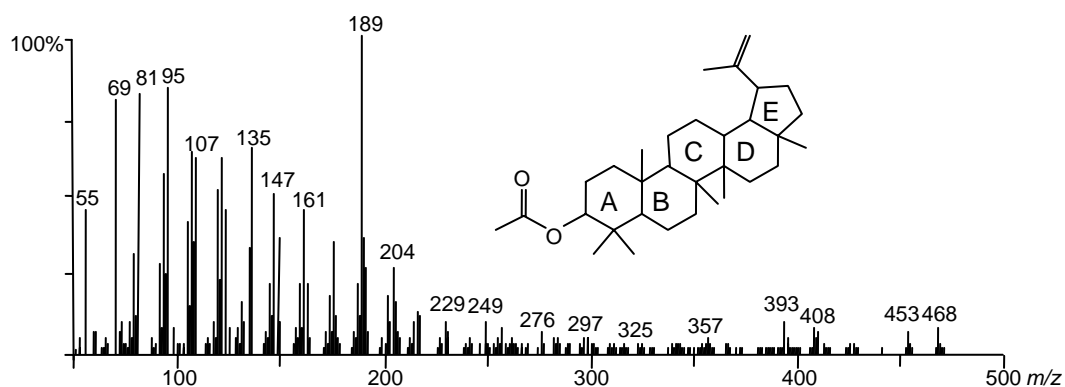
#### 4.2.1.9. Acetatos de triterpenoles

En la Figura 27 se muestra el espectro de masas del acetato de  $\beta$ -amirina. El perfil de fragmentación es similar al de la  $\beta$ -amirina, con fragmentos característicos a  $m/z$  189, 203 y 218 (pico base), siendo en este caso el ión molecular de  $m/z$  468.



**Figura 27.** Espectro de masas del acetato de  $\beta$ -amirina.

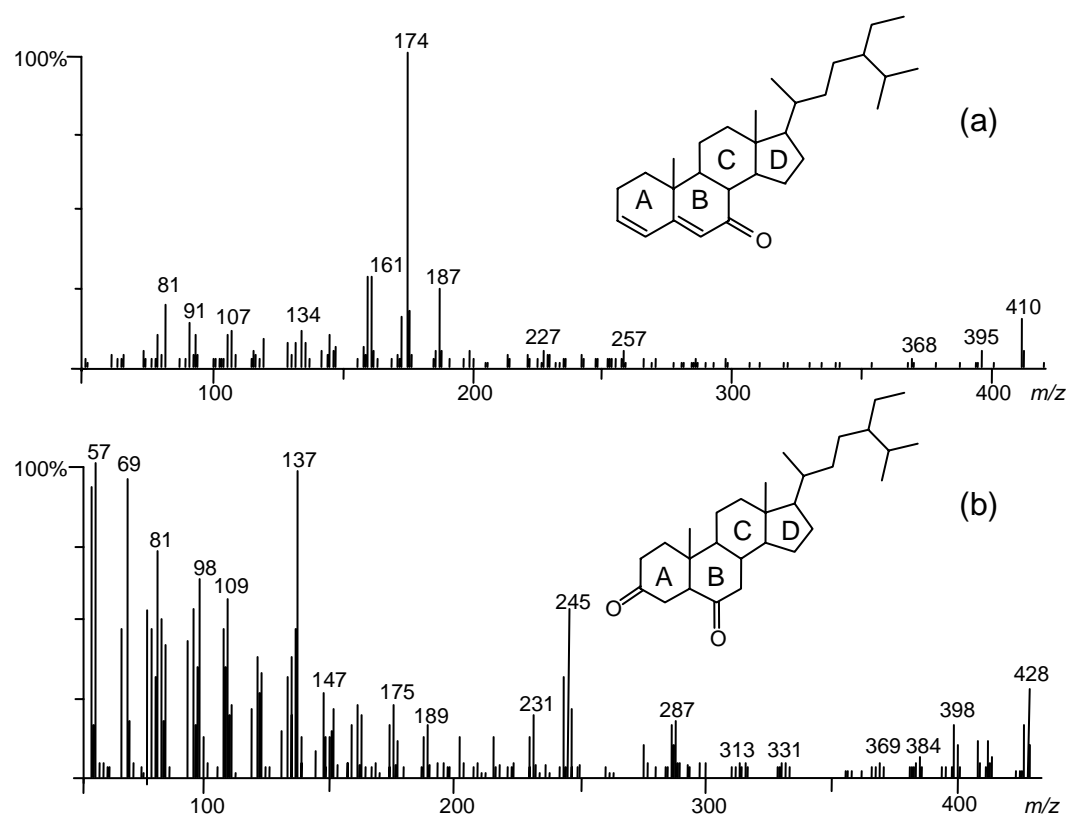
Otro ejemplo de acetato de triterpenol es el acetato de lupeol. Su espectro de masas, mostrado en la Figura 28, se caracteriza por un ión molecular a  $m/z$  468 y un pico base a  $m/z$  189 debido a la presencia de un grupo isopropenilo en el ciclo E. Otros fragmentos característicos son los de  $m/z$  453 y  $m/z$  408, debidos a la pérdida de un grupo metilo y del grupo acetato, respectivamente (Argay, 1997).



**Figura 28.** Espectro de masas del acetato de lupeol.

## 4.2.1.10. Cetonas esteroideas

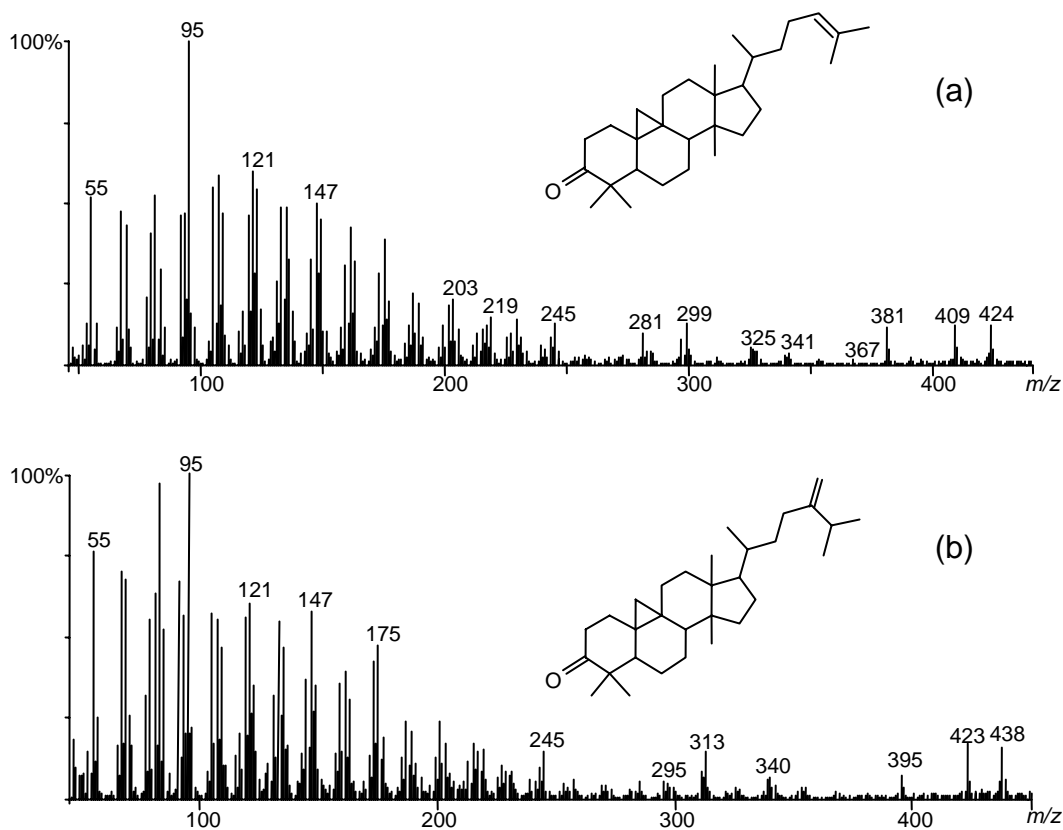
Dentro de la familia de las cetonas esteroideas se han seleccionado dos compuestos representativos. En la Figura 29 se muestran los espectros de masas de la estigmasta-3,5-dien-7-ona y de la estigmasta-3,6-diona. Ambos se caracterizan por el ión molecular (a  $m/z$  410 y 428, respectivamente) y la pérdida de un grupo metilo seguido del grupo cetona (a  $m/z$  368 y 370, respectivamente). En el espectro de masas de la estigmasta-3,5-dien-7-ona (Figura 29a) el pico base es de  $m/z$  174 procedente de la pérdida de la cadena lateral y la rotura del ciclo C. En el caso de la estigmasta-3,6-diona (Figura 29b) el fragmento característico es de  $m/z$  245, proveniente de la pérdida del ciclo D y de la cadena lateral.



**Figura 29.** Espectros de masas de la estigmasta-3,5-dien-7-ona (a) y la estigmasta-3,6-diona (b).

En la Figura 30 se muestran los espectros de masas de las 4,4-dimetil cetonas,

cicloarten-3-ona y 24-metilencicloartan-3-ona. El espectro de masas de la cicloarten-3-ona (Figura 30a) se caracteriza por el ión molecular a  $m/z$  424 y los fragmentos a  $m/z$  409  $[M-CH_3]^+$ , 381  $[M-C_3H_7]^+$  y 299  $[M-C_9H_{17}]^+$ , mientras que el espectro de la 24-metilencicloartan-3-ona (Figura 30b) se caracteriza por el ión molecular a  $m/z$  438 y los fragmentos a  $m/z$  423  $[M-CH_3]^+$ , 395  $[M-C_3H_7]^+$  y 313  $[M-C_9H_{17}]^+$ .



**Figura 30.** Espectro de masas de la cicloarten-3-ona (a) y 24-metilencicloartan-3-ona (b).

#### 4.2.1.11. Cetonas triterpenoidales

Entre las cetonas triterpenoidales se encuentra la  $\beta$ -amirenona, y su espectro de masas, al igual que el de la  $\beta$ -amirina, se caracteriza por los fragmentos a  $m/z$  189, 203 y 218, siendo el ión molecular de  $m/z$  424. El espectro de masas se muestra en la Figura 31.

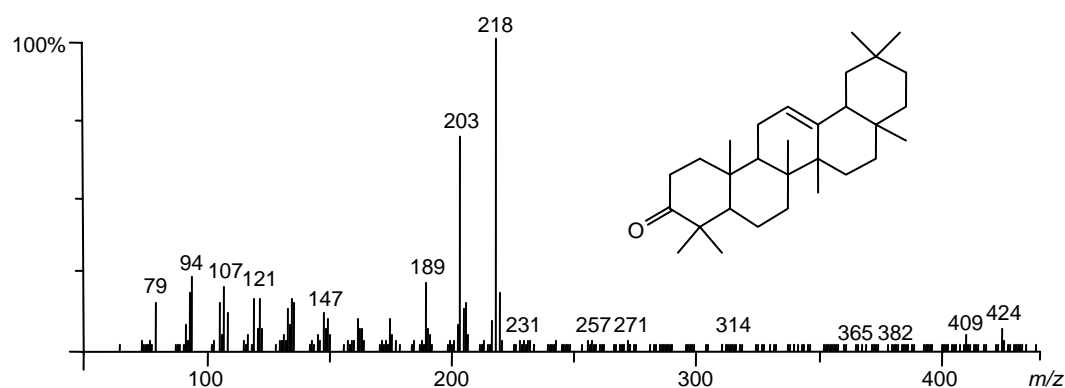


Figura 31. Espectros de masas de la  $\beta$ -amirenona.

En las Figuras 32 y 33 se muestran los espectros de masas de dos cetonas triterpenoidales identificadas en las fibras de yute, la isomultiflorenona (D:C-friedoolean-8-en-3-ona) y la bauerenona (D:C-friedours-7-en-3-ona). Ambas cetonas se caracterizan por tener un grupo metilo en el C13, lo que implica que el perfil de fragmentación de sus espectros de masas ocurrirá en las proximidades de la unión entre los ciclos C y D. El espectro de masas de la isomultiflorenona (Figura 32) se caracteriza por el ión molecular a  $m/z$  424 y los fragmentos a  $m/z$  205, cuya formación implica la transferencia de un hidrógeno seguida de la rotura de la unión activa del enlace C12-C13, y a  $m/z$  257 proveniente de la pérdida  $[M-167]^+$ .

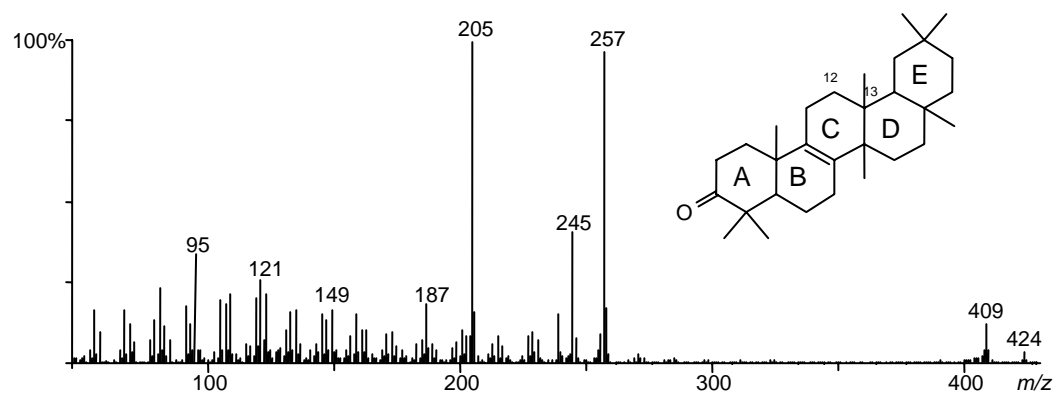
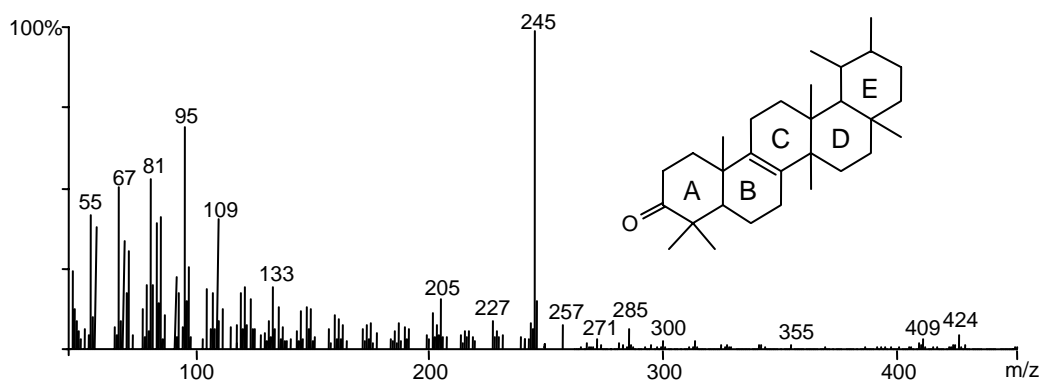


Figura 32. Espectro de masas de la isomultiflorenona (D:C-Friedoolean-8-en-3-ona).

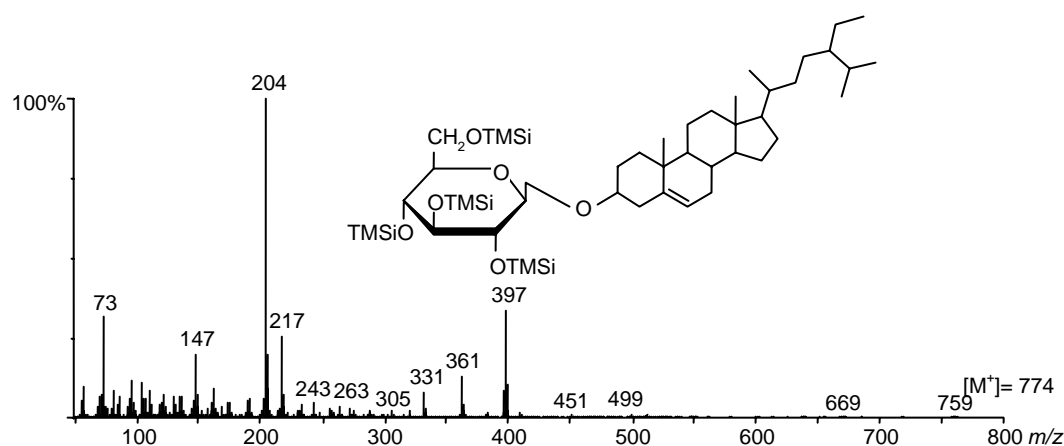
El espectro de masas de la bauerenona (Figura 33) se caracteriza por un ión molecular a  $m/z$  424 y un pico base a  $m/z$  245  $[M-179]^+$ , característico de la serie de triterpenos bauerenos, similar al publicado por otros autores (Budzikiewicz *et al.*, 1963; Talapatra *et al.*, 1968).



**Figura 33.** Espectro de masas de la bauerenona (D:C Friedours-7-en-3-ona).

#### 4.2.1.12. Glicósidos de esteroides

Los glicósidos esteroidales están constituidos por un carbohidrato unido a un esteroide a través de un enlace glicosídico. La detección cromatográfica de los glicósidos esteroidales requirió la silanización previa de los grupos hidroxilo. El espectro de masas del sitosteril  $3\beta$ -D-glucopiranosido (como TMSi-éter) se muestra en la Figura 34. El espectro no presenta ión molecular ( $m/z$  774), aunque éste se puede determinar por la presencia de los iones a  $m/z$  759  $[M-15]^+$  y a  $m/z$  669  $[M-15-90]^+$ . La pérdida del azúcar silanizado con retención de carga en la molécula del azúcar y la rotura del enlace C-O glicosídico dan lugar a un ión de baja abundancia a  $m/z$  451, característico de hexosas que seguidamente pierde trimetilsilanol  $[Me_3SiOH]$ , dando el ión a  $m/z$  361 que es prominente en el espectro. Los iones a  $m/z$  451 y 361 son característicos también de los derivados TMSi de muchos otros tipos de glicósidos de hexosas naturales (De Jongh, *et al.*, 1969; Niemelä, 1989). Los grupos TMSi dan también un ión intenso a  $m/z$  73 y un ión a  $m/z$  147 por rotura de los dos grupos TMSi vecinales. Por otra parte, la rotura en la molécula del esteroide produce un ión a  $m/z$  397. Finalmente, la configuración de piranosa se confirmó por la alta intensidad del fragmento a  $m/z$  204 comparada con el fragmento a  $m/z$  217 (Gutiérrez y del Río, 2001).



**Figura 34.** Espectro de masas del sitosteril 3 $\beta$ -D-glucopiranosido silanizado.

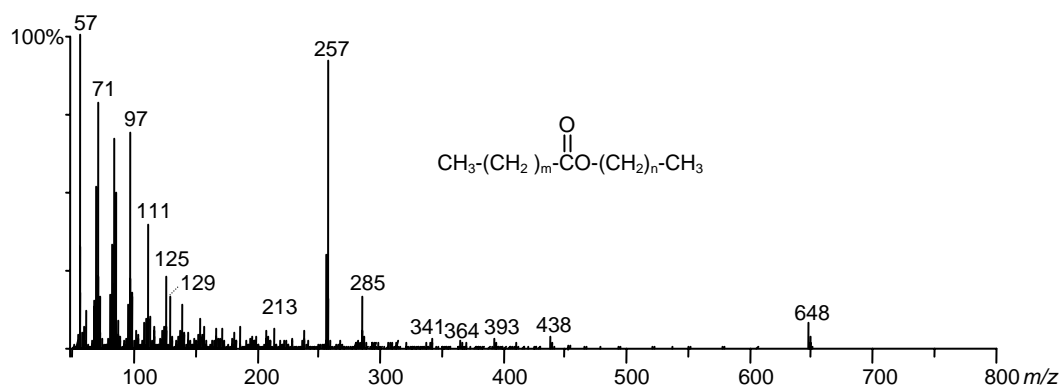
#### 4.2.1.13. Ceras

Las ceras están constituidas por *n*-ácidos grasos de cadena larga esterificados con *n*-alcoholes alifáticos de cadena larga. En los cromatogramas, cada pico cromatográfico correspondiente a las ceras consiste en una mezcla compleja de diferentes ácidos grasos esterificados con diferentes alcoholes. La identificación y cuantificación de los ésteres individuales en cada pico cromatográfico están basadas en sus espectros de masas.

Los espectros de masas de los ésteres de cadena larga se caracterizan por un pico base producido por un proceso de transferencia de dos átomos de hidrógeno de la cadena del alcohol a la cadena ácida, dando lugar al ión ácido protonado (Sharkey, *et al.*, 1959). Los fragmentos de masas a *m/z* 257, 285, 313 y 341 corresponden respectivamente a los ácidos protonados hexadecanoico, octadecanoico, eicosanoico y docosanoico. Por tanto, el pico base da idea del número de átomos de carbono de la molécula de ácido graso mientras que el ión molecular muestra el número total de átomos de carbono en el éster (Moldovan *et al.*, 2002). Es posible determinar la contribución individual de los ésteres de cada pico cromatográfico por MS determinando el ión molecular y el pico base. La cuantificación de los ésteres individuales se realizó por integración de las áreas en los perfiles cromatográficos de los iones característicos de la molécula de ácido graso.

La Figura 35 muestra el espectro de masas correspondiente al pico cromatográfico de la cera C<sub>44</sub>. El espectro de masas se caracteriza por el ión molecular a *m/z* 648 y por el pico base a *m/z* 257, debido al ácido hexadecanoico

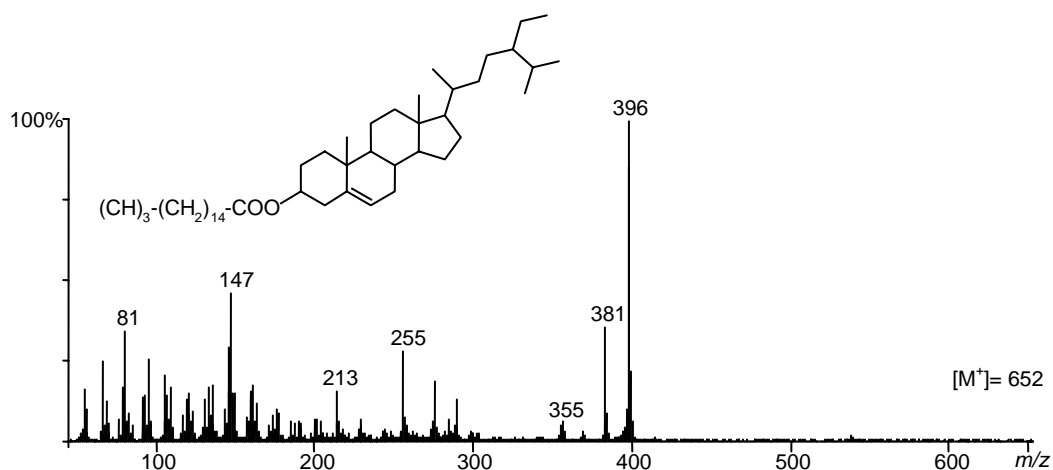
protonado, por lo que el alcohol esterificado es el octacosanol, y por tanto el éster es el hexadecanoato de octacosilo. El fragmento a  $m/z$  285 indica también la presencia en el mismo pico de un éster del ácido octadecanoico, que correspondería al octadecanoato de hexacosilo.



**Figura 35.** Espectro de masas de las ceras  $C_{44}$  ( $m=14$ ,  $n=27$ ;  $m=16$ ,  $n=25$ ).

#### 4.2.1.14. Ésteres de esteroides

Los espectros de masas de los ésteres de esteroides con ácidos grasos únicamente presentan fragmentos procedentes de la parte del esteroide y no suelen presentar el ión molecular (Lusby *et al.*, 1984; Evershed *et al.*, 1989). En la Figura 36 se muestra el espectro de masas del hexadecanoato de sitosterol. El espectro se caracteriza por los fragmentos a  $m/z$  396 y 381 pertenecientes a la molécula de sitosterol, siendo prácticamente idéntico el espectro de masas del estigmasta-3,5-dieno.



**Figura 36.** Espectro de masas del hexadecanoato de sitosterol.



## 4.2.1.15. Ésteres de triterpenoles

Los espectros de masas de los ésteres de triterpenoles, al igual que los de ésteres de esteroides, no presentan el ión molecular, siendo característicos los fragmentos pertenecientes a la parte del triterpenol. Un ejemplo de éster de triterpenol encontrado en las muestras analizadas es el hexadecanoato de  $\beta$ -amirina, cuyo espectro de masas se muestra en la Figura 37. El perfil de fragmentación es el mismo que el de la  $\beta$ -amirina, del acetato de la  $\beta$ -amirina y de la  $\beta$ -amirenona, con un pico base a  $m/z$  218 y el fragmento a  $m/z$  203 mayor que el de  $m/z$  189.

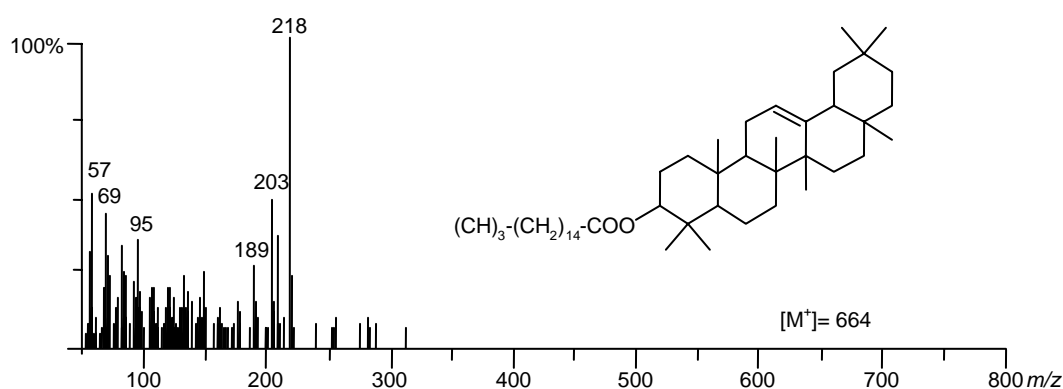
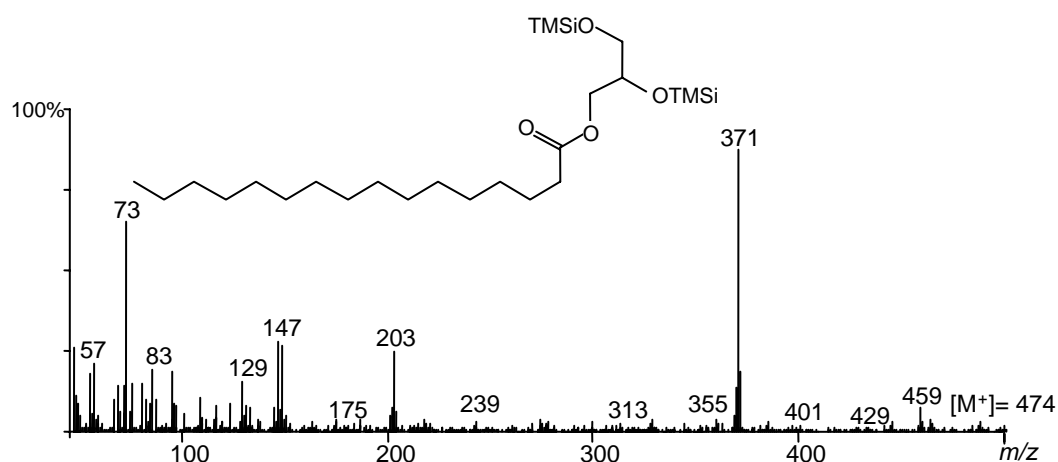


Figura 37. Espectro de masas del hexadecanoato de  $\beta$ -amirina.

## 4.2.1.16. Monoglicéridos

Los monoglicéridos identificados en las fibras estudiadas se caracterizan por tener una configuración 1(3). Los espectros de masas de los monoglicéridos, como ésteres de TMSi, se caracterizan por un ión molecular casi indetectable siendo característico el fragmento  $[M-15]^+$ . Otros fragmentos representativos son  $[RCO]^+$  y  $[RCO+74]^+$  (Christie, 1989).

En la Figura 38 se muestra el espectro de masas del hexadecanoato de 2,3-hidroxiopropilo silanizado (1-monopalmitina silanizada). El ión molecular a  $m/z$  474 es inapreciable, pero fácilmente reconocible por el fragmento a  $m/z$  459  $[M-15]^+$ . El pico base a  $m/z$  371  $[M-103]^+$  es característico de la rotura entre C2 y C3 en los espectros de los derivados de 1(3)-monoacilglicerol (Christie, 1989). Otros fragmentos representativos son los de  $m/z$  239  $[RCO]^+$  y 313  $[RCO+74]^+$ .

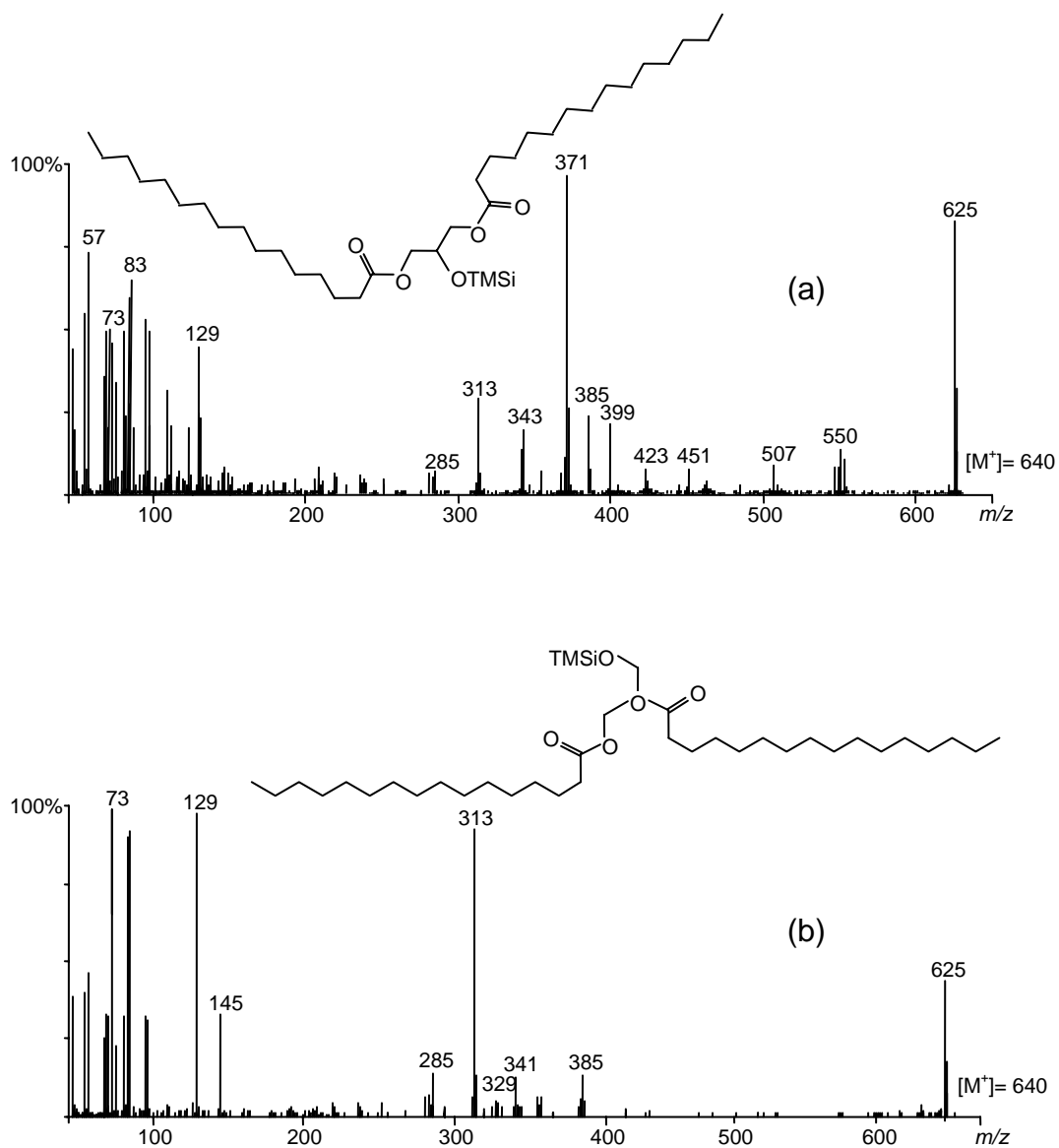


**Figura 38.** Espectro de masas del hexadecanoato de 2,3-dihidroxi-propilo silanizado.

#### 4.2.1.17. Diglicéridos

Los diglicéridos presentan espectros de masas diferentes dependiendo si la configuración es 1,3 o 1,2. Estudios anteriores (Christie, 1989; Lauer *et al.*, 1970) han sugerido la presencia del ión  $[M-R\text{COOCH}_2]^+$  como un signo de distinción de la configuración 1,3. En las fibras estudiadas se identificaron los diglicéridos en ambas configuraciones.

En la Figura 39 se muestran los espectros de masas del hexadecanoato de 3-hexadecanoiloxi-2-hidroxi-propilo [P2 (1,3)] y del hexadecanoato de 2-hexadecanoiloxi-3-hidroxi-propilo [P2 (1,2)], como éteres de TMSi. Ambos compuestos tienen el mismo peso molecular y en los dos casos el ión molecular es indetectable, aunque fácilmente reconocible por los fragmentos a  $m/z$  625  $[M-15]^+$ , pérdida de un grupo metilo y a  $m/z$  550  $[M-90]^+$ , pérdida de la molécula de TMSi-éter. Otros fragmentos característicos de ambos diglicéridos son de  $m/z$  145 y 129, que contienen el grupo TMSi y parte del esqueleto de la molécula de glicerol, y de  $m/z$  385 resultante de la pérdida de  $[M-R\text{COO}]^+$  perteneciente al residuo aciloxi. Si bien, la mayor diferencia en los espectros de estos dos compuestos es la aparición del pico base a  $m/z$  371 correspondiente a  $[M-R\text{COOCH}_2]^+$  en el primer caso (Figura 39a), siendo el pico base a  $m/z$  313  $[R\text{CO}+74]^+$  en el segundo caso (Figura 39b).



**Figura 39.** Espectros de masas del hexadecanoato de 3-hexadecanoiloxi-2-hidroxi-propilo silanizado (a) y del hexadecanoato de 2-hexadecanoiloxi-3-hidroxi-propilo silanizado (b).

## 4.2.1.18. Triglicéridos

Los espectros de masas de los triglicéridos se caracterizan por los fragmentos  $[M-R\text{COOCH}_2]^+$ ,  $[R\text{CO}+74]^+$ ,  $[R\text{CO}+128]^+$ , entre otros (Lauer *et al.*, 1970). El espectro de masas de la 1,2-dioleoilpalmitina (O2P) se muestra en la Figura 40. El ión molecular es de  $m/z$  858, superior al rango de detección del espectrómetro de masas, por lo que no se pudo detectar. Esto no supuso un inconveniente a la hora de identificar el compuesto debido a la presencia de otros fragmentos característicos. El pico base es de  $m/z$  577, correspondiente a la pérdida de la molécula oleoil (equivalente a 281 uma),  $[M-R\text{COOCH}_2]^+$ , mientras que la pérdida de la molécula de palmitoil (equivalente a 255 uma) da lugar al fragmento a  $m/z$  603. Otros fragmentos a  $m/z$  339 y 313 corresponden a  $[R\text{CO}+74]^+$  y los fragmentos a  $m/z$  393 y 367 corresponden a  $[R\text{CO}+128]^+$ .

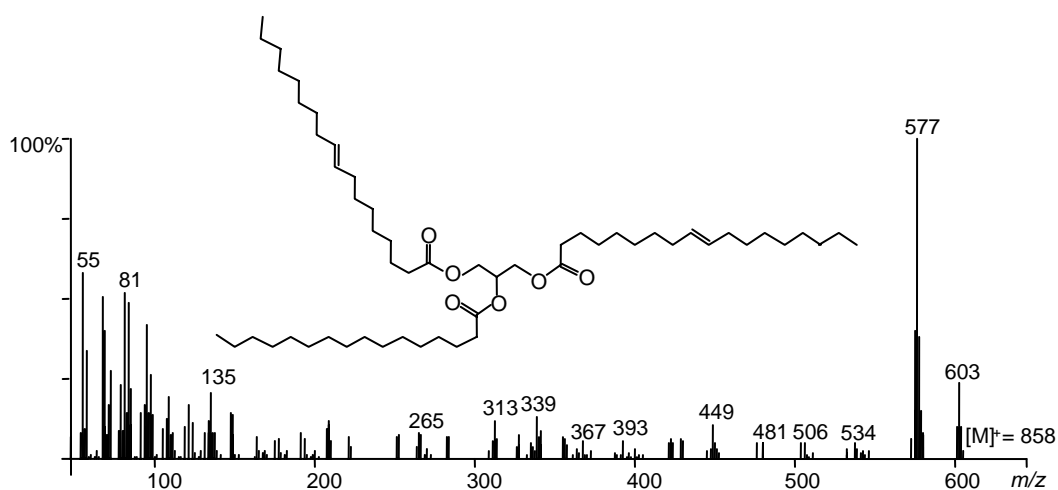


Figura 40. Espectro de masas de la 1,2-dioleoilpalmitina.

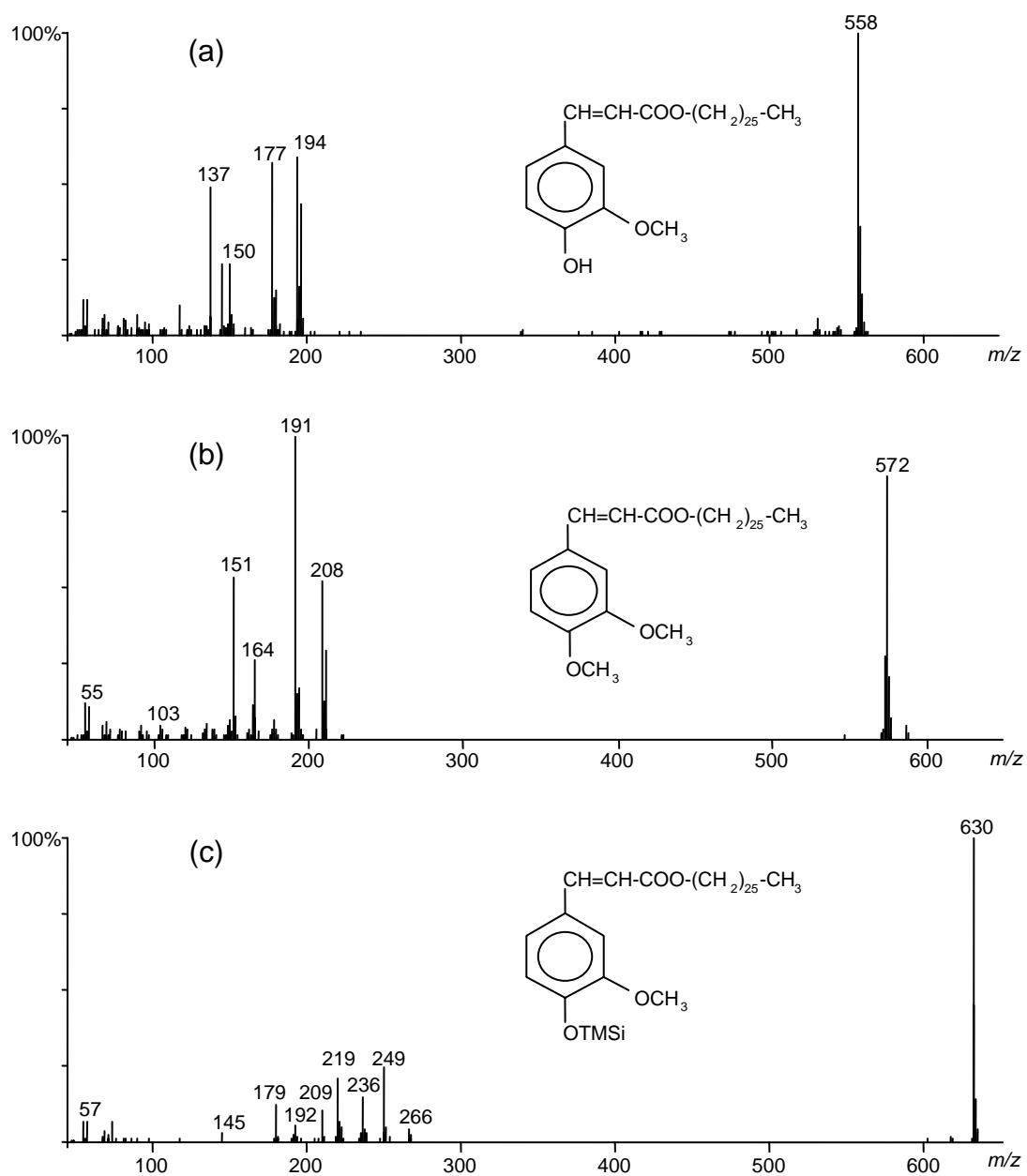
## 4.2.1.19. Ésteres del ácido ferúlico

Las series de ésteres del ácido ferúlico identificadas en este estudio están formadas por la unión del ácido ferúlico con una serie de  $n$ -alcoholes grasos de cadena larga y una serie de  $\omega$ -hidroxiácidos.

Ésteres del ácido ferúlico con *n*-alcoholes. Los espectros de masas de los ésteres del ácido ferúlico con *n*-alcoholes de cadena larga se caracterizan por presentar los iones moleculares, que son a la vez el pico base del espectro. En los espectros aparecen también fragmentos abundantes a  $m/z$  137, 150, 177 y 194, provenientes de la molécula de ácido ferúlico. El ión a  $m/z$  194 corresponde al ácido ferúlico mientras que el ión a  $m/z$  177 deriva de la molécula de ferulato por una simple rotura homolítica del enlace éster de ferulato. Espectros de masas similares han sido descritos por otros autores (Baldé *et al.*, 1991; Chang *et al.*, 2001; Correia *et al.*, 2003). Un ejemplo representativo del espectro de masas de estos compuestos es el de ferulato de hexacosilo (Figura 41a). Dicho espectro de masas se caracteriza por un abundante ión molecular a  $m/z$  558, que es el pico base.

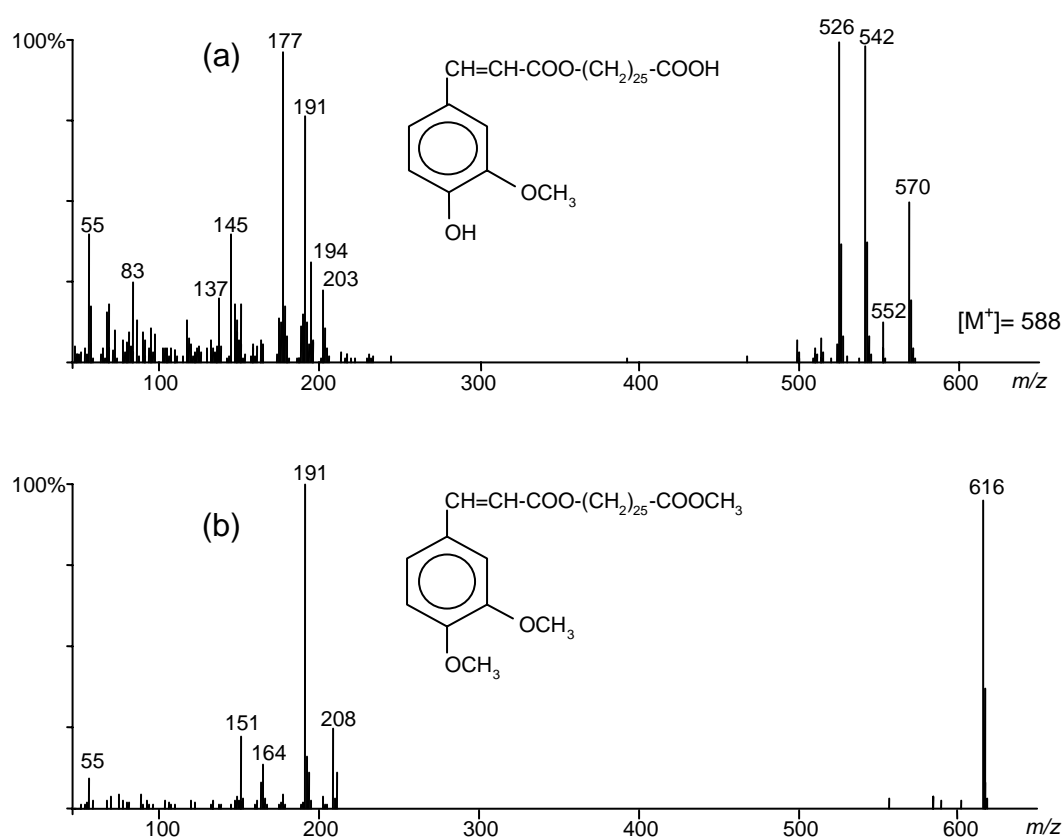
La identidad de esta serie de compuestos se confirmó también por la formación de los derivados metilados y silanizados. La formación de los derivados metilados de los ferulatos de *n*-alquilo introduce un grupo metilo en el alcohol fenólico. La fragmentación de masas de los derivados metilados muestra espectros de masas similares a los de los ferulatos sin derivatizar con la adición de 14 uma (Figura 41b). Los espectros de masas se caracterizan por un ión molecular intenso, y fragmentos a  $m/z$  151, 191 y 208, procedentes de la molécula de ácido ferúlico metilado. Los iones a  $m/z$  208 y 191, siendo éste último el pico base, procedentes del ácido ferúlico metilado y del fragmento feruloil, respectivamente, son los análogos correspondientes a los fragmentos a  $m/z$  194 y 177 en los compuestos sin derivatizar.

El espectro de masas de los derivados silanizados (Figura 41c) confirma las asignaciones de los compuestos llevadas a cabo por MS de la fracción sin derivatizar y metilada. Los iones moleculares son el pico base del espectro de masas, al igual que ocurre en los compuestos sin derivatizar. El grupo TMSi no se pierde de los grupos fenólicos fácilmente, por tanto, los fragmentos de los iones del ácido ferúlico aumentan a masas mayores por la adición de 72 uma. Por ello, el fragmento a  $m/z$  249, que corresponde a feruloil silanizado, es el análogo correspondiente al ión a  $m/z$  177 de los ferulatos de *n*-alquilo sin derivatizar. El ión correspondiente de ácido ferúlico silanizado es evidente también a  $m/z$  266. La intensidad del ión a  $m/z$  236 se relaciona con la eliminación de etano del ácido ferúlico silanizado para dar un puente éter dimetilsililo (Evershed *et al.*, 1988). Un espectro de masas similar ha sido publicado por Freire *et al.* (2002) para el ferulato de docosilo silanizado, identificado en la madera de eucalipto, aunque dichos autores muestran el ión a  $m/z$  249 como el pico base, mientras que en el presente estudio el ión molecular es el pico base.



**Figura 41.** Espectros de masas del ferulato de hexacosilo; sin derivatizar (a), metilado (b) y silanizado (c).

Ésteres del ácido ferúlico con  $\omega$ -hidroxiácidos. El espectro de masas de un miembro representativo de esta serie, el ácido feruloilohexacosanoico, se muestra en la Figura 42a. Los iones moleculares no se detectaron en el espectro de masas, sin embargo se determinaron con facilidad por los iones  $[M - 18]^+$ ,  $[M - 46]^+$  y  $[M - 62]^+$ , los cuales corresponden a pérdidas de agua y del grupo carboxílico. El perfil de fragmentación del espectro de masas de estos compuestos muestra fragmentos característicos a  $m/z$  145, 177, 191, 194 y 203 similares a los que se encontraron en el espectro de masas de los ferulatos de  $n$ -alquilo, y provenientes de la molécula de ácido ferúlico. El ión a  $m/z$  194 corresponde a la molécula de ácido ferúlico mientras que el ión a  $m/z$  177 deriva de la molécula de ferulato por rotura del enlace éster.



**Figura 42.** Espectros de masas del ácido feruloilohexacosanoico; sin derivatizar (a) y metilado (b).

Los grupos fenólicos y carboxílicos se confirmaron obteniendo los derivados metilados. Al metilar se introducen dos grupos metilo en la molécula. El espectro de masas del ácido feruloiloxihexacosanoico metilado, se muestra en la Figura 42b. El espectro de masas se caracteriza por los fragmentos a  $m/z$  191 (pico base) y a  $m/z$  151, 164, 208, procedentes de la molécula de ácido ferúlico metilada. El espectro de masas es similar al de los ferulatos de  $n$ -alquilo metilados.

#### 4.2.1.20. Ésteres del ácido *trans-p*-cumárico

Las series de ésteres del ácido *trans-p*-cumárico se identificaron únicamente en las fibras de abacá. Estos ésteres están formados por la unión del ácido *trans-p*-cumárico con  $n$ -alcoholes y  $\omega$ -hidroxiácidos de cadena larga.

Ésteres del ácido *trans-p*-cumárico con  $n$ -alcoholes. El espectro de masas de un miembro representativo de esta serie, el tetracosanil *p*-cumarato, se muestra en la Figura 43a. Los espectros de masas de los *p*-cumaratos de  $n$ -alquilo son similares a los de los ferulatos de  $n$ -alquilo. Se caracterizan por los iones moleculares (a  $m/z$  500, en este compuesto), y fragmentos a  $m/z$  107, 120, 147, 164, 166 (procedentes de la molécula ácida de *p*-cumárico). El ión a  $m/z$  164 es el pico base y corresponde al ácido *p*-cumárico, mientras el ión a  $m/z$  147 deriva de la molécula de *p*-cumarato por simple rotura homolítica del enlace éster.

La identidad de estos compuestos se confirmó también por la formación de los derivados metilados y silanizados. Los derivados metilados de los *p*-cumaratos de  $n$ -alquilo introducen un grupo metilo en el alcohol fenólico. La fragmentación de masas de los derivados metilados muestra espectros de masas similares a los de los *p*-cumaratos sin derivatizar con la adición de 14 uma (Figura 43b). Los espectros de masas se caracterizan por el ión molecular y fragmentos a  $m/z$  121, 134, 161, 178 y 180, siendo este último el pico base, procedente de la molécula del ácido *p*-cumárico metilado. Los iones a  $m/z$  178 y 161 corresponden al ácido *p*-cumárico metilado y al fragmento *p*-cumaroil, respectivamente, ya vistos a  $m/z$  164 y 147 en los compuestos sin derivatizar.

Los espectros de masas de los derivados silanizados (Figura 43c) se caracterizan por un ión molecular intenso (no es el pico base, al contrario que en los homólogos del ácido ferúlico). Al igual que los derivados silanizados del ácido ferúlico, el grupo TMSi no se pierde de los grupos fenólicos fácilmente, por tanto, los fragmentos de los iones del ácido *p*-cumárico aumentan a masas mayores por la adición de 72 uma, dando lugar a los fragmentos a  $m/z$  179, 192, 219, 236 y 238.



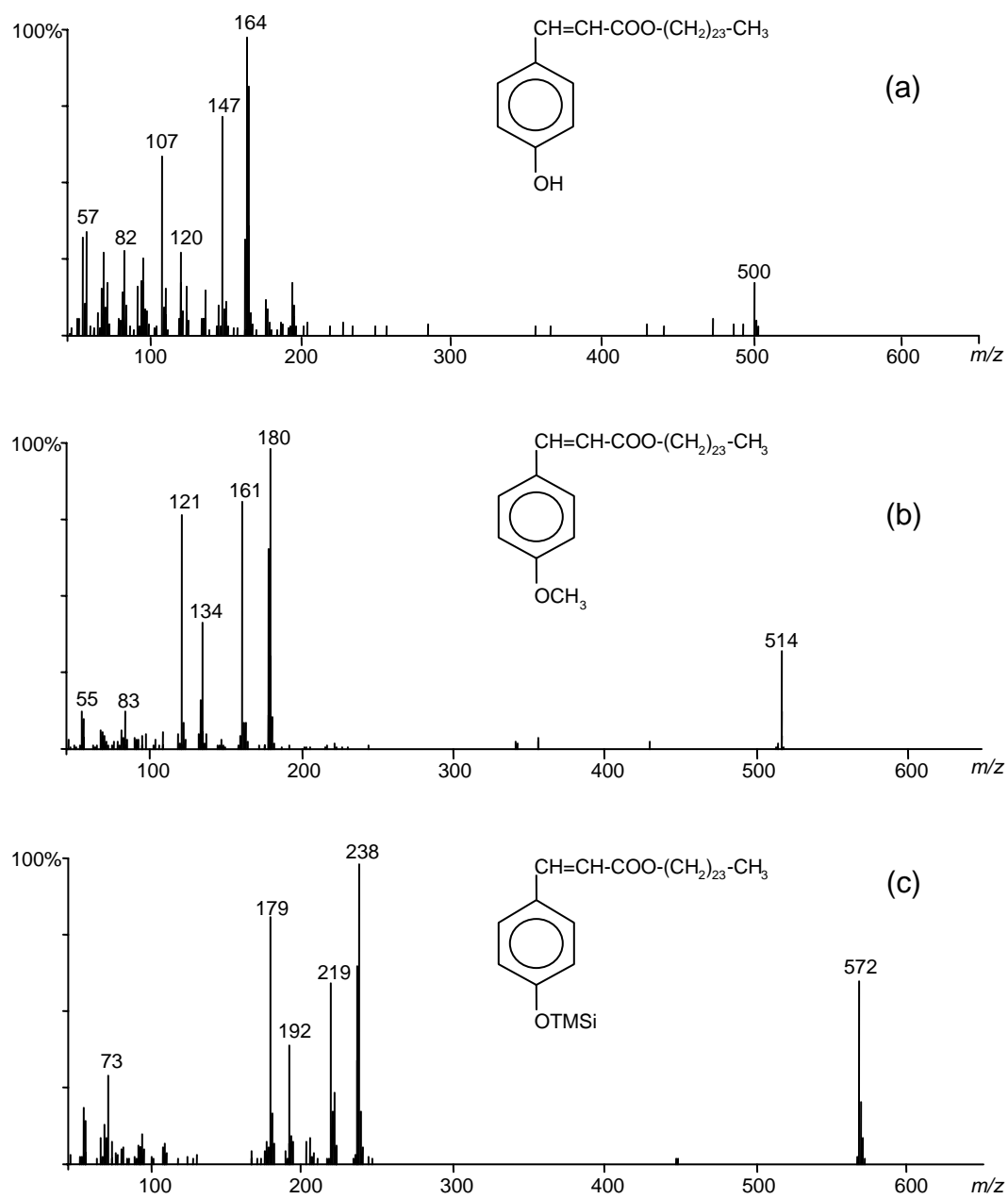
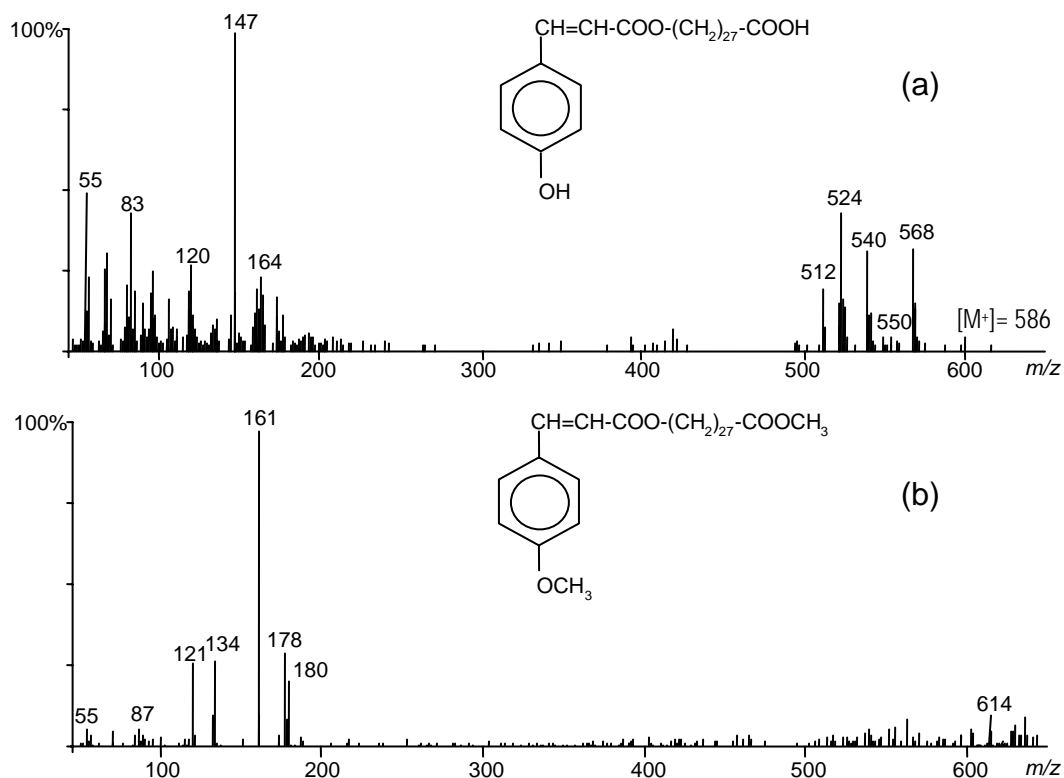


Figura 43. Espectros de masas del *p*-cumarato de tetracosilo; sin derivatizar (a), metilado (b) y silanizado (c).

Ésteres del ácido trans-*p*-cumárico con  $\omega$ -hidroxiácidos. El espectro de masas de un miembro representativo de la serie (ácido *p*-cumariloxioctacosanoico) se muestra en la Figura 44a.



**Figura 44.** Espectros de masas del ácido cumariloxioctacosanoico, sin derivatizar (a) y metilado (b).

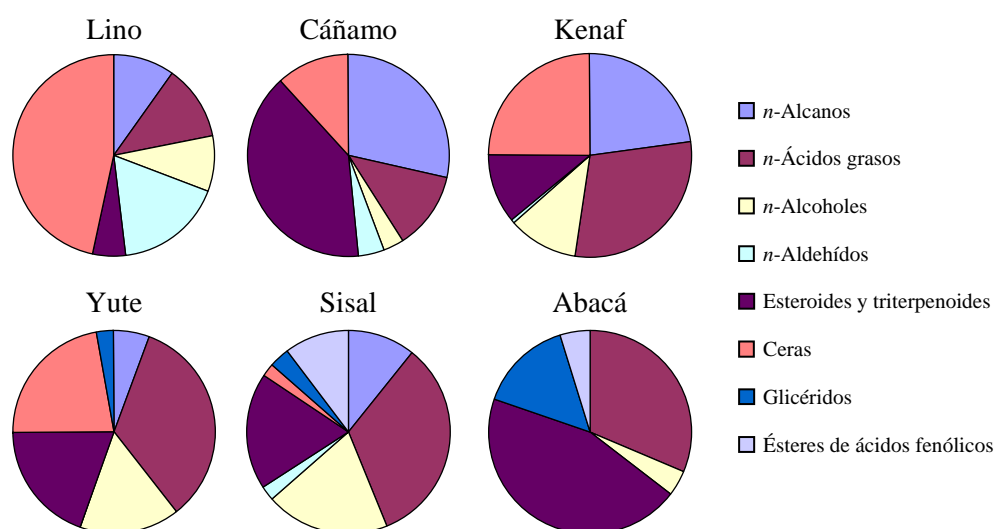
Al igual que en los feruloil ésteres de  $\omega$ -hidroxiácidos, los *p*-cumaroil ésteres de  $\omega$ -hidroxiácidos no muestran el ión molecular en los espectros, pudiéndose determinar por el fragmento  $[\text{M}-18]^+$ , y presentan los fragmentos  $[\text{M}-46]^+$  y  $[\text{M}-62]^+$ . El resto del espectro está caracterizado por un pico base a  $m/z$  147 y fragmentos a  $m/z$  120, 161, 164 de la molécula ácida de *p*-cumárico.

Los grupos fenólicos y carboxílicos se confirmaron obteniendo los derivados metilados. El espectro de masas del ácido *p*-cumariloxioctacosanoico metilado, se muestra en la Figura 44b. Se caracteriza por un pico base a  $m/z$  161 y fragmentos a  $m/z$  121, 134, 178 y 180 procedentes de la molécula del ácido *p*-cumárico metilado.

#### 4.2.2. Composición química de los lípidos de las fibras

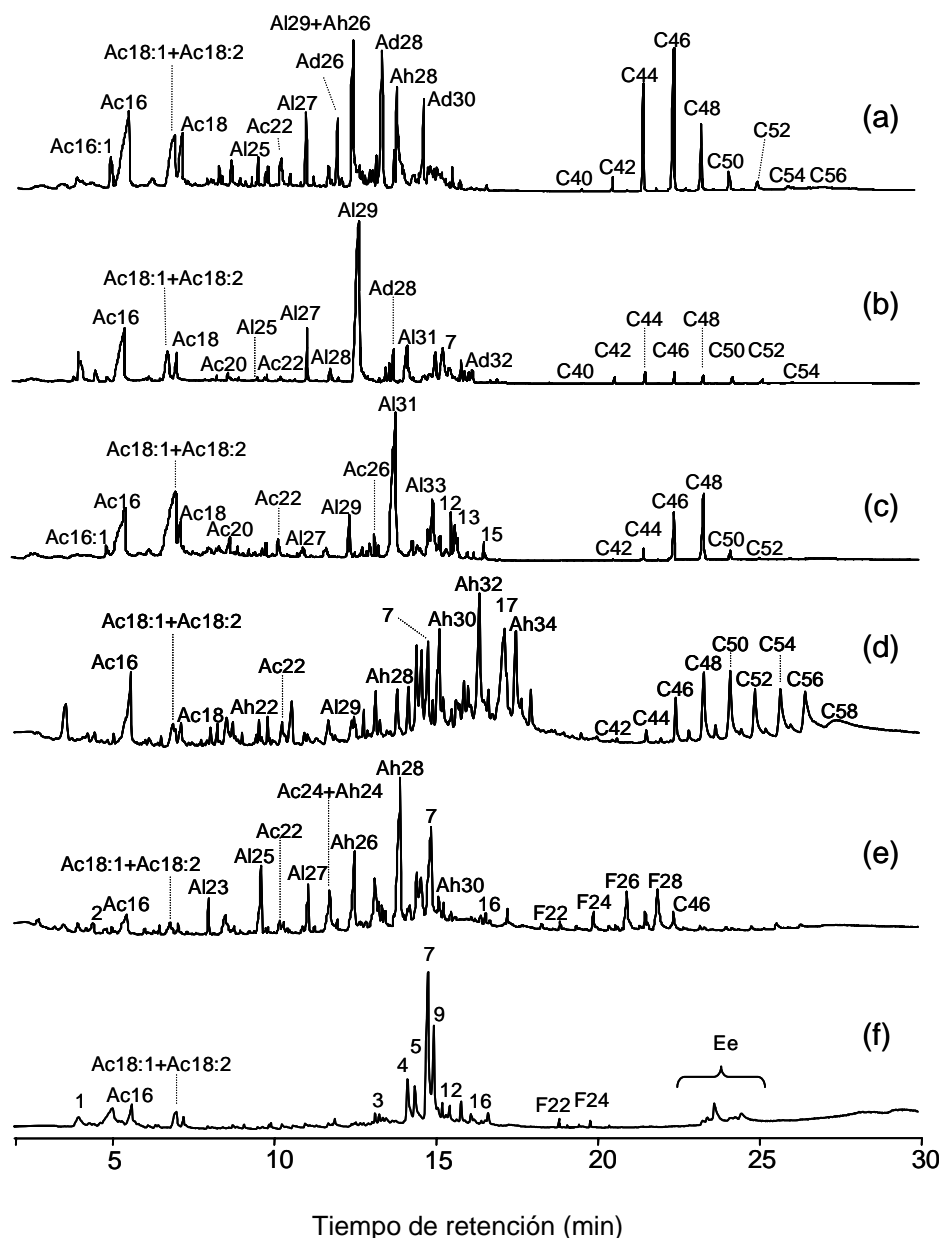
La composición de los lípidos de las fibras de las plantas herbáceas seleccionadas para este trabajo es prácticamente desconocida, sólo se han publicado algunos datos, muy limitados, sobre la composición de las fibras de lino (Morrison *et al.*, 2001) y kenaf (Seca *et al.*, 2000).

En la Figura 45 se muestran las principales familias de compuestos lipídicos determinadas tras análisis por GC/MS de los extractos de las fibras estudiadas que incluyen *n*-alcanos, *n*-ácidos grasos, *n*-alcoholes, *n*-aldehídos, esteroides y triterpenoles y ceras. Se puede observar que las ceras son muy abundantes en las fibras de los tallos (lino, cáñamo, kenaf y yute) estando casi ausentes en las fibras de las hojas (sisal y abacá). Dentro de las fibras de los tallos, es el lino, con diferencia, quien presenta una mayor abundancia de ceras. La serie de *n*-ácidos grasos está presente en todas las fibras. Otra de las series importantes por su abundancia es la serie de *n*-alcanos, presente en todas las fibras excepto en el abacá. La serie de *n*-alcoholes está presente también en todas las fibras. Entre las familias más abundantes se encuentra también la de esteroides en las fibras de cáñamo, sisal y abacá y triterpenoles en la fibra de cáñamo y yute.



**Figura 45.** Distribución de las principales familias de lípidos presentes en las fibras.

Los cromatogramas de los extractos lipídicos de las diferentes fibras se muestran en la Figura 46. El análisis detallado de dichos cromatogramas condujo a la identificación y cuantificación de numerosos compuestos que se muestran en la Tabla 5.



**Figura 46.** Cromatogramas de los extractos lipídicos sin derivatizar de las fibras: lino (a), cáñamo (b), kenaf (c), yute (d), sisal (e) y abacá (f). Ac(*n*): serie de *n*-ácidos grasos, Al(*n*): serie de *n*-alcanos, Ah(*n*): serie de *n*-alcoholes, Ad(*n*): serie de *n*-aldehídos, C(*n*): serie de *n*-ceras, F(*n*): serie de ésteres del ácido ferúlico con una serie de *n*-alcoholes y Ee: Ésteres de esteroides; *n*: número de átomos de carbono; 1: ácido *p*-cumárico, 2: ácido ferúlico, 3: estigmastan-3,5,7-trieno, 4: campesterol, 5: estigmasterol, 7: sitosterol, 9: cicloartenona, 12: estigmast-4-en-3-ona, 13: glutinol, 15: estigmastano-3,6-diona, 16: 7-oxositosterol y 17: epoxidammarano.

**Tabla 5.** Composición de los lípidos (mg/100 g) identificados en las fibras estudiadas.

<b>Compuestos</b>	<b>Lino</b>	<b>Cáñamo</b>	<b>Kenaf</b>	<b>Yute</b>	<b>Sisal</b>	<b>Abacá</b>
<b><i>n</i>-Alcanos</b>	<b>35,16</b>	<b>52,50</b>	<b>26,89</b>	<b>4,75</b>	<b>10,07</b>	-
<i>n</i> -heneicosano	0,39	0,16	0,29	-	0,14	-
<i>n</i> -docosano	-	-	-	-	0,06	-
<i>n</i> -tricosano	0,41	0,12	0,07	-	1,50	-
<i>n</i> -tetracosano	-	-	-	-	0,18	-
<i>n</i> -pentacosano	1,82	0,31	0,14	-	4,58	-
<i>n</i> -hexacosano	1,32	0,19	0,20	-	0,39	-
<i>n</i> -heptacosano	5,44	4,71	0,43	0,11	2,54	-
<i>n</i> -octacosano	1,46	1,25	0,23	0,04	0,10	-
<i>n</i> -nonacosano	21,07	39,03	1,93	0,63	0,40	-
<i>n</i> -triacontano	0,52	0,92	0,46	0,14	0,04	-
<i>n</i> -hentriacontano	2,73	4,72	20,48	0,80	0,15	-
<i>n</i> -dotriacontano	-	-	-	0,25	-	-
<i>n</i> -tritriacontano	<0,01	1,09	2,65	2,06	-	-
<i>n</i> -tetracontano	-	-	-	0,18	-	-
<i>n</i> -pentatriacontano	-	-	-	0,54	-	-
<b><i>n</i>-Ácidos grasos</b>	<b>43,01</b>	<b>21,67</b>	<b>33,35</b>	<b>13,03</b>	<b>18,95</b>	<b>12,99</b>
ácido <i>n</i> -tetradecanoico	1,31	0,25	0,25	0,24	0,27	0,12
ácido <i>n</i> -pentadecanoico	0,40	0,29	0,30	0,55	0,10	0,13
ácido 9-hexadecenoico	0,18	0,05	0,09	0,02	0,08	0,25
ácido <i>n</i> -hexadecanoico	16,79	11,15	10,87	2,99	2,25	1,26
ácido <i>n</i> -heptadecanoico	0,45	-	0,23	0,15	0,12	0,17
ácido 9,12-octadecadienoico	2,81	3,82	11,79	0,11	0,48	3,44
ácido 9-octadecenoico	6,67	2,27	5,29	1,87	1,68	3,93
ácido <i>n</i> -octadecanoico	6,54	2,10	1,74	1,12	0,71	0,55
ácido <i>n</i> -nonadecanoico	-	-	-	0,05	0,02	0,08
ácido <i>n</i> -eicosanoico	1,87	0,78	0,86	0,66	0,18	0,19
ácido <i>n</i> -heneicosanoico	-	-	-	0,26	0,11	0,10
ácido <i>n</i> -docosanoico	2,25	0,48	0,91	0,98	1,22	0,49
ácido <i>n</i> -tricosanoico	-	-	-	0,31	0,55	0,26
ácido <i>n</i> -tetracosanoico	1,49	0,23	0,37	0,50	2,22	0,44
ácido <i>n</i> -pentacosanoico	-	-	-	0,39	1,34	0,40
ácido <i>n</i> -hexacosanoico	0,77	0,07	0,17	0,25	2,47	0,37
ácido <i>n</i> -heptacosanoico	-	-	-	0,09	0,61	0,20
ácido <i>n</i> -octacosanoico	0,96	0,08	0,34	0,23	2,93	0,31
ácido <i>n</i> -nonacosanoico	-	-	-	0,11	0,44	0,10
ácido <i>n</i> -triacontanoico	0,45	0,09	0,12	0,65	1,03	0,13
ácido <i>n</i> -hentriacontanoico	-	-	-	0,11	-	-
ácido <i>n</i> -dotriacontanoico	0,05	<0,01	0,02	0,79	0,09	0,04
ácido <i>n</i> -tritriacontanoico	-	-	-	0,04	-	-
ácido <i>n</i> -tetracontanoico	-	-	-	0,51	0,07	0,02
ácido <i>n</i> -pentatriacontanoico	-	-	-	0,01	-	-
ácido <i>n</i> -hexatriacontanoico	-	-	-	0,05	-	0,01

(Cont.)

Compuestos	Lino	Cáñamo	Kenaf	Yute	Sisal	Abacá
<b><math>\alpha</math>-Hidroxiácidos</b>	<b>0,70</b>	<b>0,45</b>	<b>0,60</b>	<b>10,28</b>	<b>2,28</b>	<b>0,82</b>
ácido 2-hidroxihexadecanoico	0,51	0,31	0,07	-	-	-
ácido 2-hidroxidocosanoico	0,03	0,03	0,12	-	-	-
ácido 2-hidroxitricosanoico	0,03	0,03	0,09	2,06	-	-
ácido 2-hidroxitetraacosanoico	0,11	0,05	0,25	5,48	2,16	0,76
ácido 2-hidroxipentacosanoico	0,01	0,01	0,05	2,74	0,12	0,06
ácido 2-hidroxihexacosanoico	-	<0,01	0,02	-	-	-
<b><math>\omega</math>- Hidroxiácidos</b>	-	-	-	<b>3,45</b>	<b>9,12</b>	<b>3,30</b>
ácido 22-hidroxidocosanoico	-	-	-	3,06	0,68	0,62
ácido 24-hidroxitetraacosanoico	-	-	-	0,39	0,35	0,43
ácido 26-hidroxihexacosanoico	-	-	-	-	4,04	1,13
ácido 28-hidroxiocetacosanoico	-	-	-	-	4,05	1,12
<b><i>n</i>-Alcoholes alifáticos</b>	<b>31,77</b>	<b>6,00</b>	<b>13,00</b>	<b>12,69</b>	<b>18,37</b>	<b>2,22</b>
<i>n</i> -hexadecanol	0,60	-	-	0,21	-	-
<i>n</i> -octadecanol	2,48	0,19	0,06	0,24	-	-
<i>n</i> -eicosanol	1,46	0,33	0,03	-	-	-
<i>n</i> -docosanol	1,02	1,04	0,02	0,89	0,49	0,74
<i>n</i> -tetraacosanol	0,44	0,33	<0,01	0,21	0,31	0,40
<i>n</i> -hexacosanol	6,49	0,59	1,76	0,33	4,76	0,16
<i>n</i> -octacosanol	14,50	1,57	8,93	1,20	11,99	0,55
<i>n</i> -triacontanol	4,10	1,63	2,19	2,42	0,74	0,37
<i>n</i> -dotriacontanol	0,68	0,33	0,01	3,08	0,08	-
<i>n</i> -tetracontanol	-	-	-	2,80	-	-
<i>n</i> -hexatriacontanol	-	-	-	0,62	-	-
<i>n</i> -octatriacontanol	-	-	-	0,62	-	-
<i>n</i> -tetracontanol	-	-	-	0,09	-	-
<b><i>n</i>-Aldehídos</b>	<b>61,96</b>	<b>7,90</b>	<b>0,65</b>	-	<b>1,97</b>	-
<i>n</i> -heneicosanal	0,64	0,09	0,11	-	0,07	-
<i>n</i> -docosanal	1,03	0,11	0,20	-	0,24	-
<i>n</i> -tricosanal	1,90	0,18	0,20	-	0,20	-
<i>n</i> -tetraacosanal	0,87	0,08	0,05	-	0,11	-
<i>n</i> -pentacosanal	0,79	0,05	-	-	0,20	-
<i>n</i> -hexacosanal	8,17	0,39	0,02	-	0,36	-
<i>n</i> -heptacosanal	1,82	<0,01	-	-	-	-
<i>n</i> -octacosanal	25,39	2,51	0,07	-	0,79	-
<i>n</i> -nonacosanal	0,79	0,15	-	-	-	-
<i>n</i> -triacontanal	19,90	3,72	<0,01	-	-	-
<i>n</i> -hentriacontanal	-	-	-	-	-	-
<i>n</i> -dotriacontanal	0,64	0,63	-	-	-	-
<b>Hidrocarburos esteroidales</b>	<b>11,10</b>	<b>3,07</b>	<b>2,32</b>	<b>1,63</b>	<b>4,03</b>	<b>1,69</b>
ergosta-3,5,7-trieno	0,12	-	0,20	0,09	0,04	0,35
ergosta-3,5-dieno	0,50	-	0,08	0,03	0,02	-

(Cont.)

4. Resultados y discusión

<b>Compuestos</b>	<b>Lino</b>	<b>Cañamo</b>	<b>Kenaf</b>	<b>Yute</b>	<b>Sisal</b>	<b>Abacá</b>
estigmastatetraeno	0,44	0,23	0,46	0,54	0,07	-
estigmasteno	0,77	-	0,20	-	-	-
estigmasta-3,5,7-trieno	1,49	1,46	0,96	0,60	3,26	1,21
estigmasta-3,5-dieno	7,78	1,38	0,43	0,37	0,64	0,14
<b>Esteroles/Triterpenoles</b>	<b>2,37</b>	<b>33,21</b>	<b>5,57</b>	<b>10,77</b>	<b>10,66</b>	<b>13,60</b>
colesterol	-	-	-	-	0,46	0,01
campesterol	0,27	1,70	0,07	0,68	0,38	2,01
estigmasterol	0,15	1,85	0,19	0,96	1,73	2,20
sitosterol	1,40	13,93	2,33	2,07	7,43	7,67
estigmastanol	0,16	3,78	0,27	0,06	0,22	-
7-oxocampesterol	-	-	-	0,10	-	0,05
7-oxositosterol	-	-	-	0,43	0,45	0,25
cicloartenol	-	-	-	-	-	0,54
24-metiléncicloartanol	-	-	-	-	-	0,14
cicloeucaleanol	-	-	-	-	-	0,59
motiol	-	-	0,31	-	-	-
glutinol	-	-	1,44	-	-	-
β-amirina	0,09	9,47	0,07	-	-	-
α-amirina	0,03	1,08	0,01	-	-	-
epoxidammarano (A)	-	-	-	5,17	-	-
epoxidammarano (B)	-	-	-	1,31	-	-
<b>α-Tocoferol</b>	<b>0,27</b>	<b>1,40</b>	<b>0,86</b>	<b>0,21</b>	<b>-</b>	<b>0,13</b>
<b>Cetonas</b>	<b>2,40</b>	<b>8,29</b>	<b>3,97</b>	<b>2,43</b>	<b>1,17</b>	<b>5,75</b>
estigmastan-3-ona	0,28	0,84	0,07	-	-	-
estigmasta-7,22-dien-3-ona	0,17	0,61	0,60	-	-	-
estigmasta-3,5-dien-7-ona	0,15	0,15	0,06	0,29	0,51	1,13
estigmast-4-en-3-ona	0,78	2,52	1,57	0,26	0,34	0,52
estigmastadienona (isómero)	0,46	0,64	0,29	-	-	-
ergostan-3,6-diona	0,03	0,09	0,23	-	-	-
estigmast-4-en-3,6-diona	0,07	0,03	0,30	0,01	0,03	0,06
estigmastane-3,6-diona	0,12	1,11	0,55	0,03	0,28	0,35
cicloartenona	-	-	-	-	-	3,02
24-metiléncicloartanona	-	-	-	-	-	0,67
β-amirenona	0,23	1,91	0,23	0,05	-	-
α-amirenona	0,12	0,38	0,07	0,03	-	-
isomultiflorenona	-	-	-	1,76	-	-
baurenona	-	-	-	0,06	-	-
<b>Glicósidos esteroidales</b>	<b>0,43</b>	<b>1,80</b>	<b>0,38</b>	<b>0,84</b>	<b>0,97</b>	<b>1,48</b>
campesteril 3β-D-glucopiranosido	0,08	0,15	0,04	0,10	0,07	0,25
estigmasteril 3β-D-glucopiranosido	0,09	0,14	0,07	0,19	0,20	0,08
sitosteril 3β-D-glucopiranosido	0,26	1,51	0,27	0,55	0,70	1,15
<b>Ceras</b>	<b>167,71</b>	<b>21,34</b>	<b>29,31</b>	<b>18,06</b>	<b>1,81</b>	<b>-</b>
C <sub>40</sub>	0,70	0,10	-	0,02	0,03	-

(Cont.)

<b>Compuestos</b>	<b>Lino</b>	<b>Cáñamo</b>	<b>Kenaf</b>	<b>Yute</b>	<b>Sisal</b>	<b>Abacá</b>
C <sub>42</sub>	4,87	1,95	0,21	0,06	0,15	-
C <sub>43</sub>	-	-	-	0,02	-	-
C <sub>44</sub>	39,24	4,23	1,71	0,27	0,57	-
C <sub>45</sub>	0,83	0,12	-	0,11	-	-
C <sub>46</sub>	78,11	4,47	8,12	1,44	0,72	-
C <sub>47</sub>	0,90	0,09	-	0,31	-	-
C <sub>48</sub>	29,94	3,25	16,97	3,13	0,19	-
C <sub>49</sub>	-	0,13	-	0,34	-	-
C <sub>50</sub>	8,15	3,66	1,90	3,01	0,16	-
C <sub>51</sub>	-	0,14	-	0,18	-	-
C <sub>52</sub>	3,70	2,61	0,40	2,44	-	-
C <sub>53</sub>	-	-	-	0,16	-	-
C <sub>54</sub>	1,27	0,59	-	2,65	-	-
C <sub>55</sub>	-	-	-	0,16	-	-
C <sub>56</sub>	-	-	-	2,70	-	-
C <sub>58</sub>	-	-	-	1,06	-	-
<b>Ésteres de esteroides y triterpenoides</b>	<b>1,94</b>	<b>26,53</b>	<b>0,63</b>	<b>-</b>	<b>0,21</b>	<b>1,75</b>
ésteres de campesterol	-	-	-	-	-	0,06
ésteres de estigmasterol	-	-	-	-	-	0,06
ésteres de sitosterol	0,08	0,05	0,09	-	0,21	0,59
ésteres de cicloartenol	-	-	-	-	-	0,13
ésteres de 24-metilencicloartanol	-	-	-	-	-	0,91
ésteres de taraxerol	-	0,80	-	-	-	-
ésteres de lupeol	-	2,64	-	-	-	-
ésteres de $\beta$ -amirina	1,82	18,47	0,16	-	-	-
ésteres de $\alpha$ -amirina	0,04	4,57	0,02	-	-	-
ésteres de glutinol	-	-	0,36	-	-	-
<b>Monoglicéridos</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>0,82</b>	<b>2,99</b>	<b>3,05</b>
tetradecanoato de 2,3-dihidroxiopilo	-	-	-	0,03	-	0,04
pentadecanoato de 2,3-dihidroxiopilo	-	-	-	0,01	-	-
hexadecanoato de 2,3-dihidroxiopilo	-	-	-	0,26	0,08	0,23
9-octadecenoato de 2,3-dihidroxiopilo	-	-	-	0,19	0,05	0,56
octadecanoato de 2,3-dihidroxiopilo	-	-	-	0,19	0,04	0,22
hexacosanoato de 2,3-dihidroxiopilo	-	-	-	-	0,65	0,80
heptacosanoato de 2,3-dihidroxiopilo	-	-	-	-	-	0,21
octacosanoato de 2,3-dihidroxiopilo	-	-	-	-	1,59	0,88
nonacosanoato de 2,3-dihidroxiopilo	-	-	-	-	0,11	0,05
triacontanoato de 2,3-dihidroxiopilo	-	-	-	0,05	0,46	0,06
hentriacontanoato de 2,3-dihidroxiopilo	-	-	-	-	-	-
dotriacontanoato de 2,3-dihidroxiopilo	-	-	-	0,06	-	-
tritriacontanoato de 2,3-dihidroxiopilo	-	-	-	-	-	-
tetracontanoato de 2,3-dihidroxiopilo	-	-	-	0,02	-	-
<b>Diglicéridos</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>1,37</b>	<b>0,28</b>	<b>1,70</b>
P2 (1,2)	-	-	-	0,06	-	0,07
P2 (1,3)	-	-	-	0,37	0,12	0,15

(Cont.)



<b>Compuestos</b>	<b>Lino</b>	<b>Cáñamo</b>	<b>Kenaf</b>	<b>Yute</b>	<b>Sisal</b>	<b>Abacá</b>
PSt (1,2)	-	-	-	0,12	-	0,17
PSt (1,3)	-	-	-	0,36	0,09	0,27
OO(1,2)	-	-	-	0,05	-	0,33
St2 (1,2)	-	-	-	0,14	-	0,45
St2 (1,3)	-	-	-	0,26	0,08	0,25
<b>Triglicéridos</b>	-	-	-	-	-	<b>3,42</b>
P2O	-	-	-	-	-	0,48
O2P	-	-	-	-	-	1,90
O3	-	-	-	-	-	1,04
<b>Ferulatos de <i>n</i>-alquilo</b>	-	-	-	-	<b>9,15</b>	<b>2,14</b>
ferulato de eicosilo	-	-	-	-	<0,01	0,02
ferulato de heneicosilo	-	-	-	-	0,07	0,02
ferulato de docosilo	-	-	-	-	0,39	0,85
ferulato de tricosisilo	-	-	-	-	0,15	0,16
ferulato de tetracosilo	-	-	-	-	0,91	0,93
ferulato de pentacosilo	-	-	-	-	0,20	0,06
ferulato de hexacosilo	-	-	-	-	3,11	0,08
ferulato de heptacosilo	-	-	-	-	0,11	0,01
ferulato de octacosilo	-	-	-	-	4,17	0,01
ferulato de nonacosilo	-	-	-	-	<0,01	-
ferulato de triacontilo	-	-	-	-	0,05	-
<b><math>\omega</math>-Carboxialquilferulatos</b>	-	-	-	-	<b>0,25</b>	<b>0,25</b>
ácido feruloiloxidocosanoico	-	-	-	-	<0,01	<0,01
ácido feruloiloxitricosanoico	-	-	-	-	-	-
ácido feruloiloxitetracosanoico	-	-	-	-	0,04	0,05
ácido feruloiloxipentacosanoico	-	-	-	-	-	0,01
ácido feruloiloxihexacosanoico	-	-	-	-	0,10	0,10
ácido feruloiloxiheptacosanoico	-	-	-	-	-	0,02
ácido feruloiloxioctacosanoico	-	-	-	-	0,11	0,07
ácido feruloiloxinonacosanoico	-	-	-	-	-	-
ácido feruloiloxitriacontanoico	-	-	-	-	<0,01	-
<b>Cumaratos de <i>n</i>-alquilo</b>	-	-	-	-	-	<b>0,21</b>
cumarato de docosilo	-	-	-	-	-	0,06
cumarato de tetracosilo	-	-	-	-	-	0,14
<b><math>\omega</math>-Carboxialquilocumaratos</b>	-	-	-	-	-	<b>0,03</b>
ácido cumaroiltetracosanoico	-	-	-	-	-	0,01
ácido cumaroilhexacosanoico	-	-	-	-	-	0,01
ácido cumaroiloctacosanoico	-	-	-	-	-	0,01

- No detectados; P: ácido palmítico; O: ácido oléico y St: ácido esteárico.

Las fibras de lino se diferencian de las demás fibras por la gran abundancia de ceras y *n*-aldehídos, las de cáñamo por la gran cantidad de triterpenos de tipo  $\beta$ - y  $\alpha$ - amirinas, el kenaf por la presencia de los triterpenoles motiol y glutinol, el yute por la presencia de dos compuestos con estructura epoxidammarano y de las cetonas triterpenoidales isomultiflorenona y baurenona. Por otro lado, la presencia de ferulatos de *n*-alcoholes grasos y de  $\omega$ -hidroxiácidos en las fibras de sisal y abacá y de una serie de *p*-cumaratos de *n*-alcoholes grasos y de  $\omega$ -hidroxiácidos en el abacá distingue a estas fibras de las demás.

Por otra parte, la caracterización estructural detallada de las ceras de alto peso molecular, realizada según sus espectros de masas tal como se explicó en el apartado 4.2.1.13., se muestra en la Tabla 6.

**Tabla 6.** Composición de los ésteres individuales de las diferentes ceras (mg/100 g) identificadas en las fibras.

Ceras	Ácido graso: alcohol graso	Lino	Cáñamo	Kenaf	Yute	Sisal	Abacá
<b>C<sub>40</sub></b>		<b>0,70</b>	<b>0,10</b>	-	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>	-
tetradecanoato de hexacosilo	C <sub>14</sub> :C <sub>26</sub>	-	-	-	-	0,01	-
hexadecanoato de tetracosilo	C <sub>16</sub> :C <sub>24</sub>	0,26	0,02	-	0,01	0,02	-
octadecanoato de docosilo	C <sub>18</sub> :C <sub>22</sub>	0,07	0,02	-	0,01	-	-
eicosanoato de eicosilo	C <sub>20</sub> :C <sub>20</sub>	0,24	0,06	-	-	-	-
docosanoato de octadecilo	C <sub>22</sub> :C <sub>18</sub>	0,13	-	-	-	-	-
<b>C<sub>42</sub></b>		<b>4,87</b>	<b>1,95</b>	<b>0,21</b>	<b>0,06</b>	<b>0,15</b>	-
tetradecanoato de octacosilo	C <sub>14</sub> :C <sub>28</sub>	-	-	-	-	0,02	-
hexadecanoato de hexacosilo	C <sub>16</sub> :C <sub>26</sub>	3,37	0,11	0,18	0,04	0,12	-
octadecanoato de tetracosilo	C <sub>18</sub> :C <sub>24</sub>	0,34	0,04	-	0,01	0,01	-
eicosanoato de docosilo	C <sub>20</sub> :C <sub>22</sub>	0,42	1,44	0,01	0,02	<0,01	-
docosanoato de eicosilo	C <sub>22</sub> :C <sub>20</sub>	0,59	0,33	0,01	-	-	-
tetracosanoato de octadecilo	C <sub>24</sub> :C <sub>18</sub>	0,13	0,03	0,01	-	-	-
hexacosanoato de hexadecilo	C <sub>26</sub> :C <sub>16</sub>	0,02	-	-	-	-	-
<b>C<sub>43</sub></b>		-	-	-	<b>0,02</b>	-	-
pentadecanoato de octacosilo	C <sub>15</sub> :C <sub>28</sub>	-	-	-	0,02	-	-
<b>C<sub>44</sub></b>		<b>39,24</b>	<b>4,23</b>	<b>1,71</b>	<b>0,27</b>	<b>0,57</b>	-
tetradecanoato de triacontilo	C <sub>14</sub> :C <sub>30</sub>	-	-	-	0,05	0,01	-
hexadecanoato de octacosilo	C <sub>16</sub> :C <sub>28</sub>	30,10	0,28	1,31	0,15	0,48	-
octadecanoato de hexacosilo	C <sub>18</sub> :C <sub>26</sub>	6,82	0,09	0,31	0,02	0,07	-
eicosanoato de tetracosilo	C <sub>20</sub> :C <sub>24</sub>	0,67	0,98	0,05	0,01	0,01	-
docosanoato de docosilo	C <sub>22</sub> :C <sub>22</sub>	1,14	2,40	0,04	0,03	0,01	-

(Cont.)

Ceras	Ácido graso: alcohol graso	Lino	Cáñamo	Kenaf	Yute	Sisal	Abacá
tetracosanoato de eicosilo	C <sub>24</sub> :C <sub>20</sub>	0,35	0,45	-	0,01	-	-
hexacosanoato de octadecilo	C <sub>26</sub> :C <sub>18</sub>	0,03	0,03	<0,01	<0,01	-	-
octacosanoato de hexadecilo	C <sub>28</sub> :C <sub>16</sub>	0,06	-	-	0,01	-	-
triacontanoato de tetradecilo	C <sub>30</sub> :C <sub>14</sub>	0,07	-	-	-	-	-
<b>C<sub>45</sub></b>		<b>0,83</b>	<b>0,12</b>	-	<b>0,11</b>	-	-
tetradecanoato de hentriacontilo	C <sub>14</sub> :C <sub>31</sub>	-	-	-	0,01	-	-
pentadecanoato de triacontilo	C <sub>15</sub> :C <sub>30</sub>	-	-	-	0,08	-	-
hexadecanoato de nonacosilo	C <sub>16</sub> :C <sub>29</sub>	0,32	0,01	-	0,02	-	-
octadecanoato de heptacosilo	C <sub>18</sub> :C <sub>27</sub>	0,33	-	-	-	-	-
eicosanoato de pentacosilo	C <sub>20</sub> :C <sub>25</sub>	0,05	0,05	-	-	-	-
docosanoato de tricosisilo	C <sub>22</sub> :C <sub>23</sub>	0,10	0,03	-	-	-	-
tetracosanoato de heneicosilo	C <sub>24</sub> :C <sub>21</sub>	0,03	0,03	-	-	-	-
<b>C<sub>46</sub></b>		<b>78,11</b>	<b>4,47</b>	<b>8,12</b>	<b>1,44</b>	<b>0,72</b>	-
tetradecanoato de dotriacontilo	C <sub>14</sub> :C <sub>32</sub>	-	-	-	0,17	0,01	-
hexadecanoato de triacontilo	C <sub>16</sub> :C <sub>30</sub>	15,80	0,54	0,81	1,08	0,08	-
octadecanoato de octacosilo	C <sub>18</sub> :C <sub>28</sub>	55,10	0,24	3,14	0,05	0,59	-
eicosanoato de hexacosilo	C <sub>20</sub> :C <sub>26</sub>	4,69	1,75	3,96	0,02	0,03	-
docosanoato de tetracosilo	C <sub>22</sub> :C <sub>24</sub>	1,17	1,50	0,12	0,02	0,01	-
tetracosanoato de docosilo	C <sub>24</sub> :C <sub>22</sub>	0,96	0,28	0,04	0,04	0,01	-
hexacosanoato de eicosilo	C <sub>26</sub> :C <sub>20</sub>	0,08	0,14	0,01	0,01	<0,01	-
octacosanoato de octadecilo	C <sub>28</sub> :C <sub>18</sub>	0,15	0,02	0,03	0,01	-	-
triacontanoato de hexadecilo	C <sub>30</sub> :C <sub>16</sub>	0,16	<0,01	0,01	0,05	-	-
<b>C<sub>47</sub></b>		<b>0,90</b>	<b>0,09</b>	-	<b>0,31</b>	-	-
tetradecanoato de tritriacontilo	C <sub>14</sub> :C <sub>33</sub>	-	-	-	0,01	-	-
pentadecanoato de dotriacontilo	C <sub>15</sub> :C <sub>32</sub>	-	-	-	0,18	-	-
hexadecanoato de hentriacontilo	C <sub>16</sub> :C <sub>31</sub>	0,12	0,01	-	0,08	-	-
heptadecanoato de triacontilo	C <sub>17</sub> :C <sub>30</sub>	-	-	-	0,03	-	-
octadecanoato de nonacosilo	C <sub>18</sub> :C <sub>29</sub>	0,48	-	-	0,01	-	-
eicosanoato de heptacosilo	C <sub>20</sub> :C <sub>27</sub>	0,16	0,03	-	-	-	-
docosanoato de pentacosilo	C <sub>22</sub> :C <sub>25</sub>	0,14	0,05	-	-	-	-
tetracosanoato de tricosisilo	C <sub>24</sub> :C <sub>23</sub>	-	<0,01	-	-	-	-
<b>C<sub>48</sub></b>		<b>29,94</b>	<b>3,25</b>	<b>16,97</b>	<b>3,13</b>	<b>0,19</b>	-
tetradecanoato de tetratriacontilo	C <sub>14</sub> :C <sub>34</sub>	-	-	-	0,15	-	-
hexadecanoato de dotriacontilo	C <sub>16</sub> :C <sub>32</sub>	0,63	0,11	0,32	2,47	<0,01	-
octadecanoato de triacontilo	C <sub>18</sub> :C <sub>30</sub>	16,60	0,13	1,18	0,35	0,10	-
eicosanoato de octacosilo	C <sub>20</sub> :C <sub>28</sub>	7,13	1,18	14,57	0,07	0,04	-
docosanoato de hexacosilo	C <sub>22</sub> :C <sub>26</sub>	4,59	0,87	0,75	0,02	0,03	-
tetracosanoato de tetracosilo	C <sub>24</sub> :C <sub>24</sub>	0,58	0,49	0,08	0,02	0,01	-
hexacosanoato de docosilo	C <sub>26</sub> :C <sub>22</sub>	0,16	0,39	0,01	0,03	<0,01	-
octacosanoato de eicosilo	C <sub>28</sub> :C <sub>20</sub>	0,17	0,06	<0,01	0,01	-	-
triacontanoato de octadecilo	C <sub>30</sub> :C <sub>18</sub>	0,08	0,01	0,06	0,02	-	-

(Cont.)

Ceras	Ácido graso: alcohol graso	Lino	Cáñamo	Kenaf	Yute	Sisal	Abacá
<b>C<sub>49</sub></b>		-	<b>0,13</b>	-	<b>0,34</b>	-	-
tetradecanoato de pentatriacontilo	C <sub>14</sub> :C <sub>35</sub>	-	-	-	0,01	-	-
pentadecanoato de tetratriacontilo	C <sub>15</sub> :C <sub>34</sub>	-	-	-	0,15	-	-
hexadecanoato de tritriacontilo	C <sub>16</sub> :C <sub>33</sub>	-	<0,01	-	0,11	-	-
heptadecanoato de dotriacontilo	C <sub>17</sub> :C <sub>32</sub>	-	-	-	0,06	-	-
octadecanoato de hentriacontilo	C <sub>18</sub> :C <sub>31</sub>	-	-	-	0,01	-	-
eicosanoato de nonacosilo	C <sub>20</sub> :C <sub>29</sub>	-	0,13	-	-	-	-
docosanoato de heptacosilo	C <sub>22</sub> :C <sub>27</sub>	-	<0,01	-	-	-	-
<b>C<sub>50</sub></b>		<b>8,15</b>	<b>3,66</b>	<b>1,90</b>	<b>3,01</b>	<b>0,16</b>	-
tetradecanoato de hexatriacontilo	C <sub>14</sub> :C <sub>36</sub>	-	-	-	0,03	-	-
hexadecanoato de tetratriacontilo	C <sub>16</sub> :C <sub>34</sub>	-	0,05	0,01	1,87	<0,01	-
octadecanoato de dotriacontilo	C <sub>18</sub> :C <sub>32</sub>	0,41	0,06	0,02	0,57	-	-
eicosanoato de tritriacontilo	C <sub>20</sub> :C <sub>30</sub>	1,85	1,27	1,73	0,35	-	-
docosanoato de octacosilo	C <sub>22</sub> :C <sub>28</sub>	4,12	1,36	0,12	0,11	0,03	-
tetracosanoato de hexacosilo	C <sub>24</sub> :C <sub>26</sub>	1,54	0,53	0,02	0,05	0,11	-
hexacosanoato de tetracosilo	C <sub>26</sub> :C <sub>24</sub>	0,07	0,09	-	0,01	0,01	-
octacosanoato de docosilo	C <sub>28</sub> :C <sub>22</sub>	0,11	0,20	-	0,02	-	-
tricontanoato de eicosilo	C <sub>30</sub> :C <sub>20</sub>	0,05	0,08	-	0,01	-	-
<b>C<sub>51</sub></b>		-	<b>0,14</b>	-	<b>0,18</b>	-	-
pentadecanoato de hexacontilo	C <sub>15</sub> :C <sub>36</sub>	-	-	-	0,02	-	-
hexadecanoato de pentacontilo	C <sub>16</sub> :C <sub>35</sub>	-	-	-	0,02	-	-
heptadecanoato de tetratriacontilo	C <sub>17</sub> :C <sub>34</sub>	-	-	-	0,05	-	-
octadecanoato de tritriacontilo	C <sub>18</sub> :C <sub>33</sub>	-	-	-	0,02	-	-
nonadecanoato de dotriacontilo	C <sub>19</sub> :C <sub>32</sub>	-	-	-	0,02	-	-
eicosanoato de hentriacontilo	C <sub>20</sub> :C <sub>31</sub>	-	0,04	-	0,02	-	-
heneicosanoato de triacontilo	C <sub>21</sub> :C <sub>30</sub>	-	-	-	0,05	-	-
docosanoato de nonacosilo	C <sub>22</sub> :C <sub>29</sub>	-	0,09	-	-	-	-
tetracosanoato de heptacosilo	C <sub>24</sub> :C <sub>27</sub>	-	0,02	-	-	-	-
<b>C<sub>52</sub></b>		<b>3,70</b>	<b>2,61</b>	<b>0,40</b>	<b>2,44</b>	-	-
tetradecanoato de octatriacontilo	C <sub>14</sub> :C <sub>38</sub>	-	-	-	0,04	-	-
hexadecanoato de hexatriacontilo	C <sub>16</sub> :C <sub>36</sub>	-	0,05	<0,01	0,19	-	-
octadecanoato de tetratriacontilo	C <sub>18</sub> :C <sub>34</sub>	-	0,03	-	0,42	-	-
eicosanoato de dotriacontilo	C <sub>20</sub> :C <sub>32</sub>	0,20	0,33	0,31	0,90	-	-
docosanoato de triacontilo	C <sub>22</sub> :C <sub>30</sub>	1,02	1,17	0,03	0,74	-	-
tetracosanoato de octacosilo	C <sub>24</sub> :C <sub>28</sub>	2,05	0,71	0,04	0,08	-	-
hexacosanoato de hexacosilo	C <sub>26</sub> :C <sub>26</sub>	0,34	0,05	0,02	0,03	-	-
octacosanoato de tetracosilo	C <sub>28</sub> :C <sub>24</sub>	0,04	0,03	-	0,02	-	-
tritriacontanoato de docosilo	C <sub>30</sub> :C <sub>22</sub>	0,05	0,24	-	0,02	-	-
<b>C<sub>53</sub></b>		-	-	-	<b>0,16</b>	-	-
pentadecanoato de octatriacontilo	C <sub>15</sub> :C <sub>38</sub>	-	-	-	0,01	-	-
heptadecanoato de heptatriacontilo	C <sub>17</sub> :C <sub>37</sub>	-	-	-	<0,01	-	-
heneicosanoato de dotriacontilo	C <sub>21</sub> :C <sub>32</sub>	-	-	-	0,10	-	-
tricosanoato de tritriacontilo	C <sub>23</sub> :C <sub>30</sub>	-	-	-	0,05	-	-

(Cont.)

Ceras	Ácido graso: alcohol graso	Lino	Cáñamo	Kenaf	Yute	Sisal	Abacá
<b>C<sub>54</sub></b>		<b>1,27</b>	<b>0,59</b>	-	<b>2,65</b>	-	-
tetradecanoato de tetracontilo	C <sub>14</sub> :C <sub>40</sub>	-	-	-	0,03	-	-
hexadecanoato de octatriacontilo	C <sub>16</sub> :C <sub>38</sub>	-	0,01	-	0,07	-	-
octadecanoato de hexatriacontilo	C <sub>18</sub> :C <sub>36</sub>	-	<0,01	-	0,04	-	-
eicosanoato de tetratriacontilo	C <sub>20</sub> :C <sub>34</sub>	-	0,03	-	0,46	-	-
docosanoato de dotriacontilo	C <sub>22</sub> :C <sub>32</sub>	0,16	0,14	-	1,38	-	-
tetracosanoato de triacontilo	C <sub>24</sub> :C <sub>30</sub>	1,11	0,30	-	0,59	-	-
hexacosanoato de octacosilo	C <sub>26</sub> :C <sub>28</sub>	-	0,08	-	0,06	-	-
octacosanoato de hexacosilo	C <sub>28</sub> :C <sub>26</sub>	-	0,01	-	0,01	-	-
triacontanoato de tetracosilo	C <sub>30</sub> :C <sub>24</sub>	-	0,01	-	0,01	-	-
<b>C<sub>55</sub></b>		-	-	-	<b>0,16</b>	-	-
heneicosanoato de tetratriacontilo	C <sub>21</sub> :C <sub>34</sub>	-	-	-	0,04	-	-
tricosanoato de dotriacontilo	C <sub>23</sub> :C <sub>32</sub>	-	-	-	0,08	-	-
pentacosanoato de triacontilo	C <sub>25</sub> :C <sub>30</sub>	-	-	-	0,04	-	-
<b>C<sub>56</sub></b>		-	-	-	<b>2,70</b>	-	-
tetradecanoato de dotetracontilo	C <sub>14</sub> :C <sub>42</sub>	-	-	-	0,01	-	-
hexadecanoato de tetracontilo	C <sub>16</sub> :C <sub>40</sub>	-	-	-	0,05	-	-
octadecanoato de octatriacontilo	C <sub>18</sub> :C <sub>38</sub>	-	-	-	0,01	-	-
eicosanoato de hexatriacontilo	C <sub>20</sub> :C <sub>36</sub>	-	-	-	0,08	-	-
docosanoato de tetratriacontilo	C <sub>22</sub> :C <sub>34</sub>	-	-	-	0,59	-	-
tetracosanoato de dotriacontilo	C <sub>24</sub> :C <sub>32</sub>	-	-	-	1,56	-	-
hexacosanoato de triacontilo	C <sub>26</sub> :C <sub>30</sub>	-	-	-	0,35	-	-
octacosanoato de octacosilo	C <sub>28</sub> :C <sub>28</sub>	-	-	-	0,04	-	-
triacontanoato de hexacosilo	C <sub>30</sub> :C <sub>26</sub>	-	-	-	0,01	-	-
<b>C<sub>58</sub></b>		-	-	-	<b>1,06</b>	-	-
tetracosanoato de tetratriacontilo	C <sub>24</sub> :C <sub>34</sub>	-	-	-	0,39	-	-
hexacosanoato de dotriacontilo	C <sub>26</sub> :C <sub>32</sub>	-	-	-	0,68	-	-

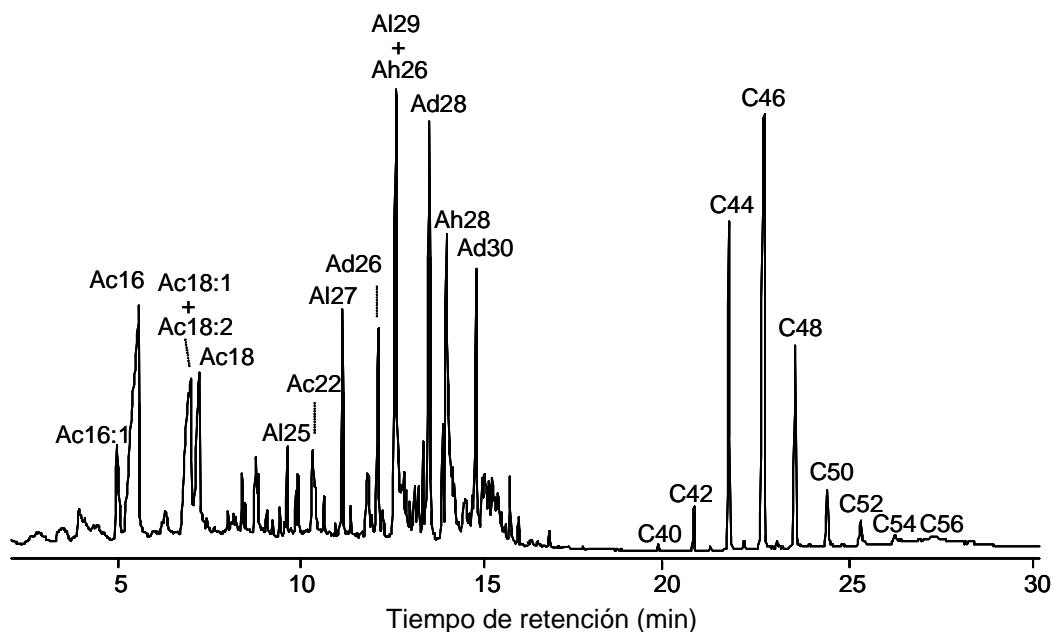
- No detectados.

Debido a la complejidad y a la importancia de la composición lipídica de las fibras, a continuación se muestra el análisis detallado de cada fibra por separado.

#### 4.2.2.1. Fibras de lino

El extracto lipídico de las fibras del lino es del 0,7% (Tabla 2). El cromatograma del extracto lipídico, sin derivatizar, se muestra en la Figura 47. La composición detallada de los compuestos identificados se muestra en la Tabla 5.

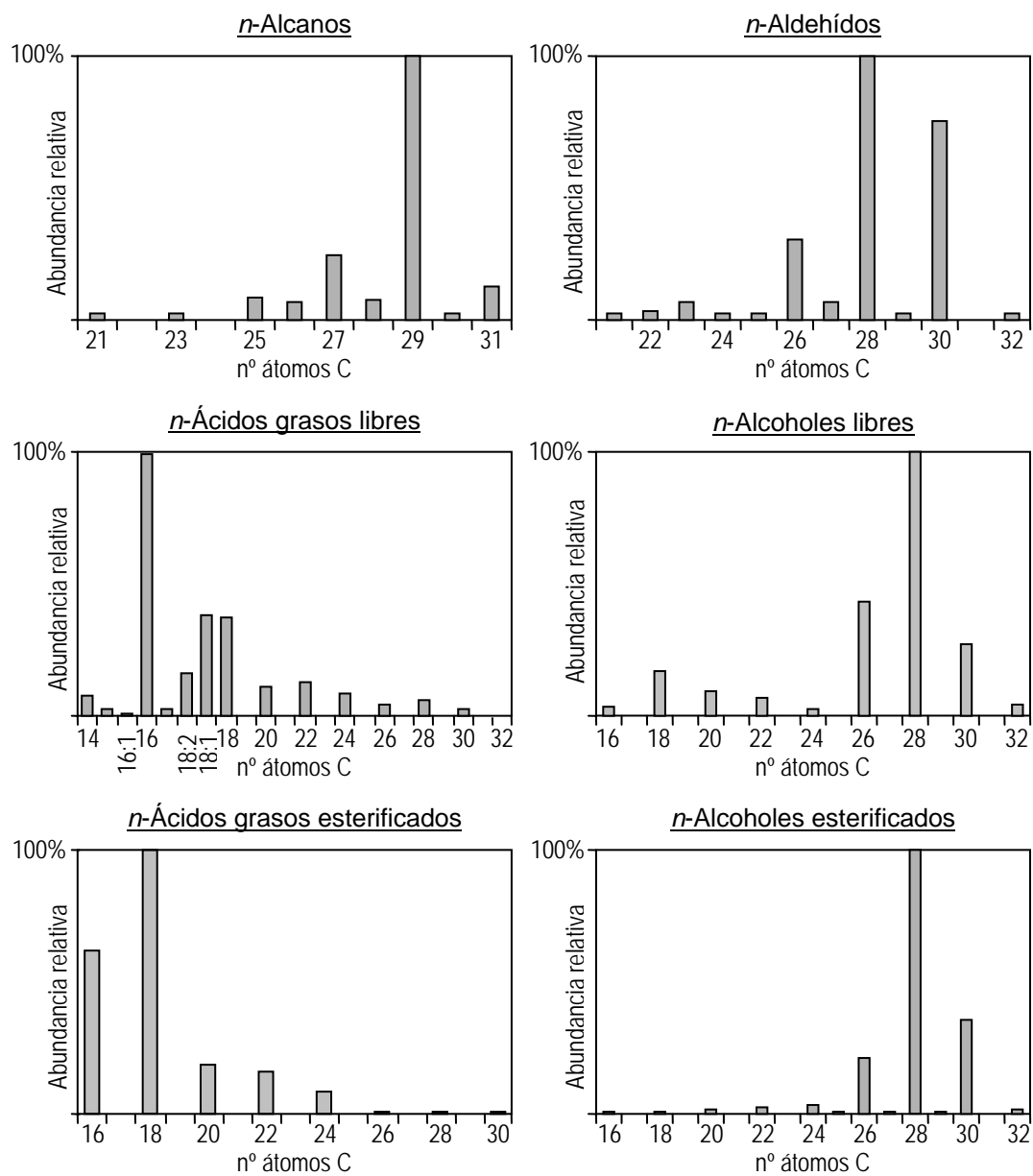
Los lípidos predominantes en las fibras de lino son las ceras (47%). Además, se identificaron cantidades significativas de *n*-aldehídos (17%), *n*-ácidos grasos (12%), *n*-alcanos (10%) y *n*-alcoholes de cadena larga (9%). También se



**Figura 47.** Cromatograma del extracto lipídico sin derivatizar de las fibras de lino. Ac(*n*): serie de *n*-ácidos grasos, Al(*n*): serie de *n*-alcanos, Ah(*n*): serie de *n*-alcoholes, Ad(*n*): serie de *n*-aldehídos y C(*n*): serie de *n*-ceras; *n*: número de átomos de carbono.

identificaron cantidades menores de esteroides y triterpenos. La distribución de las diferentes series alifáticas se muestra en la Figura 48.

Las ceras se encontraron en el rango de C<sub>40</sub> a C<sub>54</sub> con un fuerte predominio de los homólogos de cadena par sobre los de cadena impar, siendo las más abundantes las ceras C<sub>44</sub>, C<sub>46</sub> y C<sub>48</sub>. La caracterización estructural detallada de las ceras se muestra en la Tabla 6. La distribución de los ácidos grasos y alcoholes esterificados se muestra en la Figura 48. Los ácidos grasos esterificados se encontraron en el rango de C<sub>16</sub> a C<sub>30</sub> y los alcoholes esterificados de C<sub>16</sub> a C<sub>32</sub>. La parte ácida de las ceras está formada exclusivamente por ácidos grasos saturados con números de átomos de carbono pares. Los ácidos esterificados más abundantes son los ácidos octadecanoico (C<sub>18</sub>) y hexadecanoico (C<sub>16</sub>) seguidos por los ácidos eicosanoico (C<sub>20</sub>) y docosanoico (C<sub>22</sub>) y entre las moléculas de alcoholes, los más abundantes son el octacosanol (C<sub>28</sub>) seguido por el triacontanol (C<sub>30</sub>) y el hexacosanol (C<sub>26</sub>). La cera predominante es la C<sub>46</sub>, constituida principalmente por el ácido octadecanoico (C<sub>18</sub>) esterificado con el octacosanol (C<sub>28</sub>), seguido por la cera C<sub>44</sub>, formada principalmente por el ácido hexadecanoico (C<sub>16</sub>) esterificado con octacosanol (C<sub>28</sub>), y la cera C<sub>48</sub>, constituida principalmente por el ácido octadecanoico (C<sub>18</sub>) esterificado con triacontanol (C<sub>30</sub>).



**Figura 48.** Distribución de las principales series alifáticas identificadas en el extracto lipídico de las fibras de lino. Los histogramas están escalados al compuesto de mayor abundancia en cada serie.

Se identificaron también ácidos grasos libres en el rango de C<sub>14</sub> a C<sub>32</sub>, con un fuerte predominio de los homólogos con número par de átomos de carbono. La serie está dominada por los homólogos saturados aunque también se identificaron los insaturados C<sub>18:1</sub> (oleico), C<sub>18:2</sub> (linoleico) y C<sub>16:1</sub> (palmitoleico). El ácido hexadecanoico (ácido palmítico) es el más abundante, al igual que en los estudios realizados por Morrison *et al.* (2001) sobre los extractos de las fibras de diversas variedades de lino. Es interesante destacar que aunque los ácidos grasos insaturados están presentes en forma libre en las fibras del lino, no se encontraron esterificados formando parte de las ceras. La serie de *n*-alcanos se identificó en el rango de C<sub>21</sub> a C<sub>31</sub>, con un fuerte predominio de los homólogos con número impar de átomos de carbono, siendo el nonacosano (C<sub>29</sub>) el más abundante. Los *n*-alcanos con número par de átomos de carbono también se identificaron aunque en cantidades menores. Los *n*-alcoholes alifáticos se identificaron en el rango de C<sub>16</sub> a C<sub>32</sub>, con un fuerte predominio de los homólogos de cadena par sobre los de cadena impar, siendo el octacosanol (C<sub>28</sub>) el más abundante, al igual que en el trabajo publicado por Morrison *et al.* (2001). La distribución de la serie de alcoholes alifáticos libres es parecida a la distribución de la serie de alcoholes esterificados como se muestra en la Figura 48. Sin embargo, los alcoholes alifáticos de número impar de átomos de carbono se encontraron esterificados con ácidos grasos de cadena larga pero no se encontraron libres. La serie de *n*-aldehídos se identificó en el rango de C<sub>21</sub> a C<sub>32</sub>, con un fuerte predominio de los homólogos con número par de átomos de carbono, siendo el mayoritario el octacosanal (C<sub>28</sub>). La distribución de la serie de aldehídos es similar a la de los alcoholes libres, como se observa en otras plantas, sugiriendo que los aldehídos son intermediarios en la biosíntesis de alcoholes a partir de los ácidos grasos (Tulloch, 1976; Bianchi, 1995).

Entre los esteroides identificados, predomina el sitosterol. También se encontraron cantidades menores de otros esteroides libres como campesterol, estigmastanol y estigmasterol. Los triterpenoles β- y α-amirinas, están también presentes en forma libre. Tanto el sitosterol como la β-amirina se encontraron también esterificados, aunque en baja proporción. Por otro lado, en las fibras de lino se identificaron cantidades menores de glicósidos de esteroides, tales como campesteril, estigmasteril y sitosteril 3β-D-glucopiranosídeos, siendo este último el más abundante. La identificación de los glicósidos esteroideos se realizó después de derivatizar el extracto lipídico con BSTFA por comparación con el espectro de masas y los tiempos de retención relativos de estándares (Gutiérrez y del Río, 2001). Por otra parte, se identificaron varios hidrocarburos esteroideos (como estigmasta-3,5-dieno y estigmasta-3,5,7-trieno) y cetonas esteroideas y triterpenoidales (como estigmast-4-en-3-ona, estigmastan-3-ona, estigmasta-7,22-dien-3-ona y β- y α- amirenonas).

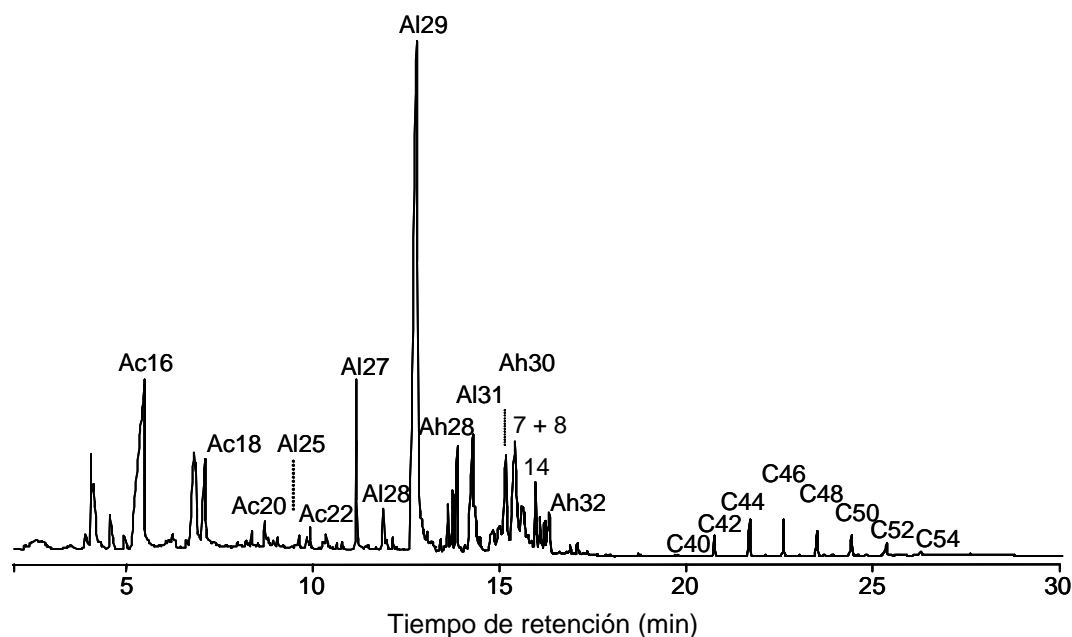
Finalmente, en las fibras de lino se identificaron una serie de α-hidroxiácidos



desde el ácido 2-hidroxihexadecanoico ( $C_{16}$ ) hasta el ácido 2-hidroxihexacosanoico ( $C_{26}$ ), siendo el mayoritario el ácido 2-hidroxihexadecanoico ( $C_{16}$ ).

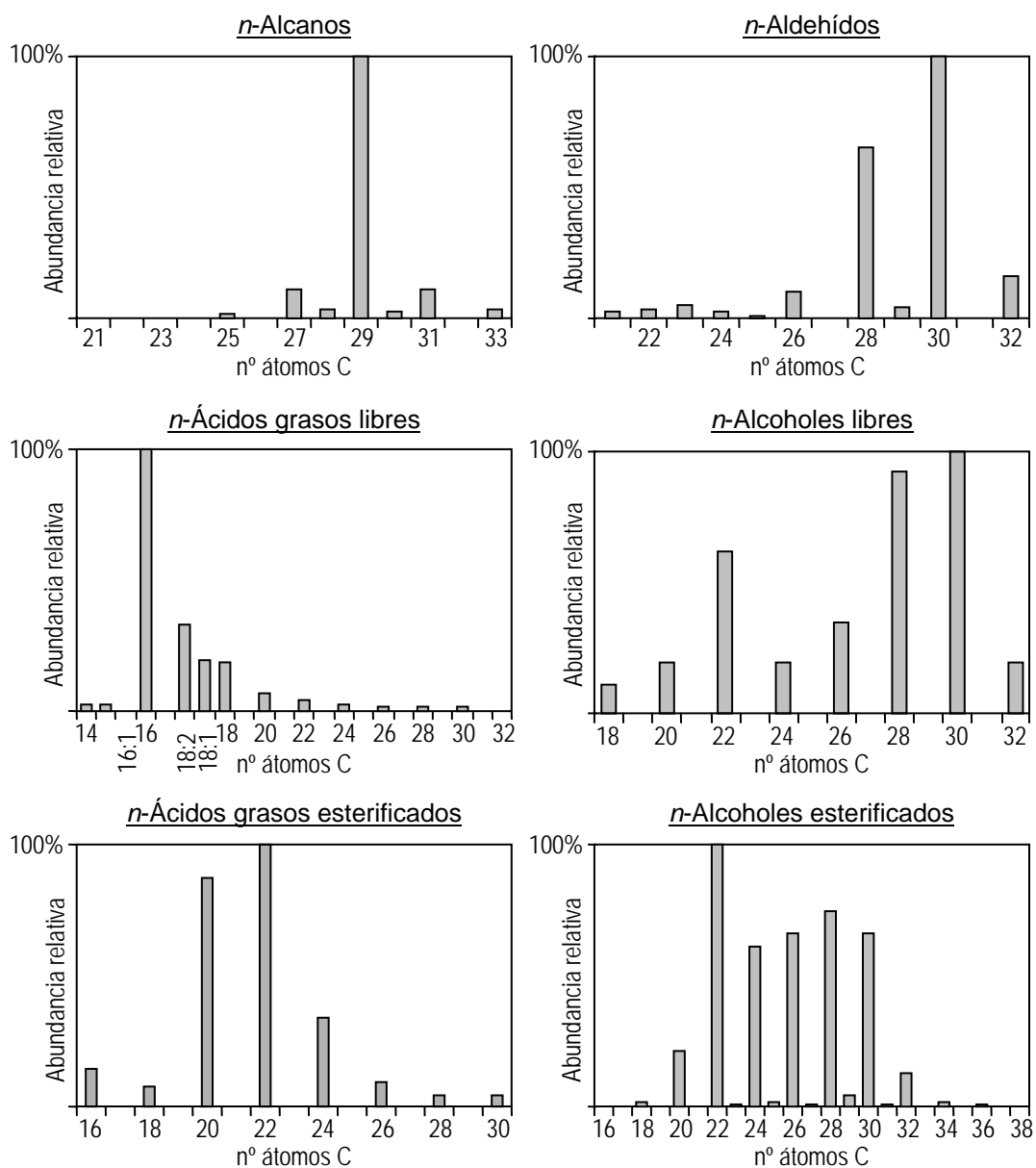
#### 4.2.2.2. Fibras de cáñamo

El extracto lipídico de las fibras de cáñamo es del 0,5% (Tabla 2). En la Figura 49 se muestra el cromatograma del extracto lipídico sin derivatizar. La composición detallada de los compuestos identificados se muestra en la Tabla 5.



**Figura 49.** Cromatograma del extracto lipídico sin derivatizar de las fibras de cáñamo. Ac(*n*): serie de *n*-ácidos grasos, Al(*n*): serie de *n*-alcanos, Ah(*n*): serie de *n*-alcoholes y C(*n*): serie de *n*-ceras; *n*: número de átomos de carbono; 7: sitosterol, 8:  $\beta$ -amirina y 14: acetato de  $\beta$ -amirina.

Los lípidos predominantes en las fibras de cáñamo son *n*-alcanos (29%), esteroides y triterpenoides (18%), ésteres de esteroides y triterpenoides (14%), seguidos de *n*-ácidos grasos (12%) y ceras (12%). También se identificaron cantidades significativas de otros compuestos como cetonas esteroidales y triterpenoidales, *n*-aldehídos, *n*-alcoholes de cadena larga, hidrocarburos esteroidales y glicósidos esteroidales, entre otros. La distribución de las principales series alifáticas se muestra en la Figura 50.

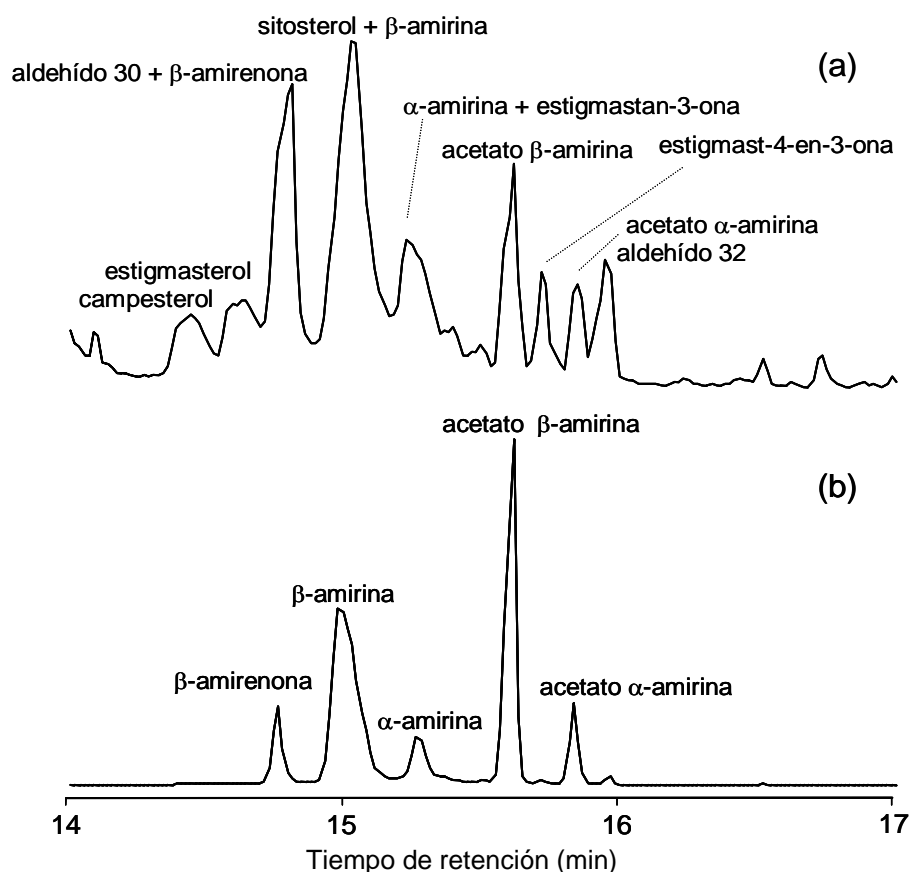


**Figura 50.** Distribución de las principales series alifáticas identificadas en el extracto de las fibras de cáñamo. Los histogramas están escalados al compuesto de mayor abundancia en cada serie.

La serie de *n*-alcanos varía del *n*-heneicosano (C<sub>21</sub>) al tritriacontano (C<sub>33</sub>), con un fuerte predominio de los homólogos con número impar de átomos de carbono, siendo el más abundante, con diferencia, el *n*-nonacosano (C<sub>29</sub>). La serie de *n*-ácidos grasos varía del ácido tetradecanoico (C<sub>14</sub>) al ácido dotriacontanoico (C<sub>32</sub>), con un fuerte predominio de los homólogos de cadena par sobre los de cadena impar y la presencia de los ácidos insaturados C<sub>18:1</sub> (oleico), C<sub>18:2</sub> (linoleico) y C<sub>16:1</sub> (palmitoleico). El más abundante es el ácido hexadecanoico (ácido palmítico, C<sub>16</sub>), seguido del ácido 9,12-octadecanoico (ácido linoleico, C<sub>18:2</sub>). En el extracto se encontró también, aunque en menor cantidad, una serie de *n*-aldehídos. La serie varía del heneicosanal (C<sub>21</sub>) al dotriacontanal (C<sub>32</sub>), predominando los homólogos de cadena par y siendo los mayoritarios triacontanal (C<sub>30</sub>) y octacosanal (C<sub>28</sub>). Se identificó también una serie de *n*-alcoholes de cadena larga aunque en baja proporción. La serie varía de octadecanol (C<sub>18</sub>) a dotriacontanol (C<sub>32</sub>) con un fuerte predominio de los homólogos de cadena par. Los más abundantes son triacontanol (C<sub>30</sub>) y octacosanol (C<sub>28</sub>). Además, se identificaron trazas de  $\alpha$ -hidroxiácidos. La serie de  $\alpha$ -hidroxiácidos está formada por el ácido 2-hidroxihexadecanoico (C<sub>16</sub>) y por los ácidos comprendidos entre el ácido 2-hidroxicosanoico (C<sub>22</sub>) y el ácido 2-hidroxihexacosanoico (C<sub>26</sub>), predominando el ácido 2-hidroxihexadecanoico (C<sub>16</sub>).

Las ceras, por su parte, se identificaron en el rango de C<sub>40</sub> a C<sub>54</sub> con un fuerte predominio de los homólogos de cadena par sobre los de cadena impar, siendo las mayoritarias las ceras C<sub>44</sub>, C<sub>46</sub>, C<sub>48</sub> y C<sub>50</sub>. La composición detallada de las ceras de alto peso molecular identificadas en las fibras se muestra en la Tabla 6. La cera C<sub>44</sub> está constituida principalmente por el ácido docosanoico (C<sub>22</sub>) esterificado con el docosanol (C<sub>22</sub>), seguido por la cera C<sub>46</sub>, formada principalmente por el ácido eicosanoico (C<sub>20</sub>) esterificado con hexacosanol (C<sub>26</sub>), la cera C<sub>48</sub> constituida principalmente por el ácido eicosanoico (C<sub>20</sub>) esterificado con octacosanol (C<sub>28</sub>) y la cera C<sub>50</sub> formada principalmente por el ácido docosanoico (C<sub>22</sub>) esterificado con octacosanol (C<sub>28</sub>). Los ácidos grasos esterificados se encontraron en un rango que varía del C<sub>16</sub> a C<sub>30</sub>, siendo los más abundantes el ácido eicosanoico (C<sub>20</sub>) y el ácido docosanoico (C<sub>22</sub>). Por su parte, los alcoholes esterificados varían del C<sub>16</sub> a C<sub>38</sub>, siendo el mayoritario el docosanol (C<sub>22</sub>) seguido del octacosanol (C<sub>28</sub>).

El extracto de las fibras de cáñamo presenta gran abundancia de esteroides y triterpenoides. La zona del cromatograma donde eluyen se encuentra ampliada en la Figura 51. Entre los esteroides y triterpenoides se identificaron campesterol, estigmasterol, sitosterol así como las  $\beta$ - y  $\alpha$ -amirinas. De ellos, los más abundantes fueron el sitosterol y la  $\beta$ -amirina, que se encuentran también esterificados con ácidos grasos. Los esteroides también se encontraron formando glicósidos, pero en baja proporción. Los glicósidos esteroidales presentes son los de campesterol, estigmasterol y sitosterol, siendo el más abundante este último. Dentro de las

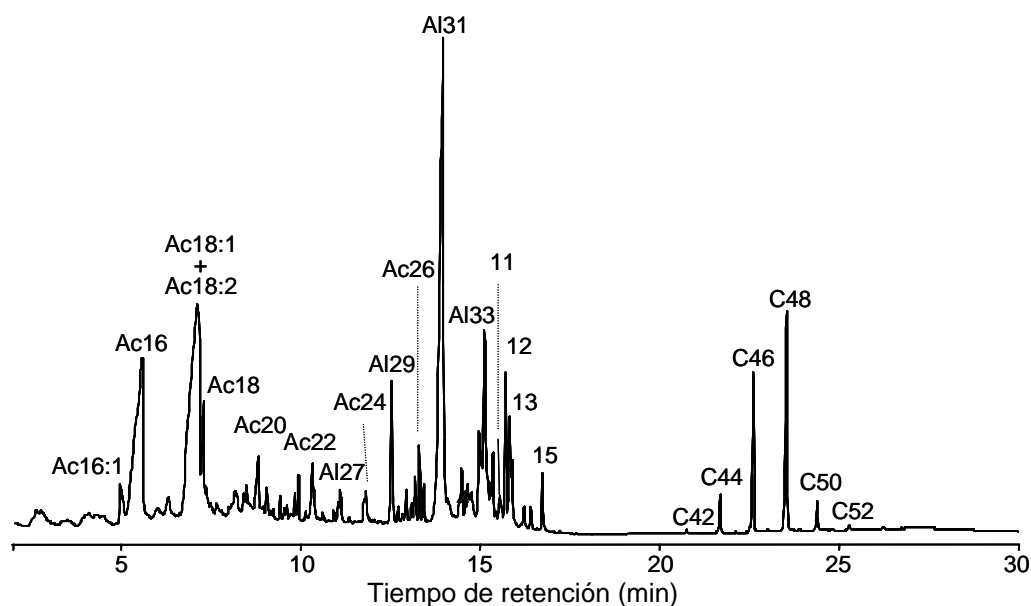


**Figura 51.** Cromatograma parcial del extracto lipídico del cáñamo (a) y cromatograma reconstruido del ión a  $m/z$  218 (b), típico de los triterpenoides derivados de las familias oleanano y ursano.

familias de triterpenoides, una de las más importantes presentes en el cáñamo, por su alta proporción, es la de los acetatos de  $\beta$ - y  $\alpha$ -amirina, que se encuentran en mayor proporción que las respectivas  $\beta$ - y  $\alpha$ -amirinas, siendo el acetato de  $\beta$ -amirina más abundante que el de  $\alpha$ -amirina. Además de los acetatos de amirinas, se identificaron los acetatos de lupeol y taraxerol, siendo más abundante el acetato de lupeol. También se identificaron varias cetonas esteroidales y triterpenoidales. De ellas las más abundantes son la estigmast-4-en-3-ona, la estigmastano-3,6-diona, la estigmastan-3-ona y la  $\beta$ -amirenona, respectivamente. Por otra parte, también se encontraron varios hidrocarburos esteroidales, como ergosta-3,5,7-trieno, ergosta-3,5-dieno, estigmasta-3,5,7-trieno y estigmasta-3,5-dieno, entre otros.

## 4.2.2.3. Fibras de kenaf

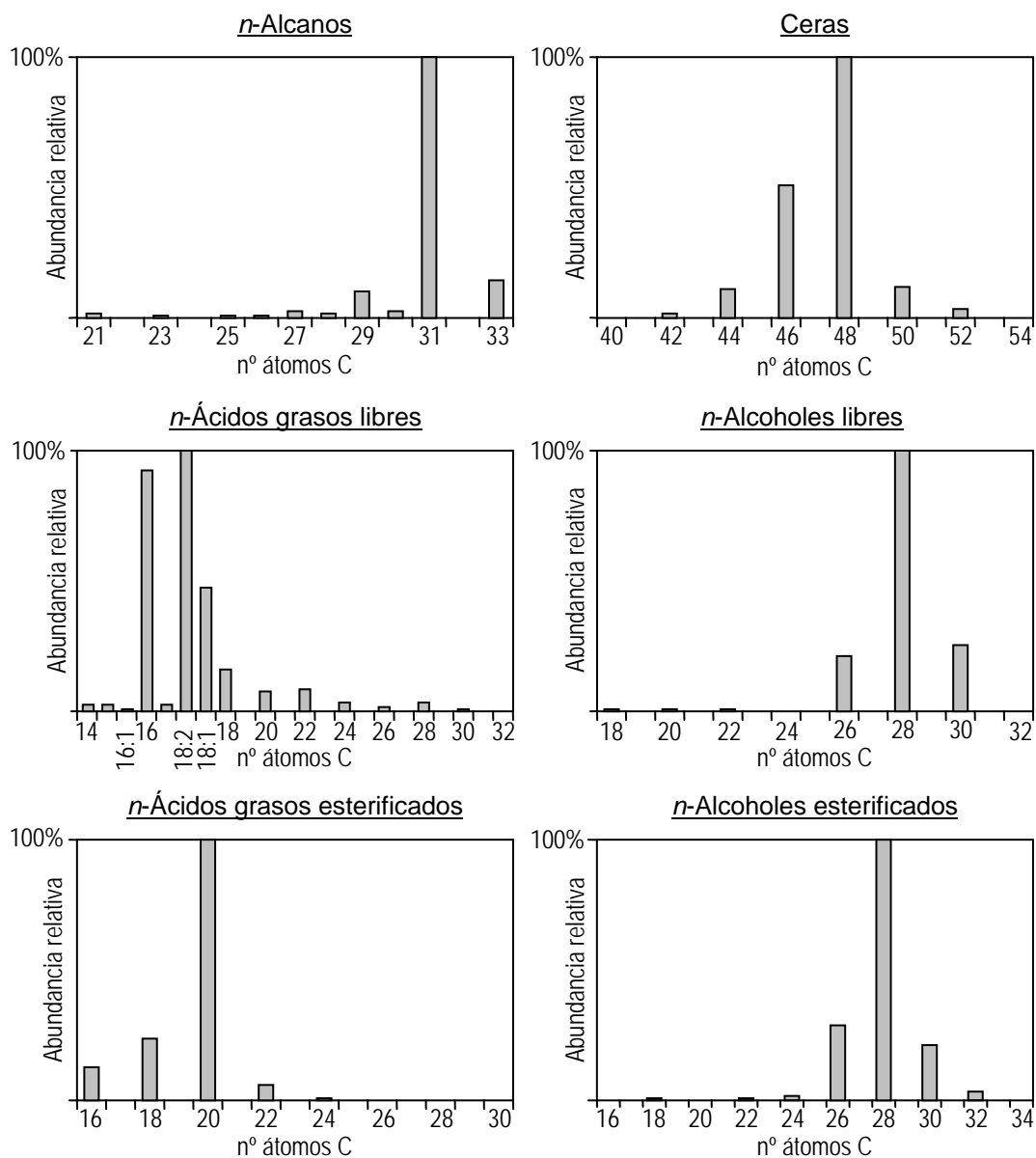
El contenido en lípidos de las fibras de kenaf es del 0,5% (Tabla 2). En la Figura 52 se muestra el cromatograma del extracto lípidico sin derivatizar. La composición detallada de los compuestos identificados se muestra en la Tabla 5.



**Figura 52.** Cromatograma del extracto lípidico sin derivatizar de las fibras de kenaf. Ac(*n*): serie de *n*-ácidos grasos, Al(*n*): serie de *n*-alcanos y C(*n*): serie de *n*-ceras; *n*: número de átomos de carbono; 11: motiol, 12: estigmast-4-en-3-ona, 13: glutinol y 15: estigmas-tano-3,6-diona.

Los lípidos predominantes en las fibras de kenaf son *n*-ácidos grasos (28%), ceras (25%), *n*-alcanos (23%) y *n*-alcoholes alifáticos de cadena larga (11%). Cantidades menores de esteroides y triterpenoles, cetonas esteroidales y triterpenoidales e hidrocarburos esteroidales, entre otros, están presentes también en estas fibras. La distribución de las principales series alifáticas presentes en el extracto de kenaf se muestra en la Figura 53.

Los ácidos grasos libres se identificaron en un rango que va del ácido tetradecanoico (C<sub>14</sub>) al ácido dotriacontanoico (C<sub>32</sub>), con un fuerte predominio de los homólogos con número par de átomos de carbono. Los ácidos más abundantes son el palmítico (C<sub>16</sub>) y el linoleico (C<sub>18:2</sub>), seguidos de los ácidos oleico (C<sub>18:1</sub>) y esteárico (C<sub>18</sub>), al igual que en estudios anteriores (Seca *et al.*, 2000).



**Figura 53.** Distribución de las principales series alifáticas identificadas en el extracto de las fibras de kenaf. Los histogramas están escalados al compuesto de mayor abundancia en cada serie.

Las ceras se encontraron en un rango de  $C_{42}$  a  $C_{52}$  con la presencia únicamente de los homólogos de átomos de carbono pares, siendo las más abundantes las ceras  $C_{46}$  y  $C_{48}$ . La composición estructural detallada de las ceras de alto peso molecular identificadas en las fibras de kenaf se muestra en la Tabla 6 y la distribución de los ácidos grasos y alcoholes esterificados se muestra en la Figura 53. Los ácidos grasos esterificados se encontraron en el rango de  $C_{16}$  a  $C_{30}$  mientras que los alcoholes esterificados se encontraron en el rango de  $C_{16}$  a  $C_{34}$ . La fracción ácida de las ceras está constituida exclusivamente por ácidos grasos saturados con número par de átomos de carbono, siendo el ácido eicosanoico ( $C_{20}$ ) el predominante. No se detectaron ceras constituidas por ácidos grasos insaturados, a pesar de que los ácidos oleico y linoleico están presentes en forma libre en grandes cantidades. Entre los alcoholes esterificados, el mayoritario es el octacosanol ( $C_{28}$ ) seguido del hexacosanol ( $C_{26}$ ) y triacontanol ( $C_{30}$ ). La distribución de los alcoholes alifáticos esterificados es parecida a la de los alcoholes alifáticos libres. La cera más abundante es la  $C_{48}$ , constituida principalmente por el ácido eicosanoico ( $C_{20}$ ) esterificado con octacosanol ( $C_{28}$ ), seguida de la cera  $C_{46}$ , constituida principalmente por el ácido eicosanoico ( $C_{20}$ ) esterificado con hexacosanol ( $C_{26}$ ) y el ácido octadecanoico ( $C_{18}$ ) esterificado con octacosanol ( $C_{28}$ ). Antes del presente estudio, el único éster que había sido descrito en las fibras de kenaf era el eicosanoato de octacosanilo (Seca *et al.*, 2000).

La serie de *n*-alcanos se identificó también en las fibras de kenaf en el rango de  $C_{21}$  a  $C_{33}$ , con un fuerte predominio de los homólogos de número impar de átomos de carbono, siendo el hentriacontano ( $C_{31}$ ) el predominante. En estudios anteriores, los únicos alcanos encontrados en las fibras de kenaf fueron el nonacosano ( $C_{29}$ ) y el hentriacontano ( $C_{31}$ ) (Seca *et al.*, 2000), siendo este último el más abundante entre los encontrados en este trabajo. Los *n*-alcoholes alifáticos de cadena larga presentes en los extractos de kenaf varían en el rango de  $C_{18}$  a  $C_{32}$ , con un fuerte predominio de los homólogos con número par de átomos de carbono, siendo el más abundante el octacosanol ( $C_{28}$ ), de acuerdo con el trabajo de Seca *et al.* (2000). Cantidades menores de una serie de *n*-aldehídos se identificaron también en el extracto lipídico en un rango que va de  $C_{21}$  a  $C_{28}$ , con docosanal ( $C_{22}$ ) y tricosanal ( $C_{23}$ ) predominantemente. Ésta es la primera vez que esta serie de compuestos se describe en las fibras de kenaf.

Los esteroides y triterpenoides están también presentes en las fibras de kenaf. El sitosterol es el más abundante entre los esteroides libres encontrándose cantidades menores de campesterol, estigmasterol y estigmastanol. El sitosterol se encontró también esterificado con ácidos grasos de cadena larga, aunque en menor proporción y también formando glicósidos. Los glicósidos identificados son campesteril, estigmasteril y sitosteril  $3\beta$ -D-glucopiranosidos, siendo este último el mayoritario. Estos compuestos no se habían descrito anteriormente en trabajos

sobre la composición de lípidos de las fibras de kenaf (Seca *et al.*, 2000). Las amirinas ( $\beta$ - y  $\alpha$ -) aparecen en forma libre, encontrándose la  $\beta$ -amirina también esterificada con ácidos grasos de cadena larga, aunque en baja proporción. Además de las amirinas, también se identificaron otros dos triterpenoles denominados motiol y glutinol. La presencia de estos triterpenoles ha sido descrita también por Seca *et al.* (2000) en las fibras de kenaf, confirmando la estructura del motiol por NMR. También está presente en el extracto una serie de compuestos de alto peso molecular con espectros de masas caracterizados por los fragmentos a  $m/z$  259 y a  $m/z$  274, similares a los de glutinol, identificándose tentativamente como ésteres de glutinol con ácidos grasos de cadena larga. Sin embargo, el lupeol, que se encontró previamente en cantidades relativamente importantes en el kenaf (Seca *et al.*, 2000), no se detectó en este estudio. Por otra parte, se identificaron varios hidrocarburos esteroidales (tales como estigmasta-3,5-dieno y estigmasta-3,5,7-trieno) y cetonas esteroidales y triterpenoidales (como estigmast-4-en-3-ona, estigmastan-3-ona, estigmasta-7,22-dien-3-ona, estigmasta-3,5-dien-7-ona, estigmastane-3,6-diona y  $\beta$ - y  $\alpha$ -amirenonas).

Por último, se identificaron también una serie de  $\alpha$ -hidroxiácidos. Ésta es la primera vez que estos compuestos se describen en las fibras de kenaf. La serie de  $\alpha$ -hidroxiácidos está formada por el ácido 2-hidroxihexadecanoico ( $C_{16}$ ) y por los ácidos comprendidos entre el ácido 2-hidroxicosanoico ( $C_{22}$ ) y el ácido 2-hidroxihexacosanoico ( $C_{26}$ ), siendo el mayoritario el ácido 2-hidroxitetradecanoico ( $C_{24}$ ).

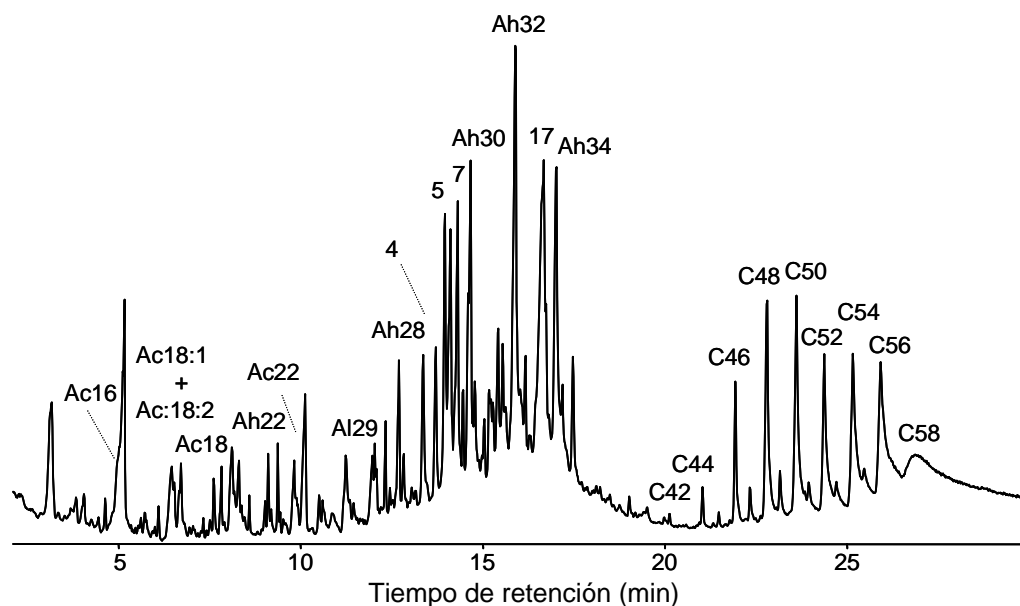
#### 4.2.2.4. Fibras de yute

El extracto lipídico de las fibras de yute es del 0,4% (Tabla 2). El cromatograma del extracto lipídico, sin derivatizar, se muestra en la Figura 54 y la composición detallada de los compuestos identificados se muestra en la Tabla 5.

Los lípidos predominantes en el extracto de las fibras de yute son ceras (22%),  $n$ -ácidos grasos (16%),  $n$ -alcoholes (16%), esteroides y triterpenoles (13%),  $\alpha$ -hidroxiácidos (13%) y  $n$ -alcanos (6%). En proporciones menores se encontraron  $\omega$ -hidroxiácidos, cetonas triterpenoidales y esteroidales, hidrocarburos esteroidales, monoglicéridos y diglicéridos, glicósidos esteroidales,  $\alpha$ -tocoferol y cantidades trazas de ésteres de esteroides. La distribución de las principales series alifáticas identificadas se muestra en la Figura 55.

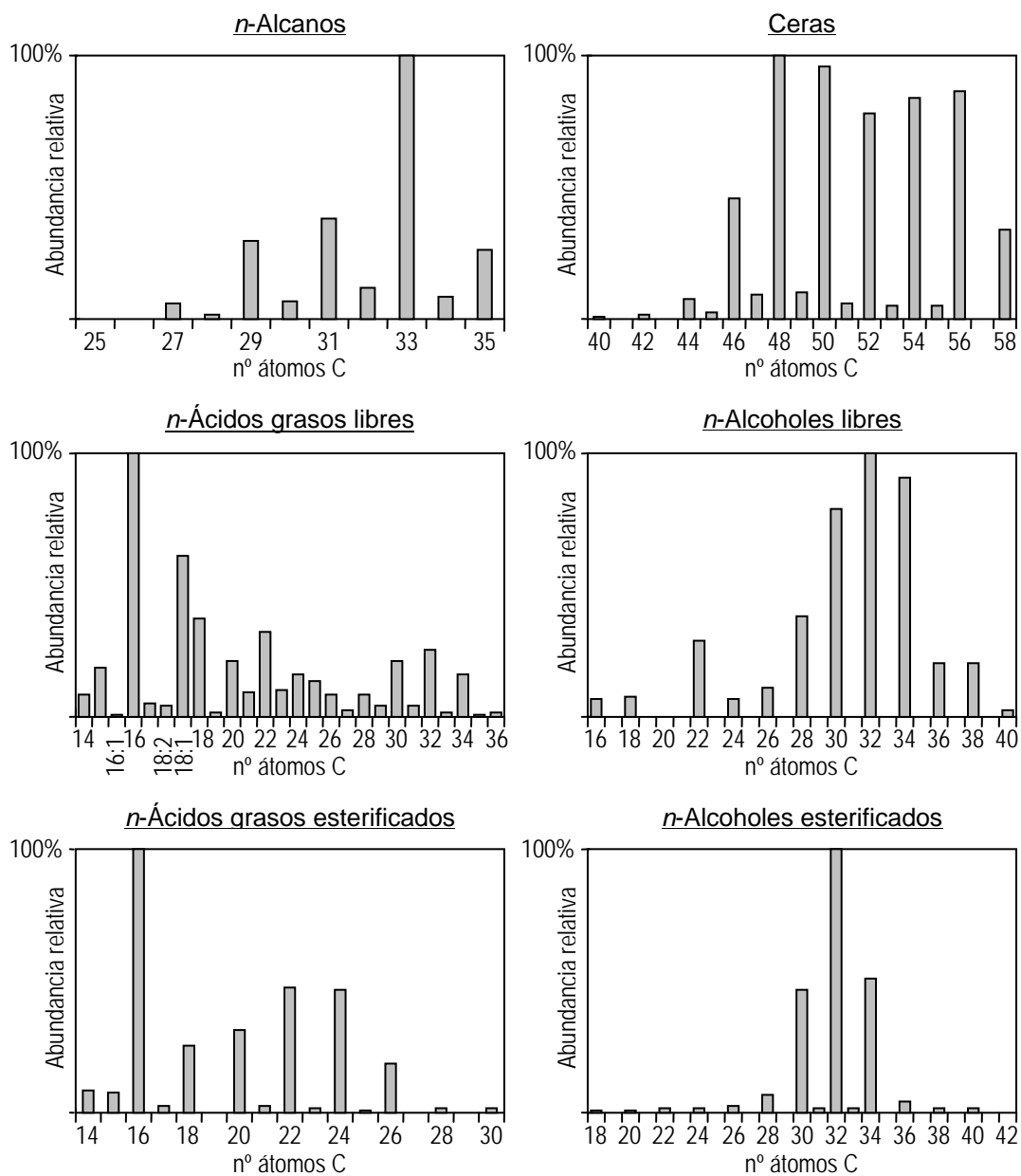
Debido a la complejidad del extracto, y para una caracterización más detallada de los compuestos lipídicos presentes en el yute, se llevó a cabo un fraccionamiento mediante SPE. Los cromatogramas de las diferentes fracciones de SPE se muestran en la Figura 56.



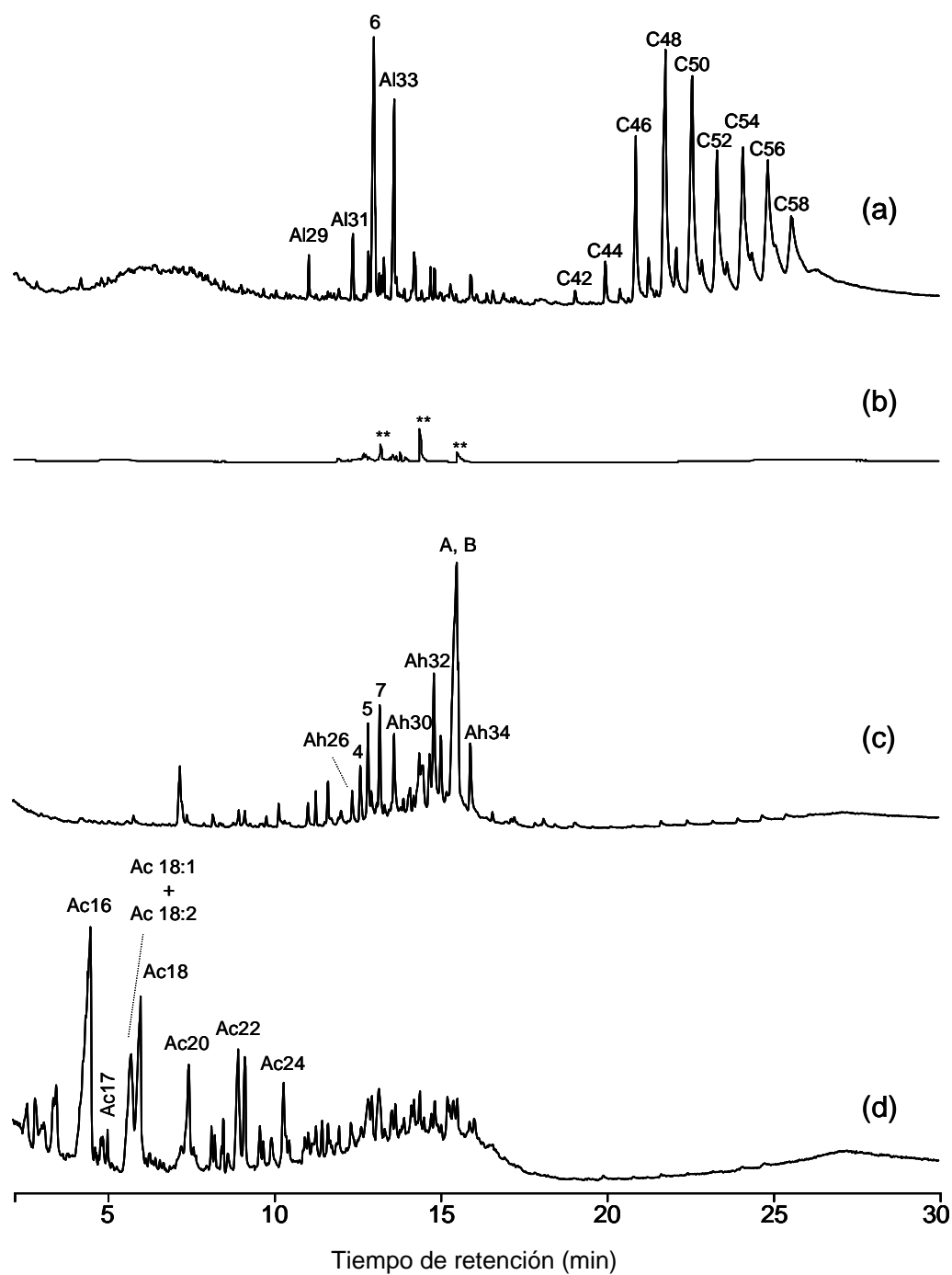


**Figura 54.** Cromatograma del extracto lipídico sin derivatizar de las fibras de yute. Ac(*n*): serie de *n*-ácidos grasos, Al(*n*): serie de *n*-alcanos, Ah(*n*): serie de *n*-alcoholes y C(*n*): serie de *n*-ceras; *n*: número de átomos de carbono; 4: campesterol, 5: estigmasterol, 7: sitosterol y 17: epoxidammarano.

Las ceras se encontraron en el rango de C<sub>40</sub> a C<sub>58</sub>, con un fuerte predominio de los homólogos de cadena par sobre los de cadena impar, siendo las más abundantes los homólogos C<sub>48</sub> y C<sub>50</sub>. La identificación y cuantificación de las ceras individuales en cada pico cromatográfico se basó en su espectro de masas tal como se describió en el apartado 4.2.1.13. La composición de las diferentes ceras identificadas en las fibras de yute se muestra en la Tabla 6. Es interesante destacar que en este caso aparecen ácidos grasos de número impar de átomos de carbono formando el éster en las ceras de átomos de carbono impar. De ellos el más abundante es el ácido pentadecanoico (C<sub>15</sub>), sobre todo en las ceras C<sub>47</sub> y C<sub>49</sub>. El rango de los ácidos grasos esterificados varía de C<sub>14</sub> a C<sub>30</sub>, con la presencia de los homólogos impares en pequeña cantidad, siendo el ácido palmítico el más abundante con una diferencia significativa. Por otra parte, no se detectaron ácidos grasos insaturados esterificados. La serie de *n*-alcoholes esterificados varía de C<sub>18</sub> a C<sub>42</sub>. Los más abundantes son el dotriacontanol (C<sub>32</sub>), el tetratriacontanol (C<sub>34</sub>) y el triacontanol (C<sub>30</sub>).



**Figura 55.** Distribución de las principales series alifáticas identificadas en el extracto de las fibras de yute. Los histogramas están escalados al compuesto de mayor abundancia en cada serie.



**Figura 56.** Cromatogramas de las fracciones A (a), B (b), C (c) y D (d) de la SPE del extracto de yute. Al(*n*): serie de *n*-alcanos, Ah(*n*): *n*-serie de alcoholes y C(*n*): serie de *n*-ceras; *n*: número de átomos de carbono; 4: campesterol, 5: estigmasterol, 6: isomultiflorenona, 7: sitosterol, A y B: epoxidammaranos y \*\*: contaminantes.

La serie de *n*-ácidos grasos libres varía de C<sub>14</sub> a C<sub>36</sub>, con un fuerte predominio de los homólogos con número par de átomos de carbono. Los más abundantes son el ácido palmítico (C<sub>16</sub>) y el ácido oleico (C<sub>18:1</sub>). La distribución y abundancia de los *n*-alcoholes libres identificados en el extracto lipídico de las fibras de yute se muestran en el histograma de la Figura 55. Los *n*-alcoholes alifáticos varían de C<sub>16</sub> a C<sub>40</sub>, con la presencia de los homólogos pares únicamente. Los alcoholes alifáticos más abundantes son dotriacontanol (C<sub>32</sub>), tetratriacontanol (C<sub>34</sub>) y triacontanol (C<sub>30</sub>), al igual que en la serie de alcoholes esterificados. Por otro lado, la serie de *n*-alcanos varía de C<sub>27</sub> a C<sub>35</sub>, con un fuerte predominio de los homólogos de cadena impar y máximos a tritriacontano (C<sub>33</sub>) y hentriacontano (C<sub>31</sub>). También se identificaron  $\alpha$ - y  $\omega$ -hidroxiácidos. En ambas series predominan los homólogos de cadena par, siendo los  $\alpha$ -hidroxiácidos los más abundantes. Los más abundantes son el ácido 2-hidroxitetracosanoico (C<sub>24</sub>) para los  $\alpha$ -hidroxiácidos y el ácido 22-hidroxicosanoico (C<sub>22</sub>) para los  $\omega$ -hidroxiácidos.

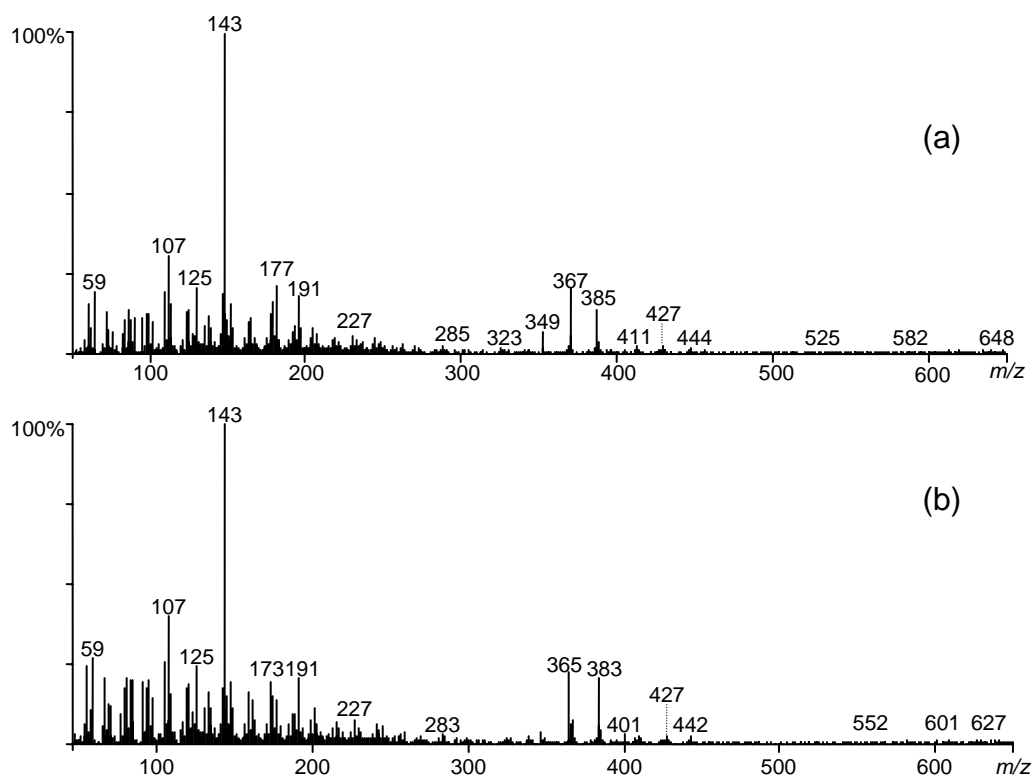
Entre los esteroides se identificaron campesterol, estigmasterol, sitosterol, 7-oxocampesterol, 7-oxositosterol y, en cantidades trazas, estigmastanol. De ellos el más abundante es el sitosterol. El sitosterol, al igual que el campesterol y el estigmasterol, se encuentra también esterificado con ácidos grasos, aunque en proporciones muy bajas. También se identificaron glicósidos esteroidales aunque en proporciones bajas. Los glicósidos presentes incluyen campesteril, estigmasteril y sitosteril 3 $\beta$ -D-glucopiranosidos, siendo este último el mayoritario.

Las cetonas triterpenoidales identificadas en las fibras de yute fueron isomultiflorenona (D:C-friedoolean-8-en-3-ona), bauerenona (D:C-friedours-7-en-3-ona) y  $\beta$ - y  $\alpha$ -amirenonas. La identificación de las amirenonas en el cromatograma del extracto total fue difícil al encontrarse en proporciones bajas y los picos cromatográficos solapados con otros compuestos. Sin embargo su identificación fue posible tras llevar a cabo un fraccionamiento por SPE. Las cetonas esteroidales y triterpenoidales se concentraron en la fracción A de SPE (Figura 56a). La isomultiflorenona destaca entre las cetonas al encontrarse en mayor proporción que las demás (teniendo en cuenta también las cetonas esteroidales). Las cetonas esteroidales se identificaron en proporciones menores, siendo las más abundantes la estigmasta-3,5-dien-7-ona, estigmast-4-en-3-ona y estigmastano-3,6-diona. También se encontraron hidrocarburos esteroidales, como el estigmasta-3,5,7-trieno y el estigmasta-3,5-dieno, entre otros.

El análisis de la fracción C obtenida tras SPE permitió la identificación de monoglicéridos y diglicéridos. El rango de los monoglicéridos varía de C<sub>14</sub> a C<sub>34</sub>, siendo los más abundantes el hexadecanoato de 2,3-dihidroxipropilo (1-monopalmitina, C<sub>16</sub>) y el 9-octadecenoato de 2,3-dihidroxipropilo (1-monooleína, C<sub>18:1</sub>). Los monoglicéridos se encuentran sustituidos en la posición 1. Por otra parte, los

diglicéridos se identificaron en el rango de  $C_{16}$  a  $C_{18}$ , y su abundancia es mayor que la de los monoglicéridos. Los diglicéridos se encuentran sustituidos en las posiciones 1,2 y 1,3, siendo estas últimas las más abundantes. El diglicérido más abundante es el hexadecanoato de 3-hexadecanoiloxi-2-hidroxi-propilo [P2 (1,3)]. En ambas series se observa un predominio de los compuestos con número par de átomos de carbono. No se detectaron triglicéridos en el extracto de yute.

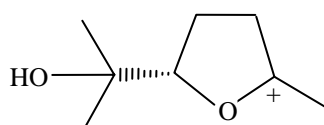
Finalmente, en las fibras de yute se detectaron dos compuestos (A y B) que no estaban presentes en las otras fibras estudiadas. Estos compuestos se concentraron en la fracción C de SPE, lo que indica que son alcoholes. Sus espectros de masas se muestran en la Figura 57.



**Figura 57.** Espectros de masas de los compuestos A (a) y B (b) identificados en las fibras de yute.

Ambos espectros se caracterizan por el fragmento a  $m/z$  143 (pico base), indicativo de la presencia de la cadena lateral hidroxiisopropilmetiltetrahidrofurano

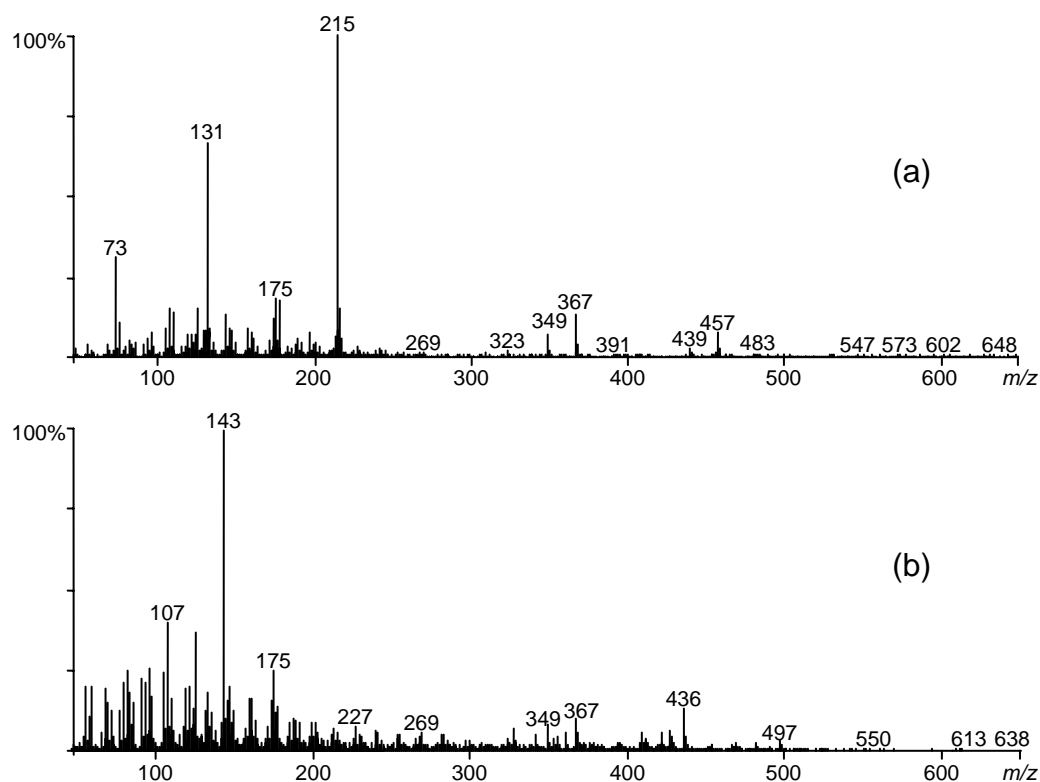
(ver Figura 58), lo que implica que los compuestos son de tipo “ocotillona”, como el 20,24-epoxy-25-hidroxidammirano (Hasan *et al.*, 1984; van der Doelen *et al.*, 1998). Otros fragmentos característicos de estos compuestos son los de  $m/z$  107, 125 y 191, diferenciándose en la presencia de los fragmentos a  $m/z$  367 y 385 en el caso del compuesto A y  $m/z$  365 y 383 en el caso del compuesto B, por lo que parece que el compuesto B tiene una insaturación más que el compuesto A. El ión molecular no se ha podido determinar a pesar de realizar diversas derivatizaciones, aunque es probable que los iones a  $m/z$  444 y 442 correspondan a una pérdida de agua  $[M-18]^+$  por lo que los iones moleculares pudieran ser 462 y 460, respectivamente.



**Figura 58.** Estructura del fragmento a  $m/z$  143.

Para confirmar los pesos moleculares e intentar determinar la estructura de estos compuestos se llevó a cabo su derivatización mediante silanización y acetilación. Los espectros de masas del compuesto A tanto silanizado como acetilado se muestran en la Figura 59.

En el caso del derivado silanizado, el espectro presenta un pico base a  $m/z$  215 que proviene del correspondiente fragmento a  $m/z$  143, tras la adición de 72 uma, lo que indica que la silanización introduce al menos un grupo hidroxilo. Por otro lado, el espectro de masas del derivado acetilado no mostró grandes cambios, permaneciendo el fragmento a  $m/z$  143 como pico base, lo que indica que el grupo hidroxilisopropilmetiltetrahidrofurano no se acetila. Sin embargo, el tiempo de retención del derivado acetilado aumenta, lo que puede ser indicativo de la presencia de al menos otro grupo hidroxilo en su estructura, aparte del de la cadena lateral. Por otra parte, no ha sido posible determinar con exactitud el peso molecular de estos compuestos y por tanto su estructura.



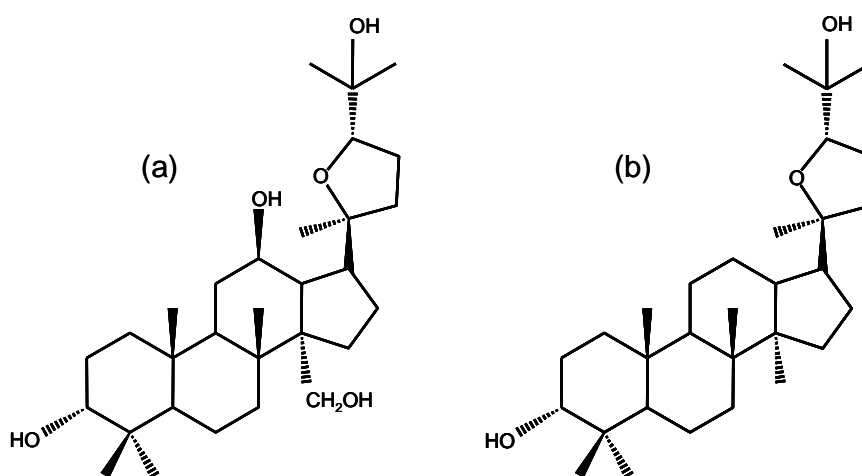
**Figura 59.** Espectros de masas del compuesto A silanizado (a) y acetilado (b).

Estudios previos han mostrado la presencia de un glicósido denominado capsina en las hojas de yute, cuya hidrólisis da lugar a la capsugenina, un triterpenoide del tipo “ocotillona”, con el grupo funcional hidroxiisopropilmetiltetrahidrofurano en la cadena lateral (Hasan *et al.*, 1984; Quader y Ahmed, 1987; Quader *et al.*, 1990; van der Doelen *et al.*, 1998). El espectro de masas de la capsugenina es muy similar al que presentan los compuestos A y B, con un pico base a  $m/z$  143, y fragmentos a  $[M-18]^+$ ,  $[M-59]^+$ ,  $[M-77]^+$ , diferenciándose sólo en los valores de los fragmentos. El espectro de masas de la capsugenina es  $m/z$  474  $[M-18]^+$  (2), 433  $[M-59]^+$  (5), 415  $[M-77]^+$  (16), 397(9), 207(4), 205(4), 191(8), 189(2), 175(5), 143(100), 125(21), 121 (13), 107(12), 95(14), 93(12), 85(20) (Hasan *et al.*, 1984). Por tanto, puede decirse que los compuestos detectados en las fibras de yute son parecidos a la capsugenina.

Otro compuesto con estructura parecida es el denominado cabraleadiol, que también presenta un espectro de masas similar con pico base a  $m/z$  143 y

fragmentos a  $[M-18]^+$ ,  $[M-59]^+$  y  $[M-77]^+$ , ajustándose sobre todo al compuesto B, al estar presente también los fragmentos a  $m/z$  427, 401, 383 y 125 (Nakamura *et al.*, 1997), diferenciándose sólo por la ausencia del ión molecular a  $m/z$  460, en el espectro. El espectro de masas de cabraleadiol  $m/z$  460  $[M]^+$  (2), 445  $[M-18]^+$  (11), 427  $[M-33]^+$  (15), 401  $[M-59]^+$  (40), 383  $[M-77]^+$  (85), 191(68), 143(100), 125(85) (Nakamura *et al.*, 1997). El cabraleadiol ha sido identificado en varias plantas (Hisham *et al.*, 1996, Nakamura *et al.*, 1997, Rouxc *et al.*, 1998, Qiu *et al.*, 2001). En la Figura 60 se muestran las estructuras de la capsugenina y el cabraleadiol.

Estudiando ambos perfiles de fragmentación podemos determinar que los compuestos A y B presentes en el yute son del tipo epoxidammarano con una cadena lateral hidroxiisopropilmetiltetrahidrofurano.



**Figura 60.** Estructuras de la capsugenina (a) y el cabraleadiol (b).

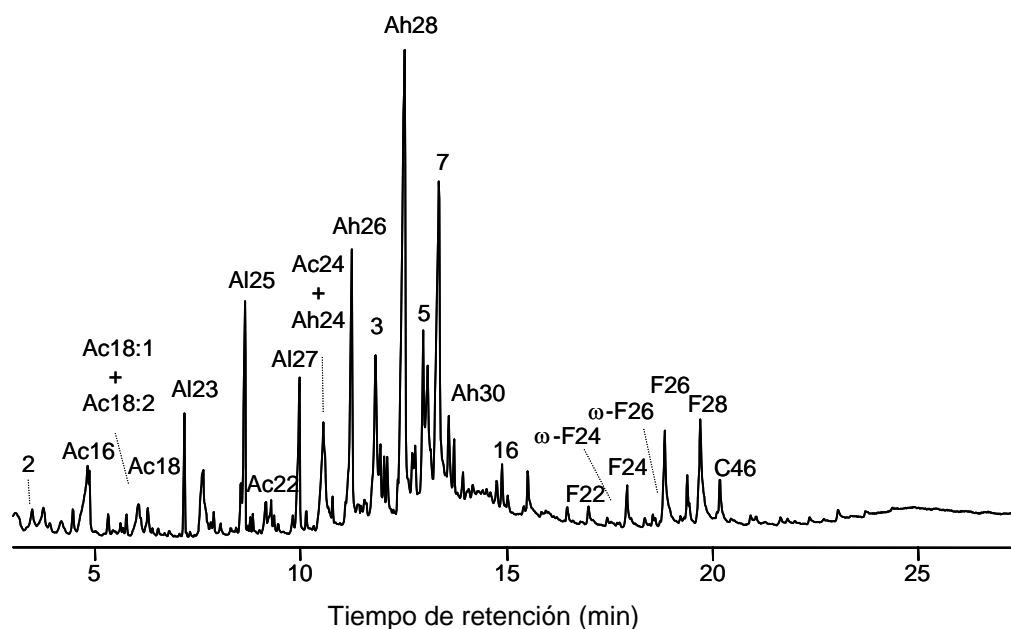
#### 4.2.2.5. Fibras de sisal

El extracto lipídico de las fibras de sisal es del 0,5% (Tabla 2). El cromatograma del extracto lipídico de las fibras, sin derivatizar, se muestra en la Figura 61. La composición detallada de los compuestos identificados se muestra en la Tabla 5.

Las familias de compuestos más abundantes en estas fibras son *n*-ácidos grasos (20%), seguida de *n*-alcoholes de cadena larga (20%), esteroides (11%), *n*-alcanos (11%), ésteres del ácido ferúlico con *n*-alcoholes (10%) y  $\omega$ -hidroxiácidos (10%).



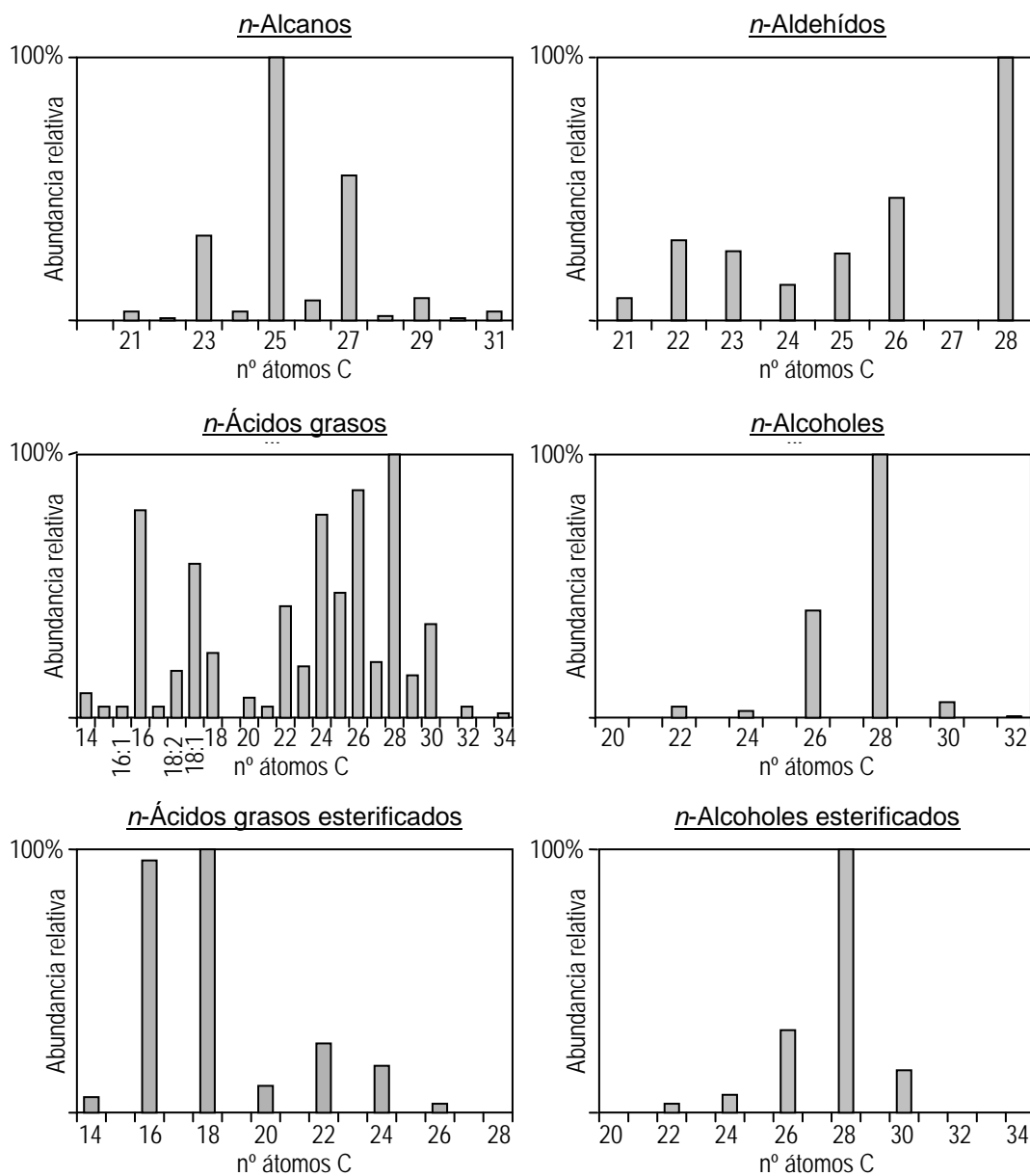
También se identificaron cantidades significativas de otros compuestos como hidrocarburos esteroidales, monoglicéridos,  $\alpha$ -hidroxiácidos, *n*-aldehídos, ceras, glicósidos esteroidales, diglicéridos, ésteres del ácido ferúlico con  $\omega$ -hidroxiácidos, entre otros. No se detectaron triterpenoles. En la Figura 62 se muestra la distribución de las principales series alifáticas identificadas en las fibras de sisal.



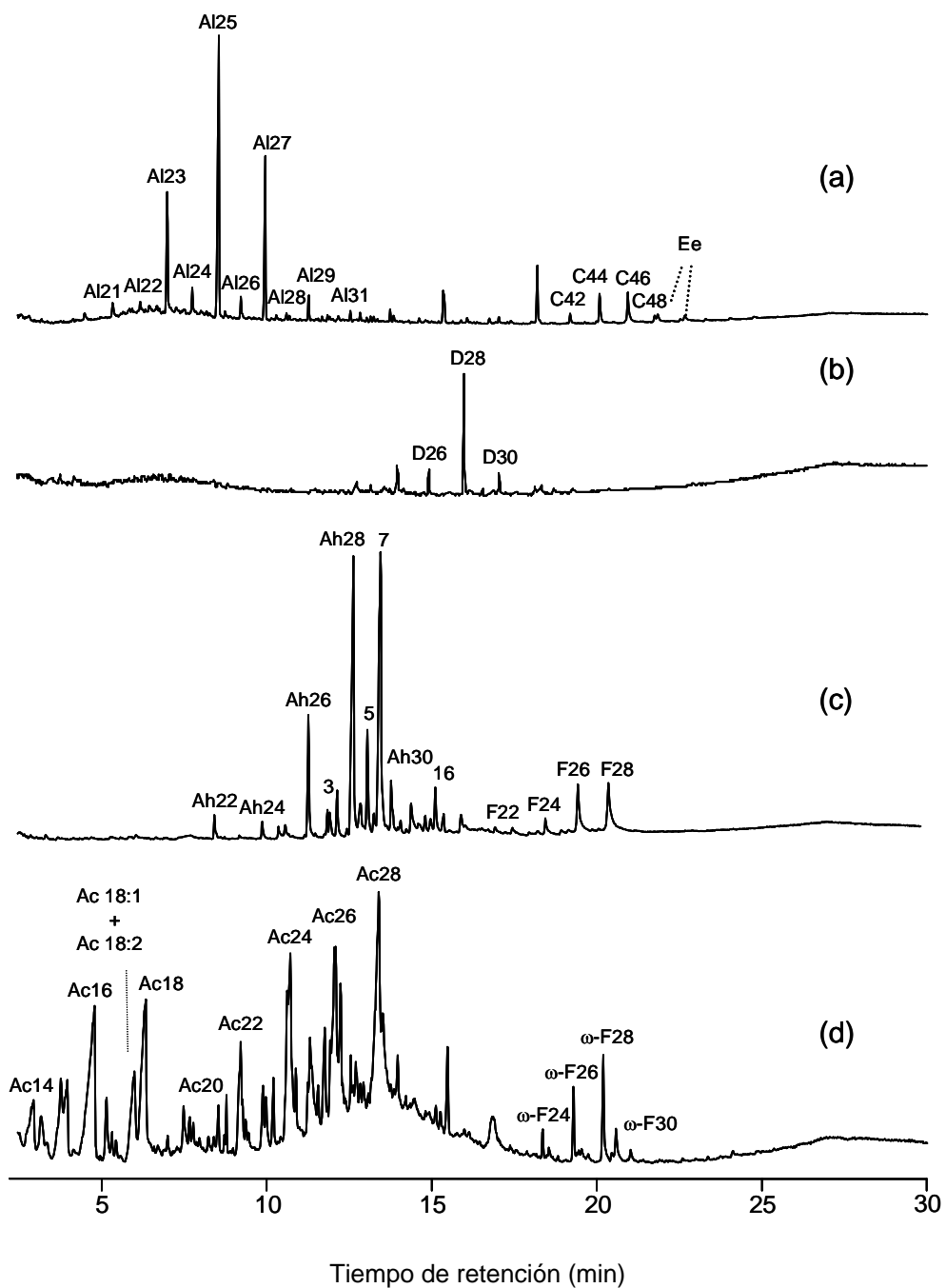
**Figura 61.** Cromatograma del extracto lipídico sin derivatizar de las fibras de sisal. Ac(*n*): serie de *n*-ácidos grasos, Al(*n*): serie de *n*-alcanos, Ah(*n*): serie de *n*-alcoholes, C(*n*): serie de *n*-ceras, F(*n*): serie de ésteres del ácido ferúlico con una serie de *n*-alcoholes,  $\omega$ -F(*n*): ésteres del ácido ferúlico con una serie de  $\omega$ -hidroxiácidos; *n*: número de átomos de carbono; 2: ácido ferúlico, 3: estigmastan-3,5,7-trieno, 5: estigmasterol, 7: sitosterol y 16: 7-oxositosterol.

Debido a la complejidad del extracto y para una caracterización más detallada de los compuestos presentes en el sisal se llevó a cabo un fraccionamiento por SPE. En la Figura 63 se muestran los cromatogramas de las diversas fracciones obtenidas.

La serie de *n*-alcanos se identificó en el rango de C<sub>21</sub> a C<sub>31</sub>, con un fuerte predominio de los homólogos con número impar de átomos de carbono y máximos para pentacosano (C<sub>25</sub>) y heptacosano (C<sub>27</sub>). Cantidades menores de *n*-aldehídos se identificaron en el rango de C<sub>21</sub> a C<sub>28</sub>, siendo el octacosanal el más abundante.



**Figura 62.** Distribución de las principales series alifáticas identificadas en el extracto de las fibras de sisal. Los histogramas están escalados al compuesto de mayor abundancia en cada serie.



**Figura 63.** Cromatogramas de las fracciones A (a), B (b), C (c) y D (d) del SPE del extracto de sisal. Al(*n*): serie de *n*-alcanos, Ah(*n*): *n*-serie de alcoholes, C(*n*): serie de *n*-ceras, F(*n*): ésteres del ácido ferúlico con una serie de *n*-alcoholes,  $\omega$ -F(*n*): ésteres del ácido ferúlico con una serie de  $\omega$ -hidroxiácidos, D(*n*): serie de *n*-dioxolanos y Ee: ésteres de esteroides; *n*: número de átomos de carbono; 3: estigmastan-3,5,7-trieno, 5: estigmasterol, 7: sitosterol y 16: 7-oxositosterol.

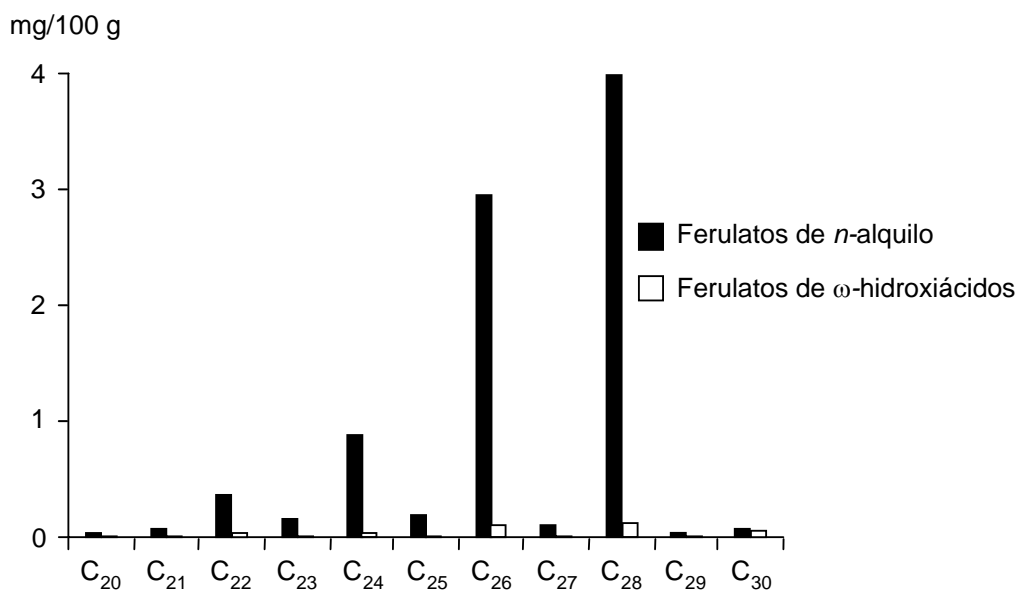
Los ácidos grasos libres se identificaron en un rango que va desde el ácido tetradecanoico ( $C_{14}$ ) hasta el ácido tetratriacontanoico ( $C_{34}$ ), con un fuerte predominio de los homólogos de cadena par sobre los de cadena impar. La serie de ácidos grasos presenta una distribución bimodal, con máximos para el ácido octacosanoico ( $C_{28}$ ) y el ácido hexadecanoico (ácido palmítico,  $C_{16}$ ), siendo más abundantes los homólogos de mayor peso molecular. La serie de *n*-alcoholes varía del docosanol ( $C_{22}$ ) al dotriacontanol ( $C_{32}$ ), con la presencia de los homólogos con número par de átomos de carbono únicamente, siendo los predominantes el octacosanol ( $C_{28}$ ) y el hexacosanol ( $C_{26}$ ). También se identificaron series de  $\alpha$ - y  $\omega$ -hidroxiácidos. Los  $\omega$ -hidroxiácidos se encontraron en el rango entre  $C_{22}$  y  $C_{28}$ , siendo el mayoritario  $C_{28}$ . Los  $\alpha$ -hidroxiácidos, por su parte, sólo se encontraron en el rango desde  $C_{24}$  a  $C_{25}$ .

Por otra parte, se identificó también una serie de ceras, aunque en baja proporción, desde  $C_{40}$  a  $C_{50}$ . La composición de las diferentes ceras identificadas se muestra en la Tabla 6. La cera predominante es la  $C_{46}$ , constituida principalmente por el ácido octadecanoico ( $C_{18}$ ) esterificado con el octacosanol ( $C_{28}$ ).

Los esteroides libres están presentes también en el extracto, siendo el sitosterol el más abundante. El sitosterol se encontró también esterificado (fracción A), aunque en proporciones bajas. Además, están presentes en el extracto cantidades significativas de colesterol, campesterol, estigmasterol, estigmastanol y 7-oxositosterol. Los glicósidos esteroideos, como el campesterol, el estigmasterol y el sitosterol  $3\beta$ -D-glucopiranosidos se identificaron en pequeñas cantidades, siendo este último el predominante. También se identificaron varios hidrocarburos esteroideos, como ergosta-3,5,7-trieno, ergosta-3,5-dieno, estigmasta-3,5-dieno y estigmasta-3,5,7-trieno, así como las cetonas esteroideas estigmasta-3,5-dien-7-ona, estigmast-4-en-3-ona y estigmasta-3,6-diona. No se detectaron cetonas triterpenoidales.

Además, en el extracto lipídico, se identificaron dos series de ésteres, formados por la unión del ácido ferúlico con una serie de *n*-alcoholes de cadena larga y una serie de  $\omega$ -hidroxiácidos. La distribución y abundancia de estas series se muestran en la Figura 64. El fraccionamiento por SPE permitió la identificación detallada de la serie de los ferulatos de *n*-alquilo en la fracción C. Se pudo observar que dicha serie varía de  $C_{20}$  a  $C_{30}$ , con fuerte predominio de los homólogos pares, siendo los más abundantes el octacosanil ferulato ( $C_{28}$ ) y el hexacosanil ferulato ( $C_{26}$ ). La serie de ferulatos de *n*-alquilo aparece mayoritariamente en forma *trans*, aunque también hay cantidades significativas de los isómeros *cis* que se observaron a tiempos de retención menores. Probablemente, éstos son artefactos que se forman durante los procesos de extracción y/o análisis. Es importante resaltar que la serie de alcoholes alifáticos libres es paralela a la serie de alcoholes alifáticos unida a la

molécula de ácido ferúlico. El ácido *trans*-ferúlico libre está también presente en el sisal.



**Figura 64.** Distribución de las diferentes series de ésteres de ácido ferúlico identificadas en el extracto de sisal. El eje vertical muestra la abundancia de los compuestos (mg/100 g).

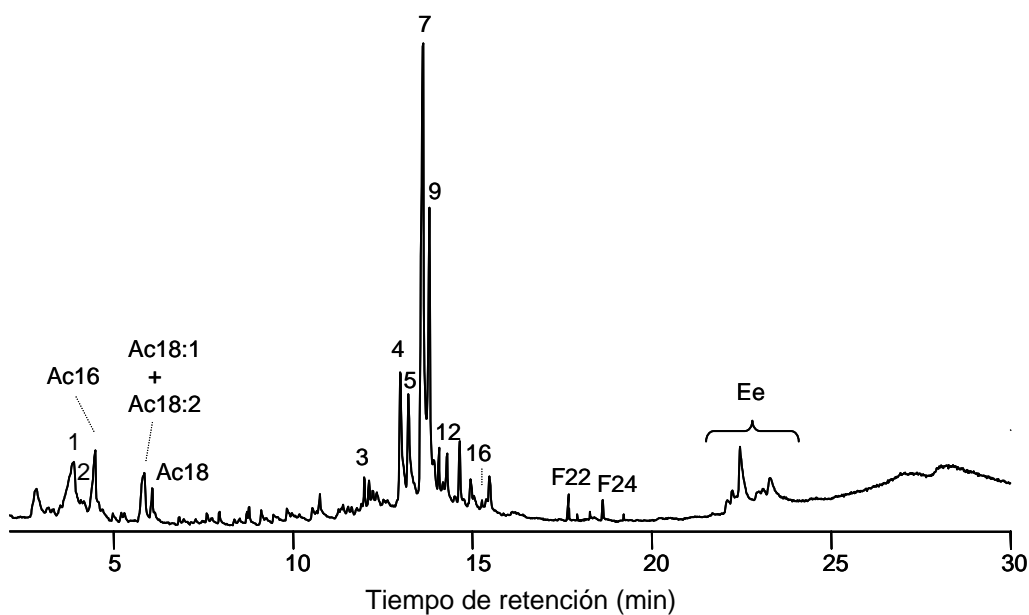
Los  $\omega$ -carboxialquilferulatos forman una serie de compuestos estructuralmente relacionados con los *trans*-ferulatos de *n*-alquilo. Esta serie de compuestos se concentró en la fracción ácida (fracción D) de SPE, indicando la presencia de grupos carboxílicos libres. La identificación se llevó a cabo por sus espectros de masas sin derivatizar y derivatizados (metilados). El rango de los  $\omega$ -carboxialquilferulatos varía entre C<sub>22</sub> y C<sub>30</sub>, siendo los homólogos pares los más abundantes. De ellos destacan el ácido feruloiloxioctacosanoico (C<sub>28</sub>), el ácido feruloiloxihexacosanoico (C<sub>26</sub>) y el ácido feruloiloxitetracosanoico (C<sub>24</sub>). Esta distribución coincide con la de los ferulatos de *n*-alquilo, como se muestra en la Figura 64. Los homólogos impares de la serie también están presentes aunque en cantidades trazas. La serie del ácido ferúlico esterificado con  $\omega$ -hidroxiácidos se ha descrito muy raramente en plantas. La presencia de ésteres del ácido ferúlico con  $\omega$ -hidroxiácidos se publicó por primera vez en especies de *Virola* (Kawanishi y Hashimoto, 1987). Estos compuestos también se han encontrado después de la metanolisis de suberina de *Quercus suber* (Graça y Pereira, 1998) y cantidades pequeñas de ácido feruloiloxidocosanoico y ácido feruloiloxihexacosanoico se han descrito recientemente en la madera de *Eucalyptus globulus* (Freire *et al.*, 2002).

La serie de  $\omega$ -hidroxiácidos que se encuentra esterificada con el ácido ferúlico tiene una distribución similar a la que se encuentra en forma libre.

Otras familias identificadas fueron las de monoglicéridos y diglicéridos. Los monoglicéridos varían del hexadecanoato de 2,3-dihidroxiopropilo ( $C_{16}$ ) al triacosanoato de 2,3-dihidroxiopropilo ( $C_{30}$ ), con fuerte predominio de los homólogos pares, siendo los más abundantes el octacosanoato de 2,3-dihidroxiopropilo ( $C_{28}$ ) y el hexacosanoato de 2,3-dihidroxiopropilo ( $C_{26}$ ). En el caso de los diglicéridos, el rango es menor y sólo se detectaron los de  $C_{16}$ ,  $C_{16}:C_{18}$  y  $C_{18}$ . Por otra parte, no se detectaron triglicéridos en el extracto. También se identificaron una serie de dioxolanos en la fracción B de SPE. La formación de esta serie se debe a la reacción secundaria entre los monoglicéridos y la acetona utilizada como disolvente de extracción, siendo su distribución similar a la de los monoglicéridos, con máximos a  $C_{28}$ ,  $C_{26}$  y  $C_{30}$ .

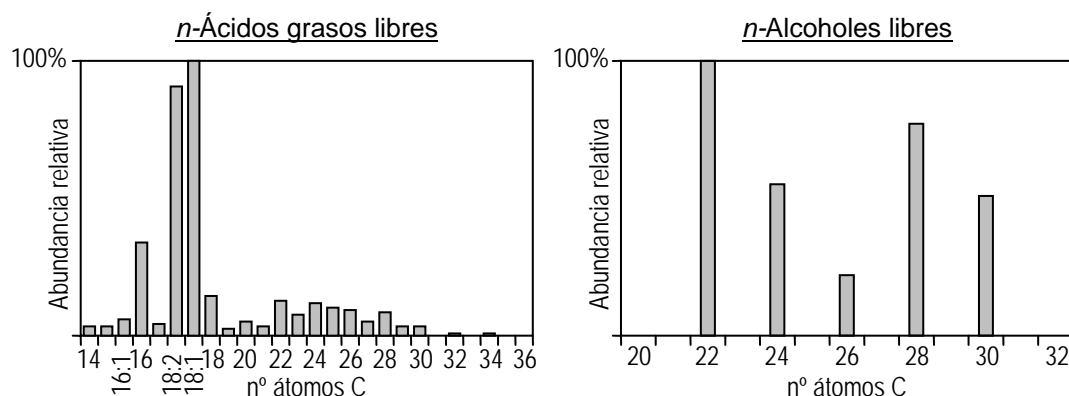
#### 4.2.2.6. Fibras de abacá

El extracto lipídico de las fibras de abacá es del 0,4% (Tabla 2). En la Figura 65 se muestra el cromatograma del extracto lipídico sin derivatizar. La composición detallada de los compuestos identificados se muestra la Tabla 5.



**Figura 65.** Cromatograma del extracto lipídico sin derivatizar de las fibras de abacá. Ac( $n$ ): serie de  $n$ -ácidos grasos, F( $n$ ): ésteres del ácido ferúlico con una serie de  $n$ -alcoholes y Ee: ésteres de esteroides;  $n$ : número de átomos de carbono; 1: ácido  $p$ -cumárico, 2: ácido ferúlico, 3: estigmastan-3,5,7-trieno, 4: campesterol, 5: estigmasterol, 7: sitosterol, 9: cicloartenona, 12: estigmast-4-en-3-ona y 16: 7-oxositosterol.

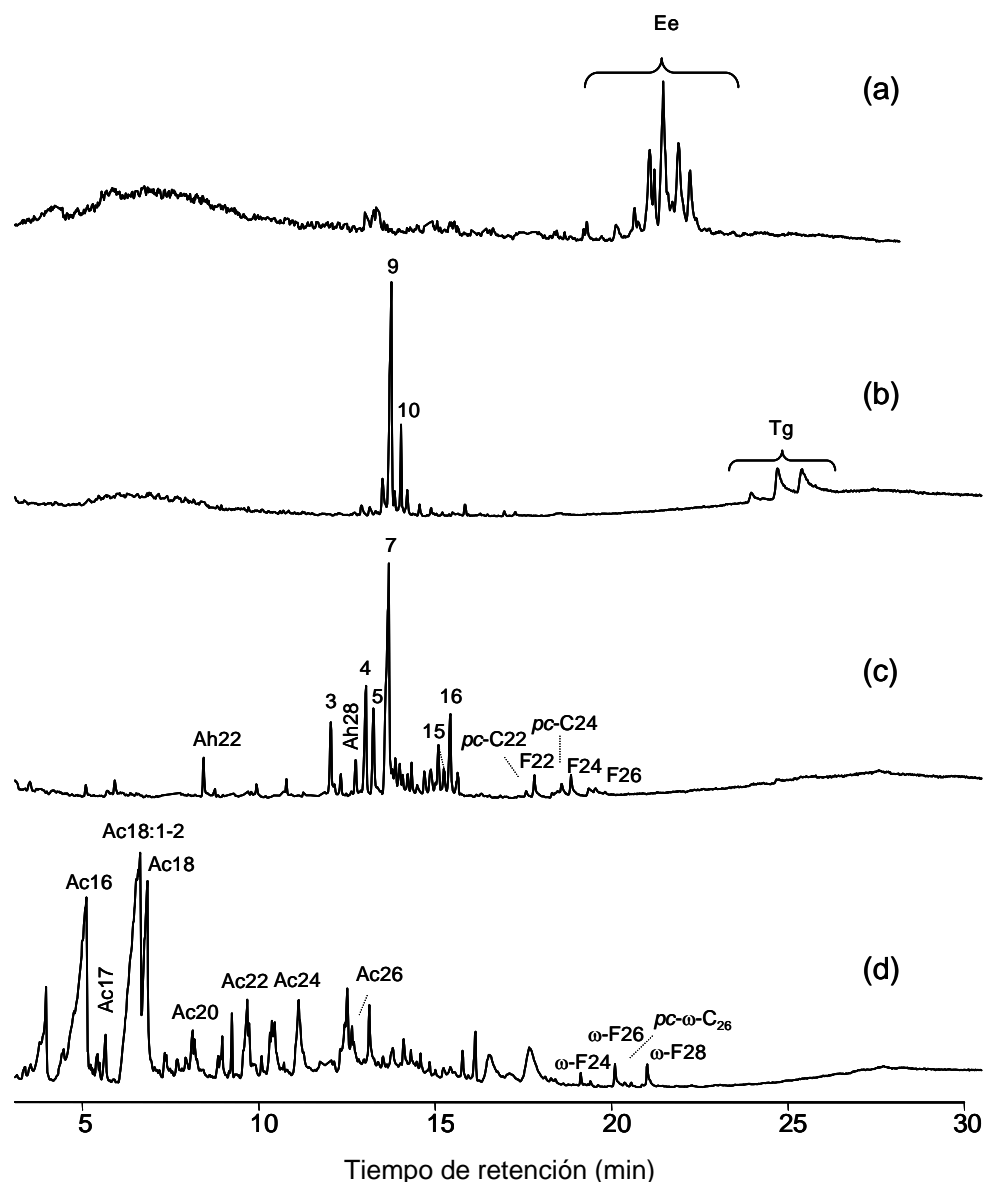
Los compuestos más importantes en el extracto de las fibras de abacá son los esteroides (25%), *n*-ácidos grasos (24%), cetonas esteroidales (10%), triglicéridos (6%),  $\omega$ -hidroxiácidos (6%), monoglicéridos (6%), *n*-alcoholes (4%) y una serie de ferulatos de *n*-alquilo (4%). En proporciones menores se encontraron hidrocarburos esteroidales, diglicéridos, glicósidos esteroidales,  $\alpha$ -hidroxiácidos,  $\alpha$ -tocoferol, ésteres de esteroides, ferulatos de  $\omega$ -hidroxiácidos así como cumaratos de *n*-alquilo y de  $\omega$ -hidroxiácidos. En la Figura 66 se muestran los histogramas de las distribuciones de las series de *n*-ácidos grasos y *n*-alcoholes libres.



**Figura 66.** Distribución de las principales series alifáticas identificadas en el extracto de las fibras de abacá. Los histogramas están escalados al compuesto de mayor abundancia en cada serie.

Para una caracterización más detallada de los lípidos, se recurrió a un fraccionamiento por SPE. En la Figura 67 se muestran los cromatogramas de las diferentes fracciones. Cabe destacar la detección de las series de ésteres de los ácidos ferúlico y *p*-cumárico con alcoholes y  $\omega$ -hidroxiácidos. Ésta es la primera vez que estos compuestos fenólicos se describen en el abacá y que se describe la serie de *p*-cumaratos de  $\omega$ -hidroxiácidos en plantas.

La serie de *n*-ácidos grasos libres varía de C<sub>14</sub> a C<sub>36</sub>, con un fuerte predominio de los homólogos de cadena par. Los más abundantes son el ácido oleico (C<sub>18:1</sub>) y el ácido linoleico (C<sub>18:2</sub>). La serie de *n*-alcoholes alifáticos varía de docosanol (C<sub>22</sub>) a triacontanol (C<sub>30</sub>), con fuerte predominio de los homólogos con número par de átomos de carbono. Los predominantes son docosanol (C<sub>22</sub>) y octacosanol (C<sub>28</sub>).



**Figura 67.** Cromatogramas de las fracciones A (a), B (b), C(c) y D (d) del SPE del extracto de abacá. Ee: ésteres de esteroides, Tg: triglicéridos, Ah(*n*): *n*-serie de alcoholes, F(*n*): ésteres del ácido ferúlico con una serie de *n*-alcoholes,  $\omega$ -F(*n*): ésteres del ácido ferúlico con una serie de  $\omega$ -hidroxiácidos, *pc*-C(*n*): serie de cumaratos con una serie de *n*-alcoholes y *pc*- $\omega$ -C(*n*): serie de cumaratos con una serie de  $\omega$ -hidroxiácidos; *n*: número de átomos de carbono; 3: estigmastan-3,5,7-trieno, 4: campesterol, 5: estigmasterol, 7: sitosterol, 9: cicloartenona, 10: 24-metilcicloartanona, 15: estigmastano-3,6-diona, y 16: 7-oxositosterol.

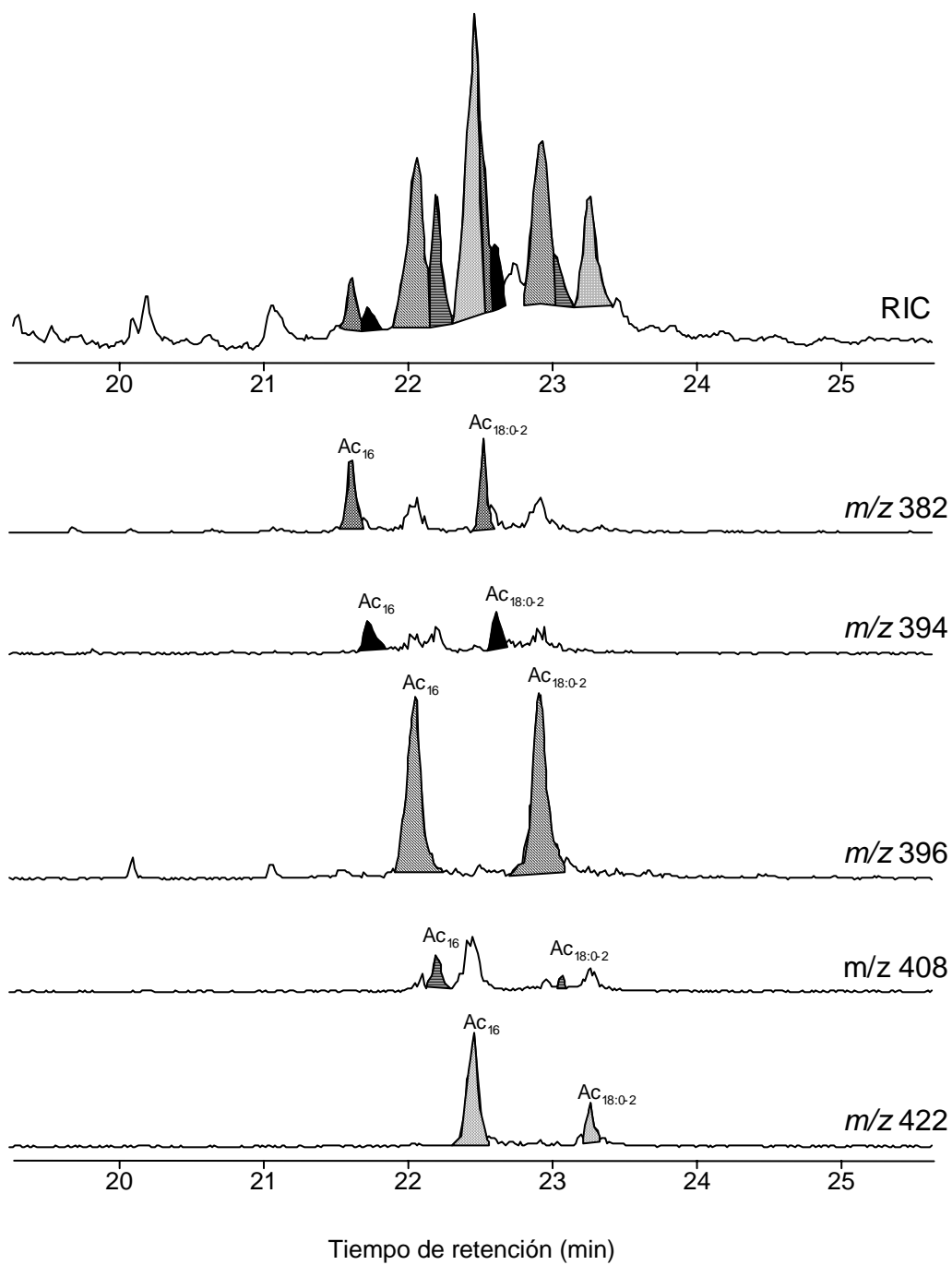


Entre los esteroides se identificaron sitosterol, estigmasterol, campesterol, 7-oxositosterol, 7-oxocampesterol, cicloartenol, 24-metilcicloartanol y cicloeucalenol, siendo el más abundante el sitosterol seguido del estigmasterol. La mayoría de estos esteroides están también presentes en otras especies de la familia de las musáceas como *Musa sapientum* L (Knapp y Nicholas, 1969) y *Musa paradisiaca* (Banerji *et al.*, 1982). Algunos de estos esteroides se encontraron esterificados con ácidos grasos y su estructura se confirmó por sus espectros de masas. La zona donde eluyen los ésteres de esteroides en la fracción A de SPE se encuentra ampliada en la Figura 68. En esta figura se muestran también los cromatogramas de los iones característicos correspondientes a los diversos esteroides esterificados observándose la presencia de ésteres de campesterol ( $m/z$  382), estigmasterol ( $m/z$  394), sitosterol ( $m/z$  396), cicloartenol ( $m/z$  408) y 24-metilcicloartanol ( $m/z$  422).

Para una caracterización más detallada de los ésteres de esteroides se recurrió a la saponificación de la fracción SPE enriquecida en ésteres de esteroides (fracción A), obteniéndose una fracción neutra que contenía los esteroides y una fracción ácida que contenía los ácidos grasos. En la Tabla 7 se muestra la composición relativa en porcentajes de los ácidos grasos y los esteroides liberados después de la saponificación. Los esteroides esterificados identificados fueron sitosterol, estigmasterol, campesterol, 24-metilcicloartanol y cicloartenol, siendo los más abundantes los ésteres de 24-metilcicloartanol y sitosterol. La serie de ácidos grasos esterificados varía de  $C_{14}$  a  $C_{28}$ , siendo los mayoritarios los ácidos palmítico, esteárico, oleico y linoleico.

Por otra parte, también se detectaron glicósidos esteroidales (campesteril, estigmasteril y sitosteril 3 $\beta$ -D-glucopiranosidos) en el extracto lipídico, siendo el sitosteril 3 $\beta$ -D-glucopiranosido el mayoritario. También se identificaron diversas cetonas esteroidales, como estigmasta-3,5-dien-7-ona, estigmast-4-en-3-ona, estigmast-4-en-3,6-diona, estigmastano-3,6-diona, cicloartenona y 24-metilcicloartanona, así como hidrocarburos esteroidales, como estigmasta-3,5,7-trieno, ergosta-3,5,7-trieno y estigmasta-3,5-dieno.

En el caso de las fibras de abacá, al igual que ocurrió en las fibras de sisal, y a diferencia de las fibras de tallos estudiadas (lino, cáñamo, kenaf y yute), no se detectaron compuestos triterpenoidales.



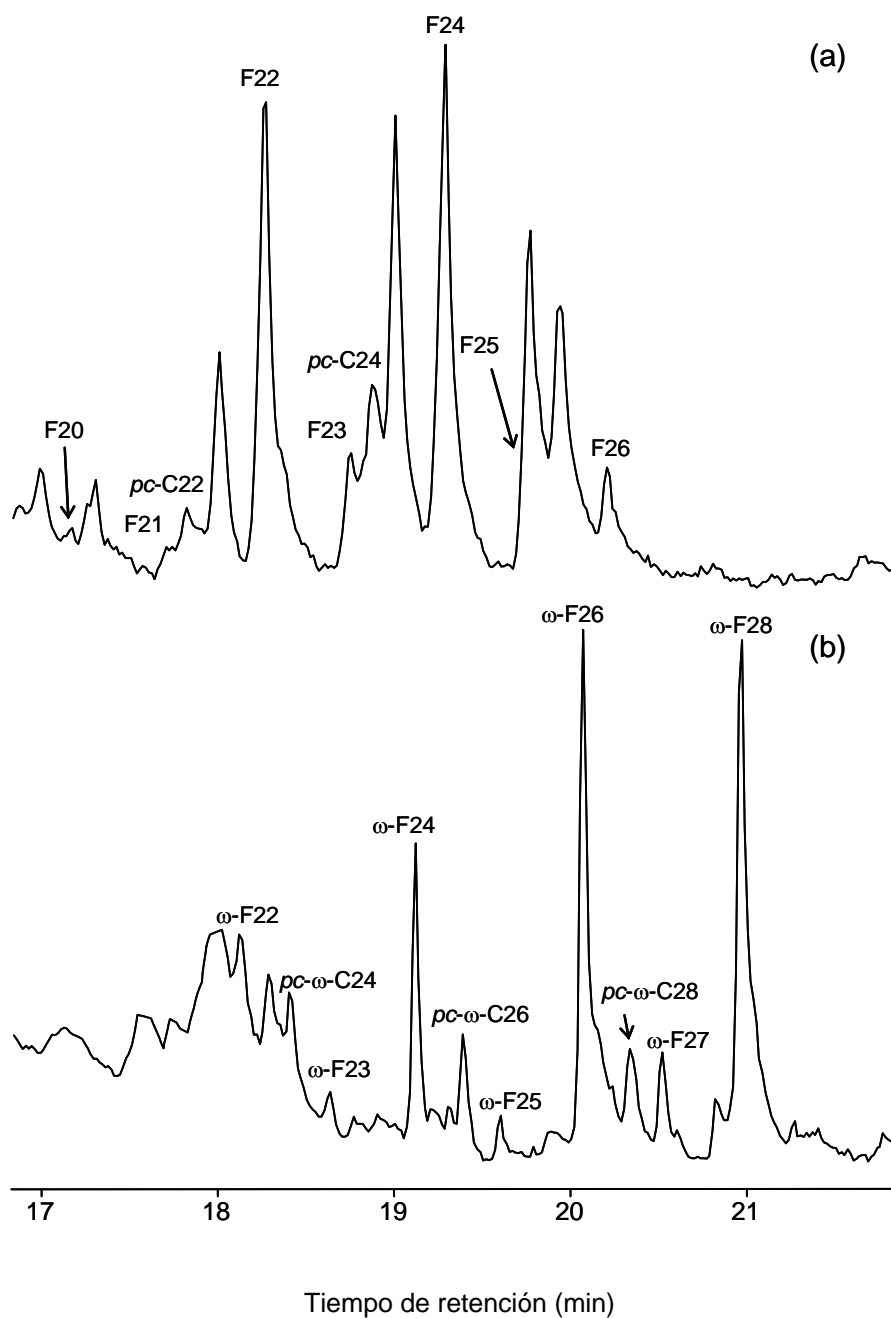
**Figura 68.** Cromatograma parcial de la fracción A de SPE del abacá mostrando la serie de ésteres de esteroides y cromatogramas reconstruidos de los iones característicos de las diferentes series de ésteres de esteroides,  $m/z$  382 campesterol,  $m/z$  394 estigmasterol,  $m/z$  396 sitosterol,  $m/z$  408 cicloartenol y  $m/z$  422 24-metilcicloartenol.

**Tabla 7.** Composición relativa (%) de los ácidos grasos y los esteroides liberados después de la saponificación de la fracción enriquecida en ésteres de esteroides (fracción A) del extracto de las fibras de abacá.

Fracción A (SPE)	Abundancia (%)
<b>Esteroides</b>	
campesterol	19
estigmasterol	17
sitosterol	26
cicloartenol	10
24-metilencicloartanol	28
<b><i>n</i>-Ácidos grasos</b>	
ácido <i>n</i> -tetradecanoico	6
ácido <i>n</i> -pentadecanoico	5
ácido <i>n</i> -hexadecanoico	28
ácido <i>n</i> -heptadecanoico	3
ácido 9,12-octadecadienoico	9
ácido 9-octadecenoico	11
ácido <i>n</i> -octadecanoico	27
ácido <i>n</i> -nonadecanoico	1
ácido <i>n</i> -eicosanoico	2
ácido <i>n</i> -heneicosanoico	<0,5
ácido <i>n</i> -docosanoico	2
ácido <i>n</i> -tricosanoico	1
ácido <i>n</i> -tetracosanoico	2
ácido <i>n</i> -pentacosanoico	1
ácido <i>n</i> -hexacosanoico	1
ácido <i>n</i> -heptacosanoico	<0,5
ácido <i>n</i> -octacosanoico	<0,5

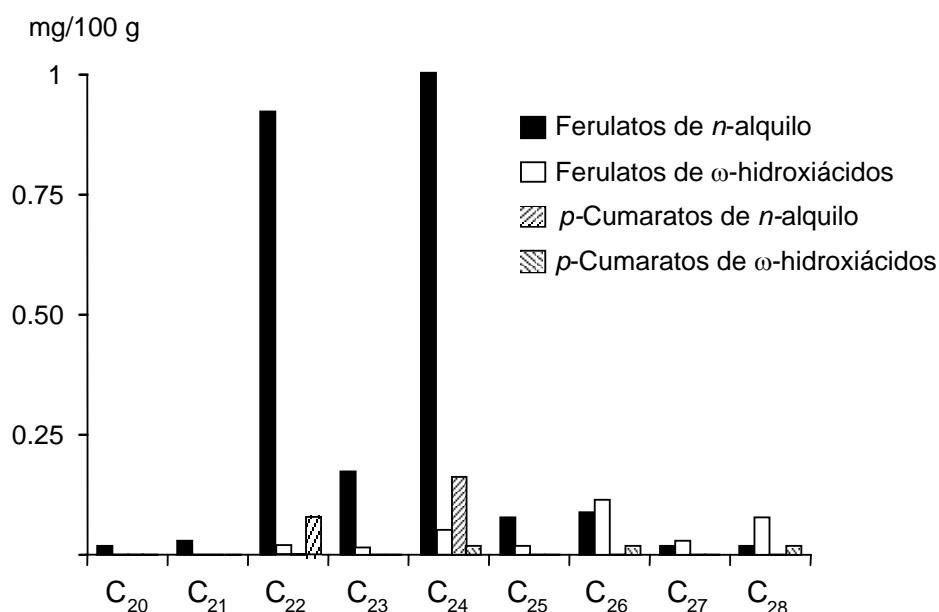
Como se menciona anteriormente, en el extracto de las fibras de abacá se identificaron también series de ésteres de ácidos hidroxicinámicos, principalmente de ácido *trans*-ferúlico y cantidades menores del ácido *trans-p*-cumárico. Estos ácidos se encuentran unidos a alcoholes grasos y a  $\omega$ -hidroxiácidos de cadena larga. Los ésteres del ácido ferúlico se identificaron en las fibras de sisal y abacá, mientras los ésteres del ácido *trans-p*-cumárico, sólo se han podido detectar en las de abacá.

Los ácidos hidroxicinámicos esterificados con *n*-alcoholes grasos y con  $\omega$ -hidroxiácidos eluyeron en las fracciones C y D de la SPE, respectivamente (Figura 67). La zona del cromatograma donde eluyen se encuentra ampliada en la Figura 69.



**Figura 69.** Cromatograma parcial de las fracciones C (a) y D (b) de la SPE del extracto de abacá.  $F(n)$ :  $n$ -serie de ésteres de alquilferulato,  $\omega$ - $F(n)$ : ésteres de carboxialquilferulato,  $pc$ - $C(n)$ : serie de  $n$ -alquilaratos y  $pc$ - $\omega$ - $C(n)$ : serie de  $n$ -carboxialquilaratos;  $n$ : número de átomos de carbono.

La distribución de las series de ésteres de los ácidos ferúlico y *p*-cumárico se muestra en la Figura 70. La serie de los ferulatos de *n*-alquilo se identificó en el abacá desde C<sub>20</sub> a C<sub>28</sub>, siendo los mayoritarios C<sub>22</sub> y C<sub>24</sub>, mientras que los feruloil ésteres unidos a  $\omega$ -hidroxiácidos se encontraron desde C<sub>22</sub> a C<sub>28</sub>, siendo los máximos C<sub>26</sub>, C<sub>28</sub> y C<sub>24</sub>. En ambas series hay un fuerte predominio de los homólogos de cadena par. Por otra parte, la serie de *trans-p*-cumaratos de *n*-alquilo se encuentra en muy baja proporción incluyendo compuestos de C<sub>22</sub> a C<sub>24</sub>, con la única presencia de los homólogos de cadena par. La serie de *p*-cumaroil ésteres de  $\omega$ -hidroxiácidos se identificó en cantidades menores. Esta serie está presente en el rango de C<sub>24</sub> a C<sub>28</sub>, con la única presencia de los homólogos pares, siendo la primera vez que se describe su presencia en plantas.

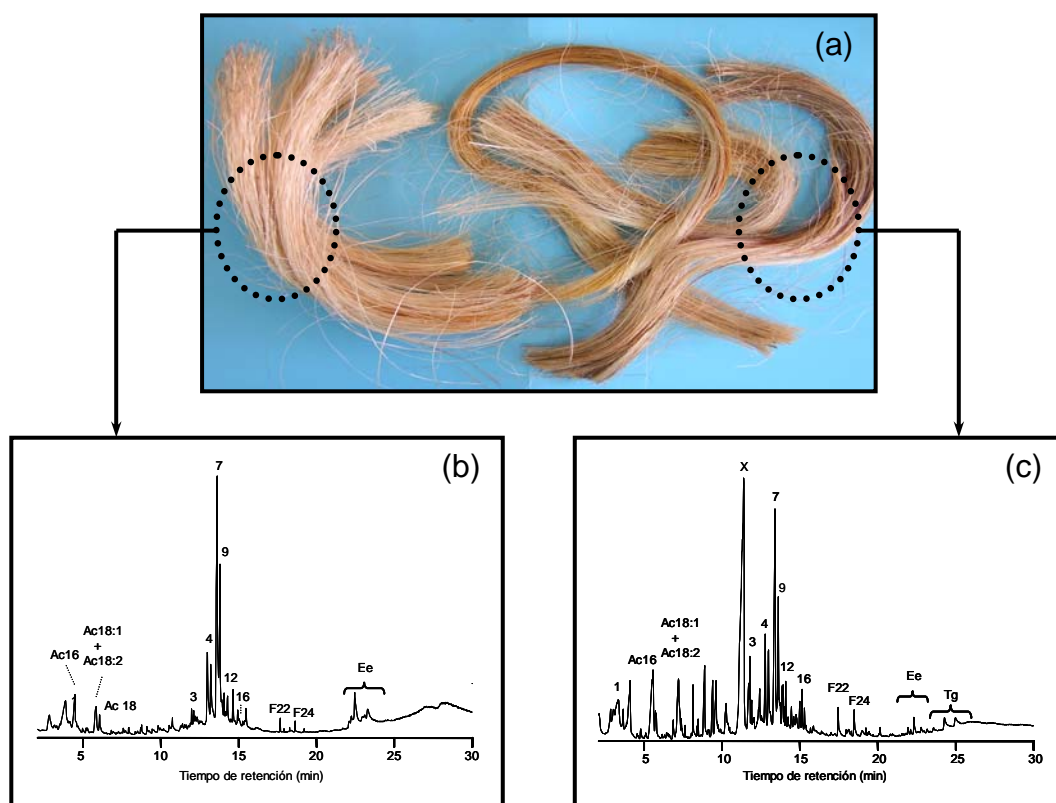


**Figura 70.** Distribución de los ésteres de ácidos hidroxicinámicos. El eje de ordenadas muestra la abundancia de los compuestos (mg/100 g).

Se puede observar que la distribución de las series de alcoholes grasos y de  $\omega$ -hidroxiácidos esterificados con el ácido ferúlico y el ácido *p*-cumárico es similar a los encontrados en forma libre. La serie de ésteres del ácido ferúlico y cumárico aparecen en forma *trans*. También aparecen cantidades menores correspondientes a los isómeros *cis* probablemente formadas durante la extracción y/o análisis. Además de esterificados, el ácido ferúlico y el ácido *p*-cumárico se encuentran en forma libre en el extracto de abacá (Figura 65).

En las fibras de abacá, a diferencia del resto de fibras seleccionadas, se identificaron triglicéridos aunque en baja abundancia. Los triglicéridos identificados son 1,2-dioleilpalmitina (O2P), trioleína (O3) y 1,2-dipalmitoiloleína (P2O). También se identificaron monoglicéridos y diglicéridos en proporciones menores. Los monoglicéridos varían de C<sub>14</sub> a C<sub>30</sub>, siendo los mayoritarios C<sub>28</sub> y C<sub>26</sub>. En el caso de los diglicéridos el rango varía de C<sub>16</sub> a C<sub>18</sub> siendo el más abundante el octadecanoato de 2-octadecanoiloxi-3-hidroxipropilo [St2 (1,2)]. En ambas series se observa un predominio de los compuestos con número par de átomos de carbono. Los monoglicéridos están sustituidos en la posición 1 mientras que los diglicéridos están sustituidos en las posiciones 1,2 y 1,3.

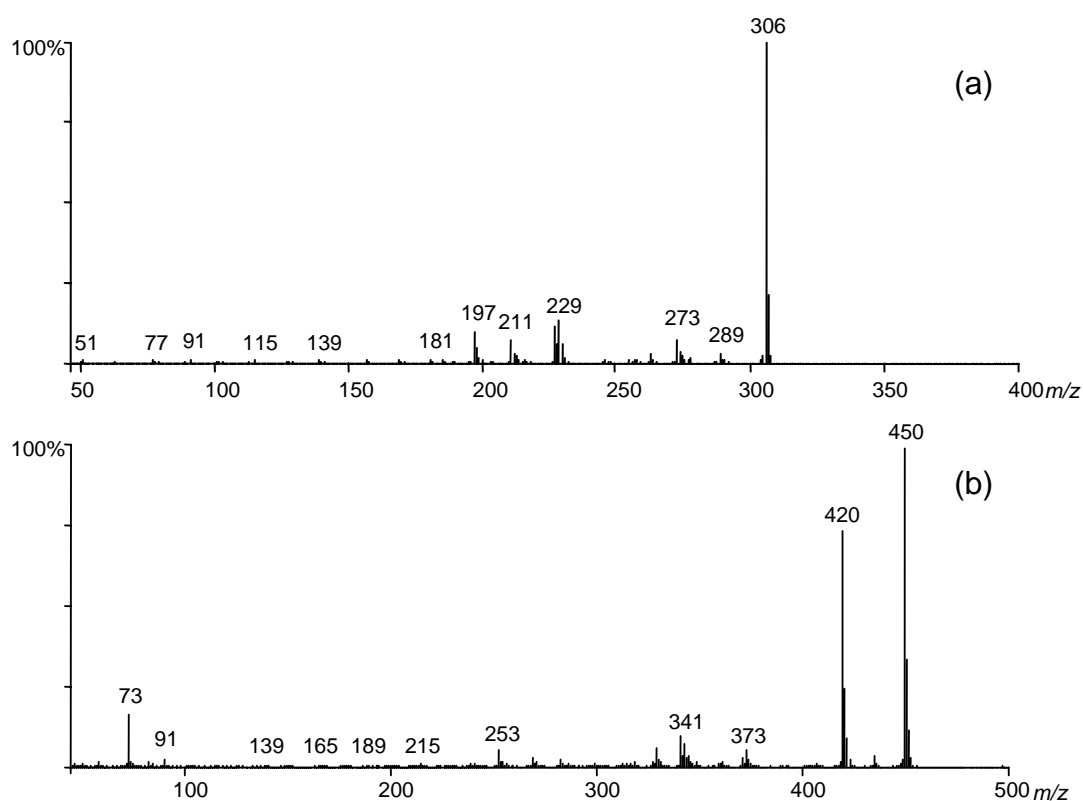
Por otro lado, es necesario destacar que algunas zonas de las fibras de abacá presentaban una coloración más oscura que el resto de las fibras (Figura 71), por lo que se analizó por separado estas zonas para averiguar el origen de la coloración.



**Figura 71.** Fotografía de las fibras de abacá (a) y los correspondientes perfiles cromatográficos de sus extractos (b) y (c). 1: ácido *p*-cumárico, 3: estigmastan-3,5,7-trieno, 4: campesterol, 7: sitosterol, 9: cicloartenona, 12: estigmast-4-en-3-ona, 16: 7-oxositosterol y X: compuesto desconocido que provoca la coloración de las fibras.

En la Figura 71 se muestran los correspondientes perfiles cromatográficos de los extractos de cada una de las partes. La composición química del extracto de las fibras de tonalidad clara y oscura fue similar, si bien se detectaron una serie de compuestos en muy alta abundancia en las fibras de pigmentación oscura que no aparecían en las fibras más claras. El cromatograma correspondiente a los extractos de la parte oscura se encuentra dominado por un compuesto (compuesto X) que no se detectó en el cromatograma del extracto de las fibras más claras, por lo que se dedujo que puede ser el responsable de esta tonalidad.

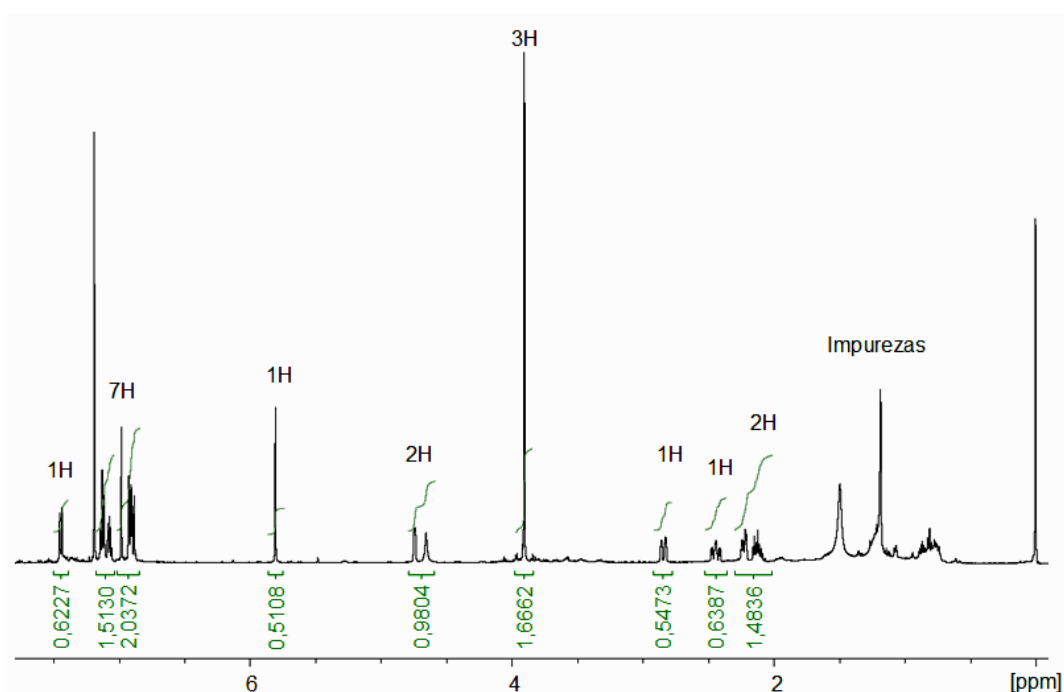
Este compuesto mayoritario en las fibras oscuras se concentró en la fracción C de SPE, lo que indica que es un alcohol. La derivatización con BSTFA introdujo dos grupos TMSi, indicando que tiene dos grupos hidroxilos. En la Figura 72 se muestran los espectros de masas sin derivatizar y el derivado TMSi éter de este compuesto.



**Figura 72.** Espectros de masas del compuesto X sin derivatizar (a) y silanizado (b).

El espectro de masas sin derivatizar (Figura 72a) se caracteriza por un abundante ión molecular, que es el pico base, a  $m/z$  306 mientras que el espectro de masas del derivado silanizado (Figura 72b) muestra un ión molecular a  $m/z$  450, debido a la presencia de dos grupos TMSi. Estos espectros de masas no se correspondían con ningún compuesto conocido, ni estaban presentes en las librerías de espectros, ni en la bibliografía, por lo que para la determinación de su estructura se recurrió a la técnica de NMR. Para ello se concentró y purificó el compuesto mediante TLC (el compuesto aparecía con un  $R_f$  de 0.16) y se llevaron a cabo diferentes registros de espectros NMR para elucidar su estructura molecular. Se obtuvieron NMR monodimensionales de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  y bidimensionales homonuclear (COSY, NOESY) y heteronuclear (HSQC, HSQC-TOCSY y HMBC).

El espectro de  $^1\text{H}$ -NMR del compuesto X se muestra en la Figura 73. En la Tabla 8 se muestran los desplazamientos químicos de  $^1\text{H}$ -NMR para dicho compuesto.



**Figura 73.** Espectro de  $^1\text{H}$ -NMR del compuesto X.



Dicho espectro muestra señales correspondientes a dos protones aromáticos acoplados en orto ( $\delta$  6,89, d,  $J=8,5$  Hz); ( $\delta$  7,44, d,  $J=8,5$  Hz), cinco protones aromáticos de un anillo fenilo monosustituido ( $\delta$  6,90, dd,  $J=7,0, 1,0$  Hz;  $\delta$  7,08, ddd,  $J=7,0, 7,0, 1,0$  Hz;  $\delta$  7,13, dd,  $J=7,0, 7,0$  Hz) y un protón aromático de un anillo aromático pentasustituido ( $\delta$  6,98). Del análisis del espectro de  $^1\text{H-NMR}$  se deduce que la molécula contiene 18 protones.

**Tabla 8.** Desplazamientos químicos de  $^1\text{H-NMR}$  del compuesto X (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ). Los valores de  $J$  (Hz) se encuentran entre paréntesis.

H	$\delta$
1	4,74 dd (4,0, 2,5)
2a	2,12 dddd (13,0, 13,0, 4,0, 4,0)
2e	2,23 dddd (13,0, 4,0, 2,5, 2,5)
3a	2,44 ddd (16,0, 13,0, 4,0)
3e	2,84 ddd (16,0, 4,0, 2,5)
5	6,89 d (8,5)
6	7,44 d (8,5)
7	6,98 s
2', 6'	6,90 dd (7,0, 1,0)
4'	7,08 ddd (7,0, 7,0, 1,0)
3', 5'	7,13 dd (7,0, 7,0)
-OCH <sub>3</sub>	3,90 s
-OH	5,80 s
-OH	4,65 bs

En la Figura 74 se muestra el espectro de  $^{13}\text{C-NMR}$  del compuesto X y en la Tabla 9 los correspondientes desplazamientos químicos. Del análisis de este espectro se deduce que el número total de carbonos existentes en la molécula es 20.

Una vez estimado el número de C e H se determinó el número de insaturaciones. Dicho parámetro da una idea bastante aproximada del producto estudiado. El número de insaturaciones (N.I) se calculó aplicando la siguiente fórmula matemática:

$$\text{N.I.} = [(2 \cdot n^{\circ}\text{C} - n^{\circ}\text{H} + n^{\circ}\text{N})/2] + 1.$$

$$\text{En el presente caso N.I.} = [(2 \cdot 20 - 18)/2] + 1 = 12 \text{ insaturaciones.}$$

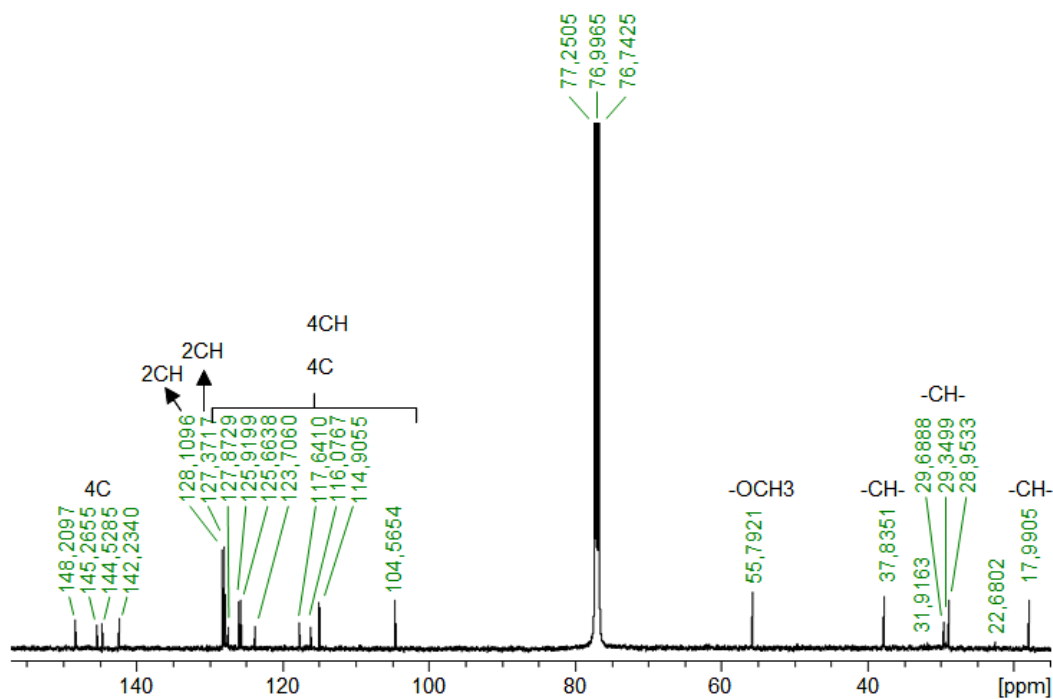
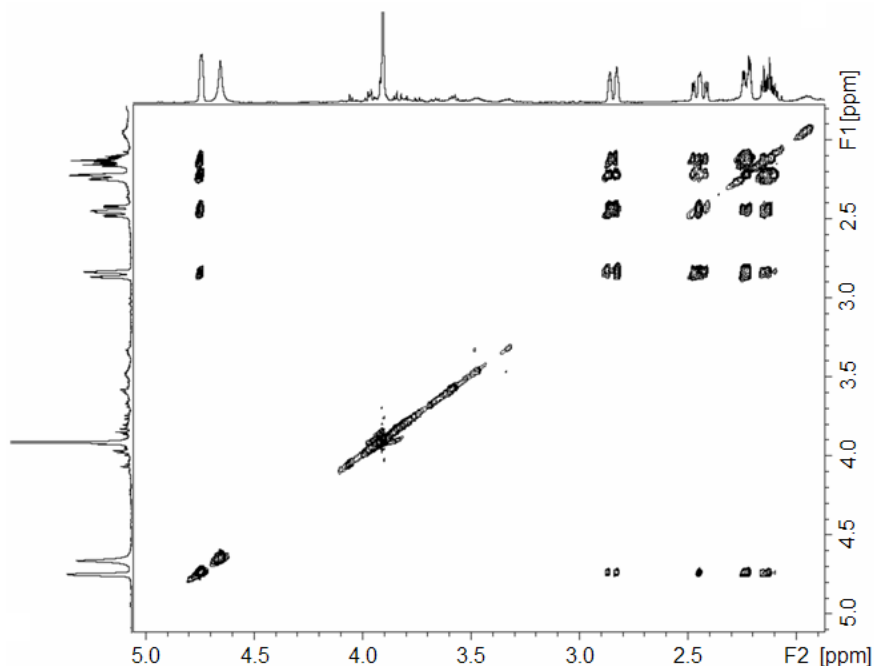


Figura 74. Espectro de  $^{13}\text{C}$ -NMR del compuesto X.

Tabla 9. Desplazamientos químicos de  $^{13}\text{C}$ -NMR para el compuesto X (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

C	$\delta$
1	37,84
2	28,95
3	17,99
3a	116,08
4	148,21
5	114,91
6	125,68
6a	123,71
7	104,57
8	145,57
9	142,24
9a	117,64
9b	125,37
1'	144,53
2', 6'	127,88
4'	125,92
3', 5'	128,11
-OCH <sub>3</sub>	55,79

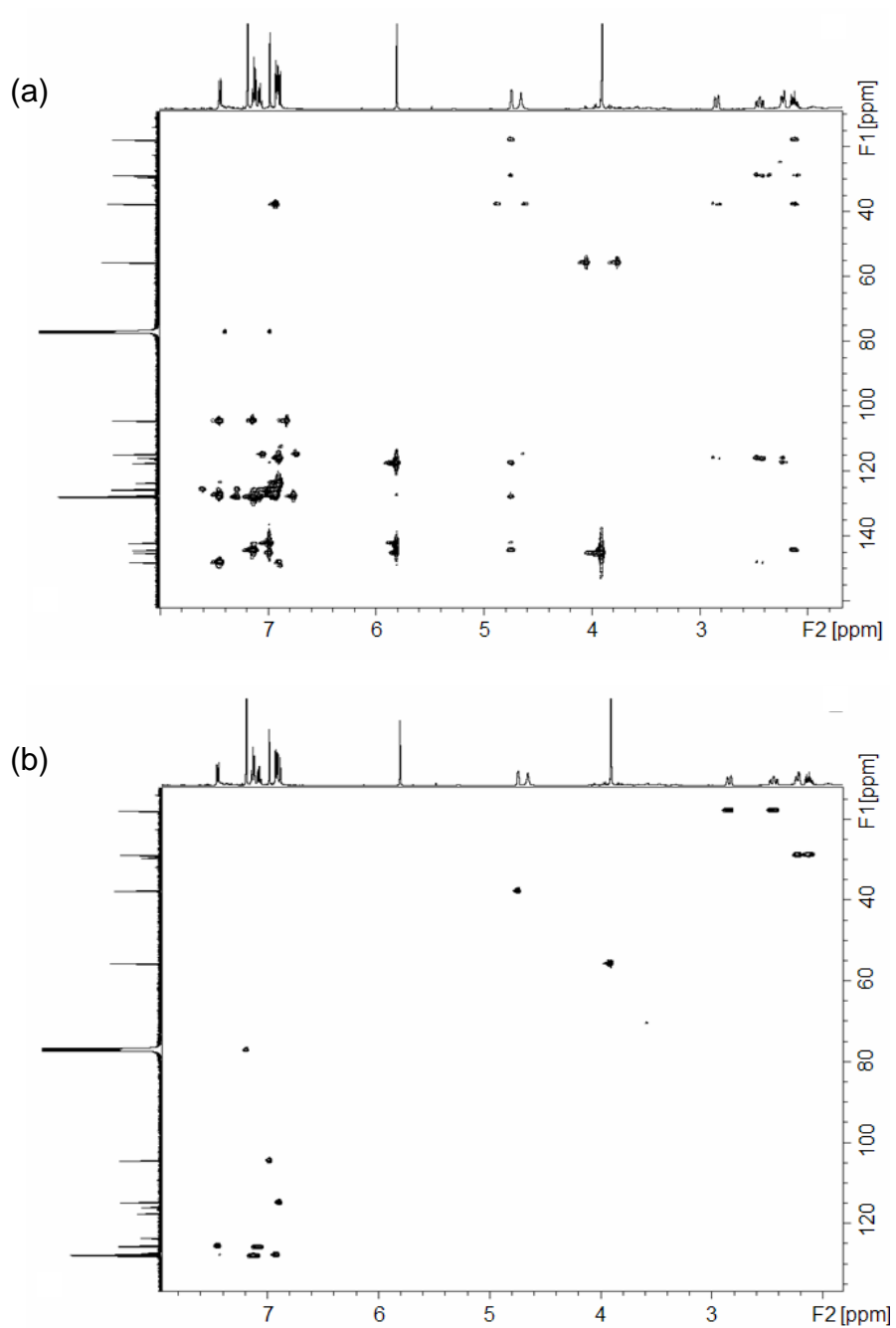
Determinado el número de H, C e insaturaciones se llevó a cabo el registro del espectro NMR de correlación protón-protón (COSY) (Figura 75), lo que permitió determinar que las señales localizadas a  $\delta$  2,12 (dddd  $J=13,0, 13,0, 4,0, 4,0$ ),  $\delta$  2,23 (dddd  $J= 13,0, 4,0, 2,5, 2,5$ ),  $\delta$  2,44 (ddd,  $J= 16,0, 13,0, 4,0$ ) y  $\delta$  2,84 (ddd,  $J=16,0, 4,0, 2,5$ ) corresponden a dos metilenos vecinales y uno de ellos está directamente unido a un metano bencílico, cuya señal está localizada a  $\delta$  4,74 (dd,  $J=4,0, 2,5$  Hz).



**Figura 75.** Espectro de NMR de correlación protón-protón (COSY).

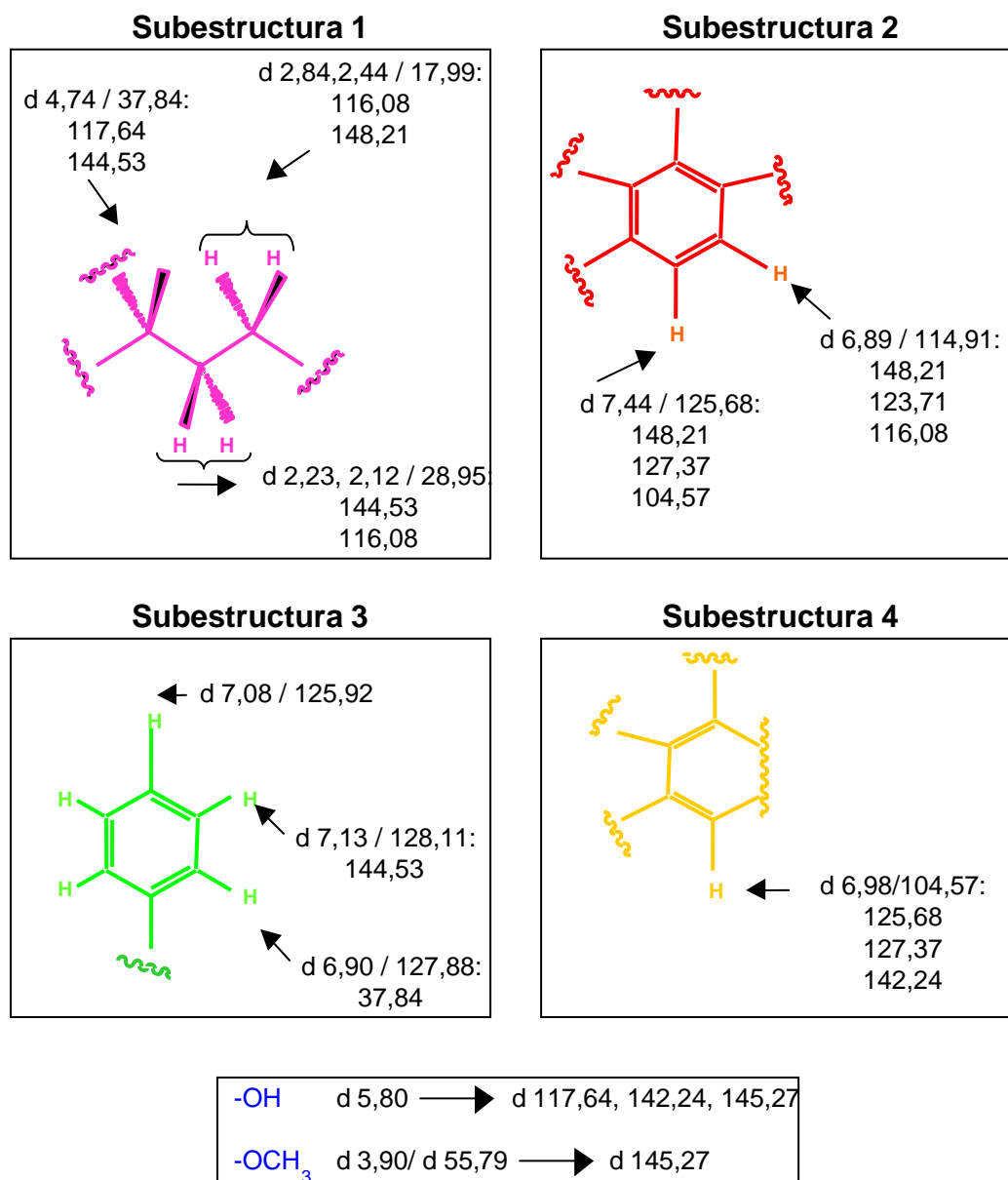
Mediante el análisis del espectro de correlación heteronuclear en enlace múltiple (HMBC) (ver Figura 76a) se estableció la presencia de un grupo metoxilo ( $\delta$  3,90) en un carbono cuaternario C-8 ( $\delta$  145,57). Además, la presencia de dos hidrógenos de hidroxilos (localizados a  $\delta$  5,80 s y  $\delta$  4,65 br s) se estableció por la falta de picos cruzados para estas señales en el espectro de correlación heteronuclear a un enlace (HSQC) (Figura 76b).

La conectividad de estos fragmentos se hizo mediante el análisis de los datos del HMBC, estableciendo la característica estructura tipo fenilfenalenona. El análisis empezó con dos correlaciones  $J^2$  y  $J^3$  entre cada uno de los protones aromáticos acoplados en *orto*, H-5 y H-6, con el carbono cuaternario fenólico (C-4, localizado a  $\delta$  148,21).



**Figura 76.** Espectro HMBC (a) y espectro HSQC (b).

En la Figura 77 se muestran las correspondientes subestructuras del compuesto X inferidas a partir del análisis por HMBC.

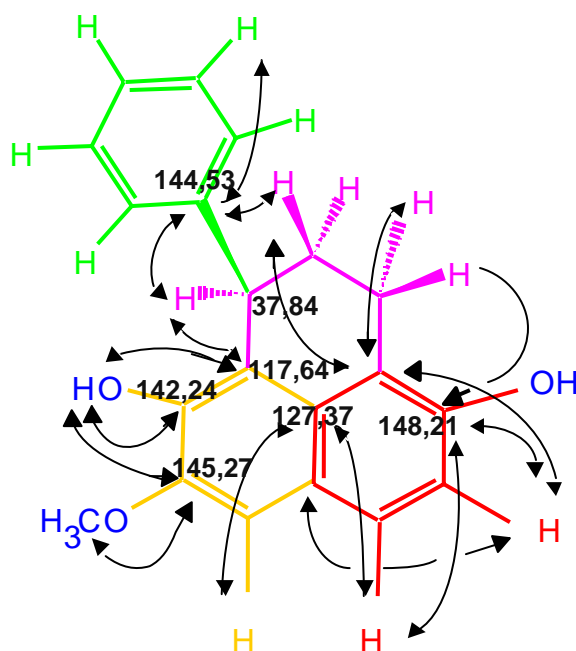


**Figura 77.** Conectividades HMBC ( $J^2$  y  $J^3$ ) de las diferentes subestructuras del compuesto X.

El hidrógeno fenólico a  $\delta$  5,80 muestra un pico cruzado  $J^2$  con el adyacente C-9

(localizado a  $\delta$  142,24), y  $J^3$  con el C-8 (localizado a  $\delta$  145,57). Además, la señal de H-7 ( $\delta$  6,98) presenta una correlación  $J^3$  con el carbono cuaternario a C-9.

La presencia de un esqueleto de naftaleno se evidenció por la presencia de picos cruzados  $J^3$  asignados a H-6 ( $\delta$  7,44)/H-7 ( $\delta$  6,98) con C-9b ( $\delta$  127,37) y H-5 ( $\delta$  6,89) con C-6a ( $\delta$  123,71). Además, las correlaciones HMBC del metiluro bencílico asignada a H-1 ( $\delta$  4,74) con el carbono cuaternario C-9a ( $\delta$  117,64), así como los picos cruzados  $J^2$  y  $J^3$  del metileno bencílico H-3a,3e con C-3a ( $\delta$  116,08) y el carbono fenólico C-4 ( $\delta$  148,21) respectivamente, permitió confirmar las conectividades del núcleo fenaleno C(-1)-C(9a) y C(3)-C(3a). Además, las correlaciones de largo alcance de H-2a, 2e ( $\delta$  2,12,  $\delta$  2,24) y H-1 con el carbono *ipso* C-1' ( $\delta$  144,54), indicaron la presencia del anillo fenilo monosustituido en C-1. Los picos cruzados de HSQC completaron las asignaciones de los átomos de carbonos hidrogenados (Tabla 9). En la Figura 78 se muestra la estructura deducida del compuesto X y sus correspondientes conectividades (HMBC).

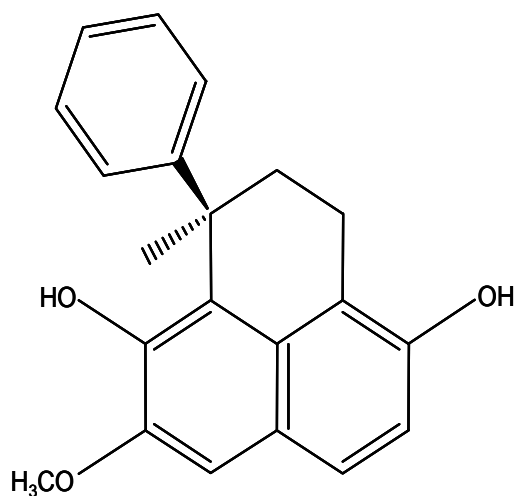


**Figura 78.** Conectividades HMBC ( $J^2$  y  $J^3$ ) del compuesto X.

La configuración relativa del compuesto se determinó por las constantes de acoplamiento de la parte alifática y desde los picos cruzados observados en la

espectroscopía de efecto nuclear Overhauser (NOESY). La orientación *pseudo*-ecuatorial de H-1 se estableció por la constante de acoplamiento (4,0, 2,5 Hz) y la constante de acoplamiento *trans*-axial grande de H-2a con H-3a (13,0 Hz) indicó una conformación de *pseudo*-silla del anillo. De acuerdo con estas observaciones, H-2', 6' mostró interacciones NOE (efecto nuclear Overhauser) con los H-2e y H-3a indicando que estos protones se orientan en el mismo lado del anillo fenilo monosustituido. Además, los picos cruzados NOE se observaron para H-7 con el grupo metoxilo y H-6.

Por tanto, después del análisis de los diferentes espectros de NMR, la estructura del compuesto X resultó ser (*RS*)-2,3-dihidro-4,9-dihidroxi-8-metoxi-1-fenilfenaleno (Figura 79).



**Figura 79.** Estructura de (*RS*)-2,3-dihidro-4,9-dihidroxi-8-metoxi-1-fenilfenaleno.

Este compuesto es del tipo de las fenilfenalenonas, y estructuralmente está relacionado con un dímero de dihidrofenaleno aislado de *Anigozanthos flavidus* una especie de la familia de las Haemodoráceas (Hölscher y Schneider, 1999). Las fenilfenalenonas son una familia de productos naturales derivados del fenilpropano que se encuentran en Musáceas, (Luis *et al.*, 1995; Kamo *et al.*, 1998), Haemodoráceas (Cooke y Edwards, 1981), Pontederiáceas (Greca *et al.*, 1992) y Strelitziáceas (Hölscher y Schneider, 2000). Estudios anteriores han demostrado que las fenilfenalenonas procedentes de *Musa acuminata* y *Musa paradisiaca* son activas como fitoalexinas y fitoanticipinas (Luis *et al.*, 1993, 1996; Binks *et al.*,

1997; Kamo *et al.*, 2000) y por lo tanto, su presencia aumenta en respuesta a la invasión microbiana. Entre los agentes patógenos a los cuales dan respuesta están los hongos *Mycosphaerella fijiensis* y *Fusarium oxysporum* (causante de la denominada enfermedad de Panamá), que atacan a las hojas de la banana (*Musa acuminata*) (Luis *et al.*, 1994). En el presente caso, la presencia de este compuesto en las hojas de abacá (Musáceas) podría deberse al igual que en los casos anteriores, a la respuesta de la planta frente a invasiones microbianas.

#### **4.2.3. Modificación estructural de los lípidos de las fibras durante la cocción a la sosa/AQ**

La caracterización química de las materias primas utilizadas para la fabricación de pasta de papel, así como el estudio de las modificaciones y los cambios estructurales sufridos por los diferentes lípidos durante el pasteado, constituyen requisitos fundamentales para llegar a identificar los compuestos que originan los problemas de "pitch", diseñar estrategias adecuadas para su control y optimizar los procesos de eliminación de los extraíbles presentes en las pastas.

Los compuestos lipofílicos que sobreviven a la cocción reaccionarán de distinta forma dependiendo de su estructura y del agente de blanqueo utilizado, pudiendo dar lugar a problemas de "pitch". La necesidad de buscar formas más respetuosas con el medio ambiente ha conducido a la industria de pasta y papel en una primera fase a la sustitución del cloro elemental por dióxido de cloro con la intención de producir pastas ECF, y en una segunda fase, a la sustitución total de los derivados del cloro para producir pastas TCF y así reducir o eliminar las emisiones de AOX en los efluentes. La novedad de las secuencias de blanqueo TCF ha obligado al sector papelerero a solucionar los nuevos problemas que surgen con estas secuencias y que no se daban al utilizar reactivos más agresivos (aunque también más contaminantes). Entre los problemas causados por este tipo de compuestos ocupa un lugar importante la formación de depósitos de "pitch" tanto en las máquinas como en las pastas (Allen, 1980; Hillis y Sumimoto, 1989). Como se ha mencionado anteriormente, estos depósitos se forman por la acumulación de compuestos lipídicos y reducen drásticamente la calidad del producto final. El cierre de los circuitos cada vez mayor ha ocasionado un aumento en la concentración de estos compuestos en el sistema con el consiguiente agravamiento de los problemas de "pitch".

Para determinar las modificaciones y los cambios estructurales sufridos por los diferentes lípidos durante la cocción alcalina, se estudió la composición de diversas pastas alcalinas obtenidas por el proceso sosa/AQ con distintos contenidos en lignina (estimadas como índice kappa). Entre éstas se seleccionaron dos pastas de



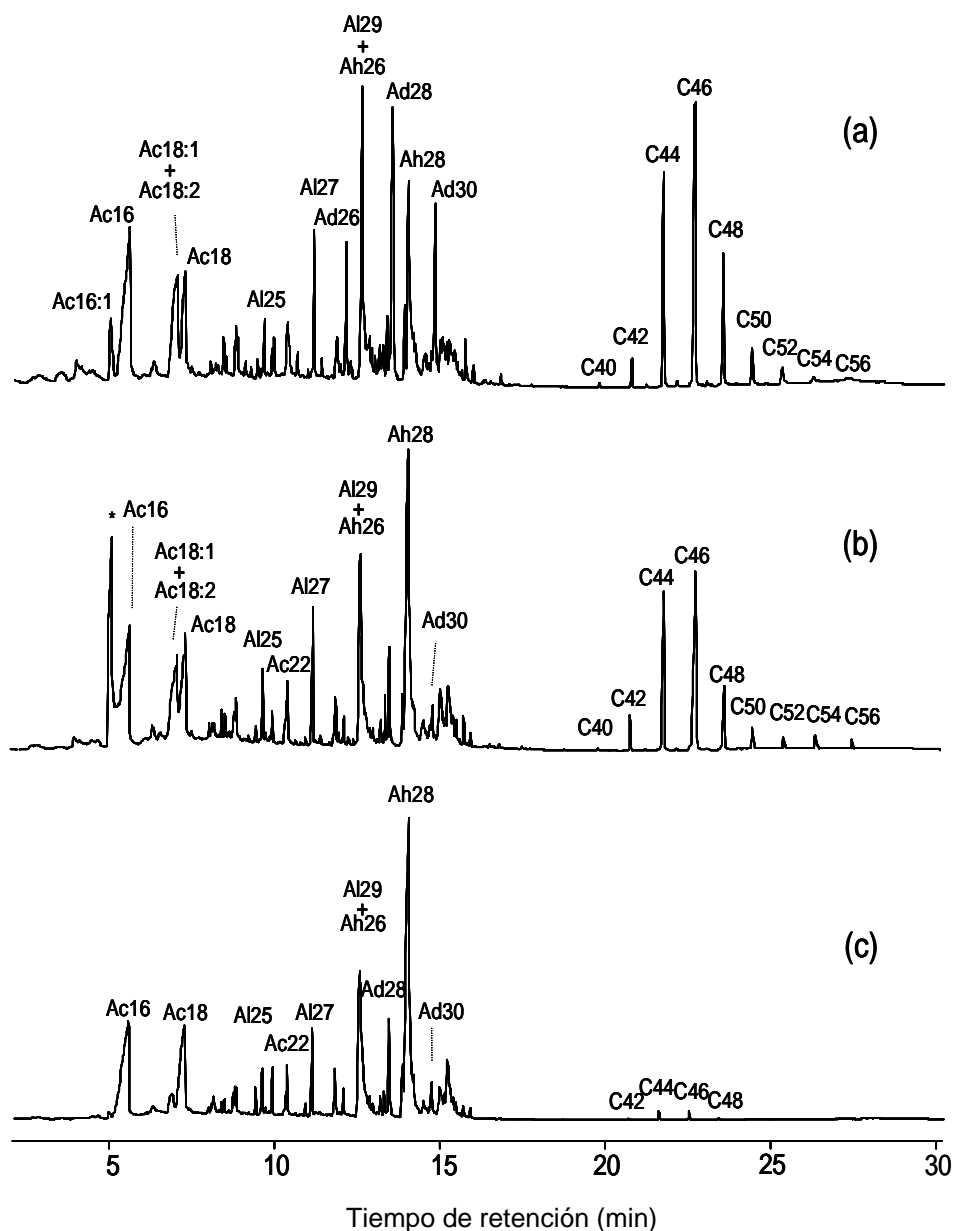
lino de kappa 28 y kappa 6 y una de pasta de kenaf de kappa 6. Estas pastas se obtuvieron mediante cocción con distintas concentraciones de álcali.

Los extractos lipídicos de las pastas de lino (kappa 28 y kappa 6) son 0,5 y 0,3%, respectivamente. En la Figura 80 se muestran los cromatogramas de los extractos lipídicos de dichas pastas, así como el cromatograma de las fibras de lino para su comparación. La composición química detallada de los lípidos identificados en las pastas de lino se muestra en la Tabla 10.

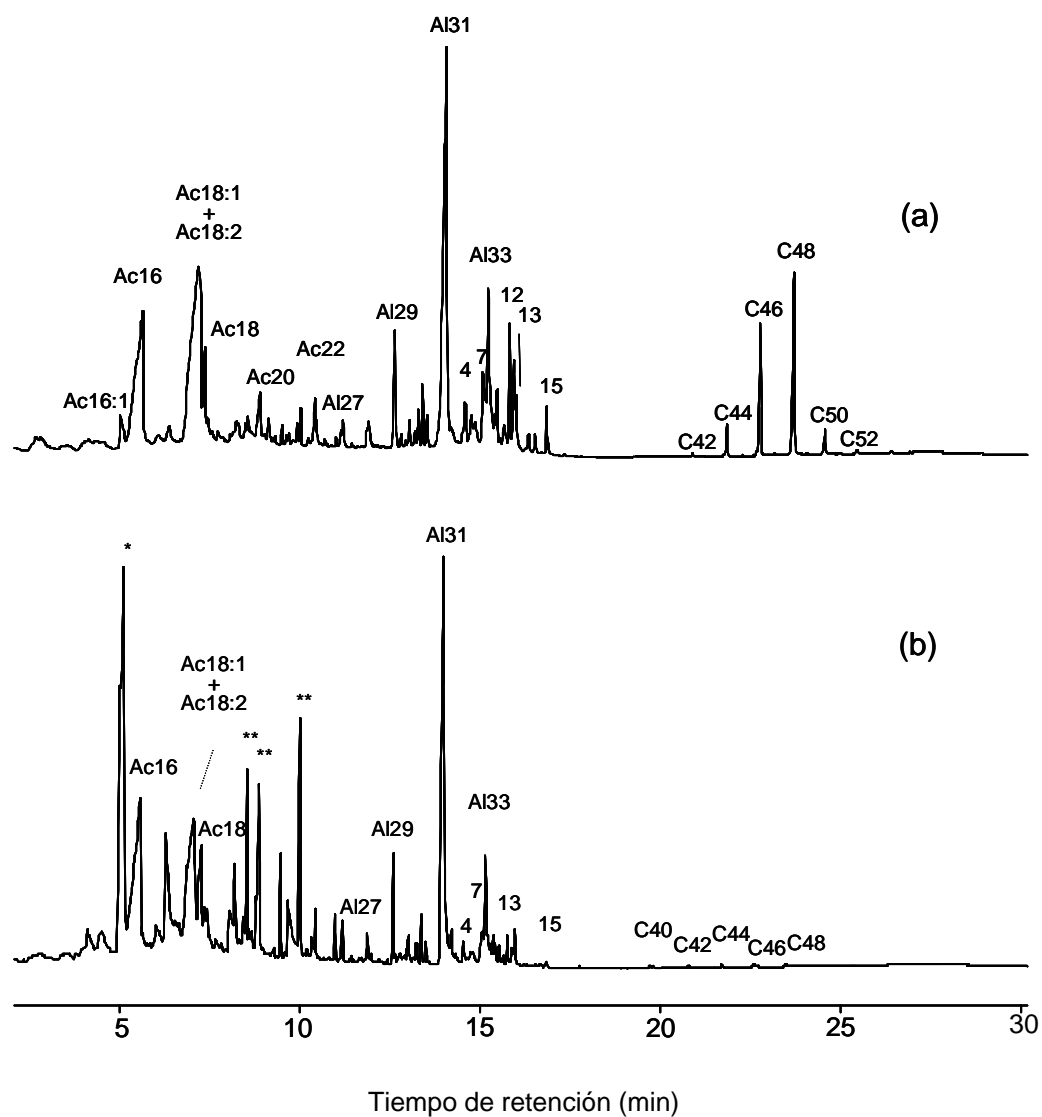
La composición lipídica de la pasta de lino de kappa 28 (Figura 80b) es muy similar a la de las fibras de lino, con un predominio de ceras (44%) y la presencia de series de *n*-alcoholes (18%), *n*-alcanos (17%) y *n*-ácidos grasos (16%). La principal diferencia en la composición lipídica de la pasta de lino de kappa 28 con respecto a la fibra es la cantidad de aldehídos presentes, los cuales disminuyen notablemente en la pasta mientras la cantidad de alcoholes de los correspondientes homólogos muestra un incremento paralelo, debido a la hidrólisis parcial de las ceras. En el caso de la pasta de lino de kappa 6 (Figura 80c) los lípidos predominantes son *n*-alcoholes (50%), *n*-alcanos (20%) y *n*-ácidos grasos (18%) y cantidades menores de aldehídos, ceras, esteroides y triterpenoides. Las principales diferencias en la composición lipídica de la pasta de lino de kappa 6 con respecto a la fibra son la fuerte disminución en la cantidad de ceras y el alto contenido en *n*-alcoholes libres debido a la liberación de los alcoholes que se encontraban esterificados formando las ceras. Tal y como ocurre en la pasta de lino de kappa 28, en la pasta de lino de kappa 6 se observa una fuerte disminución en la cantidad de aldehídos.

Por otra parte, se ha estudiado también la composición de los lípidos de una pasta de kenaf de kappa 6. El extracto lipídico de dicha pasta es de 0,1%. El cromatograma del extracto lipídico de la pasta de kenaf se muestra en la Figura 81, así como el de la fibra de kenaf para su comparación. La composición detallada de los lípidos identificados en la pasta de kenaf se muestra en la Tabla 10.

Los lípidos predominantes en la pasta de kenaf de kappa 6 son *n*-alcanos (40%), *n*-ácidos grasos (26%) y *n*-alcoholes (24%) y cantidades menores de *n*-ceras, esteroides y triterpenoides. La principal diferencia en la composición lipídica de la pasta de kenaf de kappa 6 con respecto a la fibra es la cantidad de ceras, la cual muestra un fuerte descenso con respecto a la fibra, como ocurría en la pasta de lino de kappa 6. Por otra parte, las series de *n*-alcanos y *n*-alcoholes, y los compuestos pertenecientes a las familias de esteroides y triterpenoides sobreviven a las condiciones de cocción permaneciendo en la pasta de kenaf.



**Figura 80.** Cromatogramas de los extractos lipídicos (sin derivatizar) de las fibras de lino (a), pasta de lino de kappa 28 (b) y pasta de lino de kappa 6 (c). Ac(*n*): serie de *n*-ácidos grasos, Al(*n*): serie de *n*-alcanos, Ad(*n*): *n*-aldehídos, Ah(*n*): serie de *n*-alcoholes, C(*n*): serie de *n*-ceras y \* antraquinona; *n*: número de átomos de carbono.



**Figura 81.** Cromatogramas de los extractos lipídicos (sin derivatizar) de las fibras de kenaf (a) y pasta de kenaf de kappa 6 (b). Ac(*n*): serie de *n*-ácidos grasos, Al(*n*): serie de *n*-alcanos, C(*n*): serie de *n*-ceras, 4: campesterol, 7: sitosterol, 12: estigmast-4-en-3-ona, 13: glutinol, 15: estigmastano-3,6-diona, \* antraquinona y \*\* contaminantes; *n*: número de átomos de carbono.

**Tabla 10.** Composición de los lípidos (mg/100 g) de las pastas de lino y kenaf.

Compuestos	Pastas de lino		Pasta de kenaf
	kappa 28	kappa 6	kappa 6
<b><i>n</i>-Alcanos</b>	<b>84,20</b>	<b>48,20</b>	<b>20,67</b>
<i>n</i> -heneicosano	2,88	0,51	3,36
<i>n</i> -tricosano	1,09	0,35	0,96
<i>n</i> -pentacosano	5,52	3,34	1,54
<i>n</i> -hexacosano	4,43	3,23	0,29
<i>n</i> -heptacosano	12,70	7,93	0,56
<i>n</i> -octacosano	5,82	4,30	0,31
<i>n</i> -nonacosano	44,10	22,00	1,03
<i>n</i> -triacontano	1,94	1,48	0,24
<i>n</i> -hentriacontano	5,70	5,03	11,20
<i>n</i> -tritriacontano	<0,01	<0,01	1,18
<b><i>n</i>-Ácidos grasos</b>	<b>77,00</b>	<b>44,10</b>	<b>13,60</b>
ácido <i>n</i> -tetradecanoico	0,47	0,36	0,34
ácido <i>n</i> -pentadecanoico	0,27	0,21	0,22
ácido 9-hexadecenoico	0,58	0,10	-
ácido <i>n</i> -hexadecanoico	26,50	20,70	5,59
ácido <i>n</i> -heptadecanoico	0,55	0,32	0,18
ácido 9,12-octadecadienoico	3,72	0,42	1,17
ácido 9-octadecenoico	15,70	2,09	2,53
ácido <i>n</i> -octadecanoico	18,00	15,70	1,60
ácido <i>n</i> -eicosanoico	2,61	1,50	1,13
ácido <i>n</i> -docosanoico	2,03	0,68	0,46
ácido <i>n</i> -tetracosanoico	1,94	0,72	0,17
ácido <i>n</i> -hexacosanoico	1,35	0,31	0,08
ácido <i>n</i> -octacosanoico	2,80	0,91	0,10
ácido <i>n</i> -triacontanoico	0,52	0,09	0,03
ácido <i>n</i> -dotriacontanoico	-	-	-
<b><i>n</i>-Alcoholes alifáticos</b>	<b>86,70</b>	<b>124,00</b>	<b>12,35</b>
<i>n</i> -hexadecanol	1,95	1,31	0,58
<i>n</i> -octadecanol	1,82	3,44	1,80
<i>n</i> -eicosanol	2,66	4,28	1,44
<i>n</i> -docosanol	0,70	1,65	1,09
<i>n</i> -tetracosanol	1,04	1,97	0,07
<i>n</i> -hexacosanol	15,40	23,50	0,90
<i>n</i> -octacosanol	48,20	70,90	5,36
<i>n</i> -triacontanol	14,20	16,10	1,58
<i>n</i> -dotriacontanol	0,74	0,66	0,11
<b><i>n</i>-Aldehídos</b>	<b>6,91</b>	<b>7,93</b>	<b>0,04</b>
<i>n</i> -heneicosanal	-	-	-
<i>n</i> -docosanal	-	-	-

(Cont.)

Compuestos	Pastas de lino		Pasta de kenaf
	kappa 28	kappa 6	kappa 6
<i>n</i> -tricosanal	-	0,06	-
<i>n</i> -tetracosanal	0,15	0,11	-
<i>n</i> -pentacosanal	-	-	-
<i>n</i> -hexacosanal	1,29	1,24	-
<i>n</i> -heptacosanal	-	-	-
<i>n</i> -octacosanal	4,13	5,42	0,04
<i>n</i> -nonacosanal	-	-	-
<i>n</i> -triacontanal	1,34	1,10	-
<i>n</i> -dotriacontanal	-	-	-
<b>Hidrocarburos esteroidales</b>	<b>5,34</b>	<b>3,06</b>	<b>0,93</b>
ergosta-3,5,7-trieno	0,21	0,23	0,08
ergosta-3,5-dieno	0,48	0,61	0,03
estigmastatetraeno	0,68	0,32	0,22
estigmasteno	0,33	0,19	0,04
estigmasta-3,5,7-trieno	3,41	1,47	0,43
estigmasta-3,5-dieno	0,23	0,24	0,13
<b>Esteroles/Triterpenoles</b>	<b>5,47</b>	<b>2,02</b>	<b>0,55</b>
campesterol	0,50	<0,01	<0,01
estigmasterol	0,04	<0,01	<0,01
sitosterol	1,49	0,25	0,05
estigmastanol	0,26	0,04	0,01
motiol	-	-	-
glutinol	-	-	0,19
β-amirina	2,98	1,57	0,15
α-amirina	0,21	0,15	0,15
<b>α-Tocoferol</b>	<b>0,33</b>	<b>0,21</b>	<b>0,01</b>
<b>Cetonas esteroidales/triterpenoidales</b>	<b>6,08</b>	<b>3,27</b>	<b>0,63</b>
estigmastan-3-ona	0,15	0,10	0,04
estigmasta-7,22-dien-3-ona	0,91	0,56	0,12
estigmasta-3,5-dien-7-ona	0,84	0,27	0,09
estigmast-4-en-3-ona	1,46	0,43	0,14
estigmastadienona (isómero)	0,78	0,36	0,18
estigmast-4-en-3,6-diona	0,08	0,01	0,02
estigmastano-3,6-diona	0,09	0,03	0,03
β-amirenona	1,60	1,21	0,04
α-amirenona	0,16	0,29	0,02
<b>Glicósidos esteroidales</b>	<b>1,10</b>	<b>0,41</b>	<b>0,21</b>
campesteril 3β-D-glucopiranosido	0,18	0,06	0,02
estigmasteril 3β-D-glucopiranosido	0,15	0,06	0,04
sitosteril 3β-D-glucopiranosido	0,77	0,29	0,15

(Cont.)

Compuestos	Pastas de lino		Pasta de kenaf
	kappa 28	kappa 6	kappa 6
<b>Ceras</b>	<b>213,00</b>	<b>11,40</b>	<b>3,21</b>
C <sub>40</sub>	0,55	0,16	-
C <sub>42</sub>	8,51	0,80	0,28
C <sub>44</sub>	67,60	4,37	0,85
C <sub>45</sub>	0,55	-	-
C <sub>46</sub>	109,10	4,63	1,16
C <sub>48</sub>	23,90	1,04	0,78
C <sub>50</sub>	1,85	0,39	0,14
C <sub>52</sub>	0,73	-	-
<b>Ésteres de esteroides/triterpenoides</b>	<b>0,09</b>	-	-
ésteres de sitosterol	0,03	-	-
ésteres de β-amirina	0,06	-	-
ésteres de glutinol	-	-	-

- No detectados.

El estudio de la composición de los lípidos presentes en las pastas reveló que las diferentes clases de lípidos presentes en las fibras tienen distintos comportamientos durante la cocción. Como se mencionó anteriormente, la principal diferencia de la composición lipídica de las pastas con respecto a las fibras radica en la cantidad de ceras. Este bajo contenido en ceras se debe a la mayor concentración de álcali y/o a la temperatura más elevada utilizada para obtener estas pastas, que da lugar a la hidrólisis de las ceras. La liberación de los alcoholes esterificados hace que aumente la cantidad de los alcoholes libres en las pastas con respecto a las fibras. También se observa cómo tras el tratamiento alcalino la cantidad de aldehídos disminuye notablemente en las pastas, siendo especialmente notable en el caso del lino, donde los aldehídos son muy abundantes. Esto puede ser debido a una oxidación de los aldehídos a ácidos, que son posteriormente disueltos por el álcali.

En general, los lípidos presentes en las fibras pueden ser clasificados en dos grupos atendiendo a su comportamiento en el medio acuoso, ácidos y compuestos neutros, incluyendo entre estos últimos ceras, alcoholes, alcanos, aldehídos, esteroides y triterpenoides. A un pH suficientemente alto (como el que existe en la cocción alcalina), los ácidos grasos se disocian y pueden solubilizarse formando jabones. Sin embargo, los compuestos neutros tienen muy baja solubilidad en agua. Entre éstos, las ceras, y especialmente algunos ésteres de esteroides y triterpenoides, son difíciles de hidrolizar completamente incluso en procesos alcalinos fuertes. Cuando no se hidrolizan completamente durante la cocción, como ocurre en la pasta de kappa 28, tienden a permanecer intactos en las pastas y pueden ser difíciles de eliminar incluso en el lavado y en las etapas de blanqueo (Ekman y

Holmbom, 2000). Del mismo modo, los esteroides y los triterpenoles libres no forman jabones bajo las condiciones de la cocción alcalina y por lo tanto, tienen tendencia a depositarse y están en el origen de la formación de los depósitos de “pitch” (del Río *et al.*, 1998a; del Río *et al.*, 2000; Ström, 2000). Otros derivados de esteroides tales como los glicósidos esteroidales, juegan también un papel importante en la formación de estos depósitos de “pitch” ya que parte de ellos sobrevive a la cocción y se encuentran intactos en las pastas (Gutiérrez y del Río, 2001), incluso en las que tienen números de kappa bajos, como se muestra en la Tabla 10. Esto se debe a que estos compuestos tienen puntos de fusión altos y baja solubilidad en agua, álcali y disolventes orgánicos. Debido a estas propiedades forman una especie de capa sobre la pasta que dificulta la penetración de los agentes de cocción y blanqueo impidiendo, por tanto, la eliminación de los lípidos durante la cocción y el blanqueo químico (Nilvebrant y Byström, 1995).

Por otra parte, los jabones de ácidos grasos actúan como agentes solubilizantes y facilitan la eliminación de las sustancias neutras solubles de las pastas. Sin embargo, el bajo contenido en ácidos grasos (sólo el 12% de los lípidos totales en el lino y el 28% en el kenaf) comparado con las sustancias neutras (88% y 72%, respectivamente) en estas fibras, hace que la cantidad de jabones de ácidos grasos formados durante la cocción no sean suficientes para arrastrar los compuestos menos polares. De hecho, la gran concentración de compuestos insaponificables con respecto a los saponificables, es la causa principal de los problemas de “pitch” en las pastas kraft de algunas maderas usadas en la industria de pasta y papel, como chopo y eucalipto (Swan, 1967; Allen *et al.*, 1988; Dunlop-Jones *et al.*, 1991; Chen *et al.*, 1995; Leone and Breuil, 1998; Gutiérrez *et al.*, 2001a,b,c). Por tanto, se ha sugerido la relación entre los compuestos saponificables e insaponificables como un índice mejor para predecir los problemas de “pitch” que el total de la cantidad de lípidos de la madera o fibra (Ekman y Holmbom, 2000; Gutiérrez y del Río, 2003a, b).

En conclusión, este estudio demuestra cómo algunos de los compuestos lipofílicos presentes en las fibras sobreviven a la cocción y están presentes en la pasta sin blanquear, mientras que las ceras (lípidos muy abundantes en las fibras de lino y kenaf) pueden ser hidrolizadas eficientemente durante cocciones alcalinas con gran carga de álcali y/o temperatura. La selección final de las condiciones de cocción para minimizar el contenido de lípidos en las pastas debe de ser un compromiso entre el óptimo de eliminación de lípidos y la mínima disminución del rendimiento, así como la conservación de las propiedades de la pasta. El conocimiento de los cambios estructurales y el comportamiento de los diferentes lípidos durante la cocción serán útiles para el mejor aprovechamiento de estas fibras en la industria.

### 4.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA LIGNINA

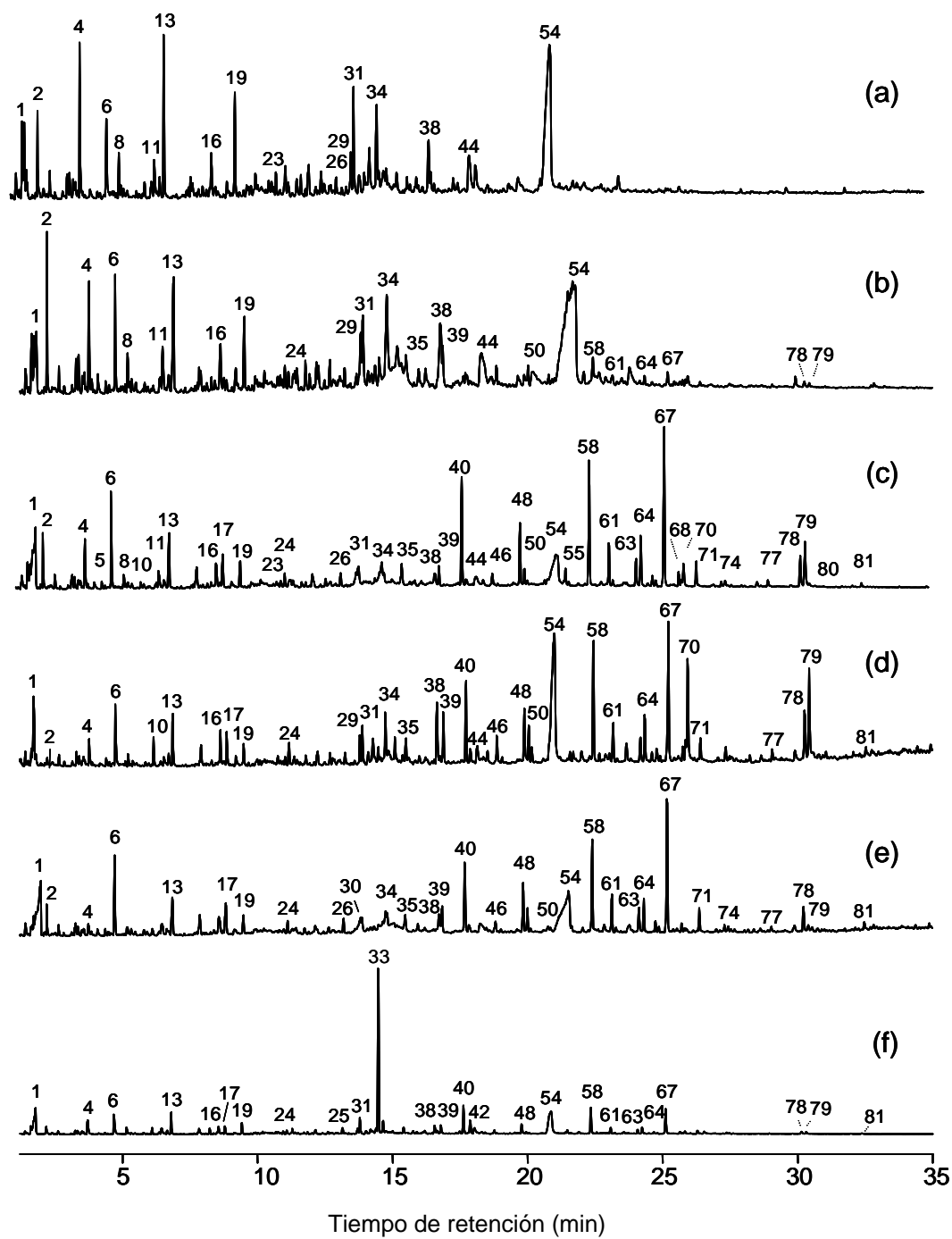
El análisis de la composición química de la lignina de las fibras y su modificación estructural durante la cocción alcalina se llevó a cabo mediante pirólisis analítica (en ausencia y en presencia de TMAH) acoplada a GC/MS. La pirólisis analítica es un método degradativo de gran interés para el estudio de las sustancias orgánicas macromoleculares y da lugar a una rotura térmica del polímero de lignina y los compuestos monoméricos liberados se analizan posteriormente por GC/MS. Mediante esta técnica no sólo se rompen los enlaces éster y éter sino también distintas uniones C-C. Se lleva a cabo en condiciones de atmósfera inerte, a elevadas temperaturas (500°-700°C) y durante un corto espacio de tiempo (4-10 s) (Chen, 1992). Las técnicas pirolíticas presentan diversas ventajas sobre otros métodos degradativos en el estudio de las macromoléculas. Junto con su rapidez, el análisis por Py-GC/MS se caracteriza por la pequeña cantidad de muestra requerida y permite el análisis de la lignina “in situ”, frente a los métodos clásicos que requieren su extracción de la madera o la fibra. Se han publicado numerosos estudios sobre pirólisis de materiales lignocelulósicos incluyendo madera (Pouwels *et al.*, 1987; Saiz-Jiménez *et al.*, 1987; Elder, 1991; Yokoi *et al.*, 1999; del Río *et al.*, 2001a, 2002, 2005), fibras de plantas no madereras (Serés-Aspax *et al.*, 1985; Niemann *et al.*, 1992; Morrison y Archibald, 1998; Kuroda *et al.*, 2001, 2002a; Gutiérrez *et al.*, 2004) y pasta de papel (Kleen y Gellerstedt, 1991; Galleti *et al.*, 1997; del Río *et al.*, 2001b; Choi *et al.*, 2002; Gutiérrez *et al.*, 2004) así como sus constituyentes químicos principales, hidratos de carbono (Shulten y Gortz, 1978; Pouwels *et al.*, 1989) y lignina (Martín *et al.*, 1979; Camarero *et al.*, 1999).

#### 4.3.1. Composición química de la lignina de las fibras

##### 4.3.1.1. Análisis por Py-GC/MS

Con el fin de estudiar la composición química de la lignina de estas fibras se llevó a cabo la pirólisis analítica de las mismas y los productos originados a partir de las unidades H, G y S se analizaron por GC/MS. Los pirogramas de las distintas fibras seleccionadas para este estudio se muestran en la Figura 82. La relación de los compuestos liberados por Py-GC/MS en las distintas muestras y su abundancia relativa se detallan en la Tabla 11.





**Figura 82.** Pirogramas de las fibras de lino (a), cáñamo (b), kenaf (c), yute (d), sisal (e) y abacá (f). Los números de los picos corresponden a los compuestos listados en la Tabla 11.

**Tabla 11.** Compuestos liberados por Py-GC/MS de las fibras (abundancias molares relativas).

N°	Compuestos	Origen	MW	Lino	Cáñamo	Kenaf	Yute	Sisal	Abacá
1	hidroxiacetaldehído	PS	60	5,3	8,1	12,2	7,6	25,6	15,1
2	3-hidroxiopropanal	PS	74	3,1	4,2	1,1	0,3	1,8	1,4
3	(3H) furan-2-ona	PS	84	0,5	0,5	2,8	0,1	0,3	0,7
4	2,3-butanodiona (T)	PS	80	8,1	4,1	0,2	1,6	1,4	3,1
5	(2H) furan-3-ona	PS	84	0,7	0,9	0,3	0,5	0,7	0,5
6	2-furaldehído	PS	96	3,8	3,0	3,4	3,4	2,4	3,9
7	2-metilfurano	PS	82	0,7	0,5	0,3	0,3	0,1	0,3
8	2-hidroximetilfurano	PS	98	2,5	1,5	1,0	0,7	0,8	1,3
9	ciclopent-1-ene-3,4-diona	PS	96	0,5	0,4	0,3	0,2	0,4	0,3
10	4-metiltetrahidrofuran-3-ona	PS	100	0,7	0,2	0,5	1,3	0,6	0,9
11	(5H) furan-2-ona	PS	84	2,6	2,3	1,2	0,8	1,4	1,4
12	acetilfurano	PS	110	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
13	2,3-dihidro-5-metilfuran-2-ona	PS	98	7,1	6,0	3,6	2,9	3,8	3,6
14	5-metil-2-furfuraldehído	PS	110	0,8	1,0	0,2	0,4	0,4	0,3
15	fenol	LH	94	0,6	0,4	0,2	0,2	0,2	0,9
16	5,6-dihidropiran-2,5-diona	PS	98	3,2	2,4	1,9	2,0	2,6	1,7
17	4-hidroxi-5,6-dihidro-(2H)-piran-2-ona	PS	114	0,4	0,5	1,4	1,7	2,8	1,1
18	3-hidroxi-2-metil-2-ciclopenten-1-ona	PS	112	1,0	0,9	0,5	0,8	0,8	0,4
19	2-hidroxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona	PS	112	5,0	2,7	1,9	1,2	1,3	1,8
20	2,3-dimetilciclopenten-1-ona	PS	110	0,4	0,2	0,1	0,1	<0,1	0,1
21	2-metilfenol	LH	108	<0,1	<0,1	<0,1	-	-	-
22	4-metilfenol	LH	108	0,7	0,4	0,3	0,2	0,1	0,4
23	éster metílico del ácido 2-furóico	PS	126	0,9	0,8	0,4	0,3	0,4	0,3
24	guayacol	LG	124	0,2	0,5	0,9	1,1	0,7	0,5
25	4-etilfenol	LH	122	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,7
26	3,4-dihidroxibenzaldehído	L	138	0,5	0,4	0,6	0,3	0,7	0,3
27	3,5-dihidroxi-2-metilpiran-4-ona	PS	142	0,4	0,3	0,2	0,2	<0,1	<0,1
28	3-metilguayacol	LG	138	-	-	<0,1	-	-	-
29	5-hidroximetil-2-tetrahidro-furaldehído-3-ona	PS	144	1,9	1,5	0,6	1,1	0,1	0,7
30	4-metilguayacol	LG	138	<0,1	0,3	0,2	0,6	0,5	0,1
31	catecol	L	110	5,5	3,9	2,4	1,6	1,5	2,3
32	5-hidroximetil-2-furaldehído (isómero)	PS	126	1,5	0,5	0,1	0,9	<0,1	0,7
33	4-vinilfenol	LH	120	<0,1	<0,1	<0,1	0,2	<0,1	23,0
34	5-hidroximetil-2-furaldehído	PS	126	4,4	5,1	1,4	2,2	0,5	1,6
35	3-metoxicatecol	L	140	-	0,9	1,5	0,9	1,2	0,7
36	4-etilguayacol	LG	152	0,2	0,2	0,3	0,3	0,5	0,2
37	4-metilcatecol	L	124	0,5	0,5	0,2	0,2	0,2	0,1
38	1,4-didesoxi-D-glicerohex-1-enopirenona-3-ulosa	PS	144	2,1	3,4	0,9	3,0	0,8	1,1

(Cont.)

4. Resultados y discusión

Nº	Compuestos	Origen	MW	Lino	Cáñamo	Kenaf	Yute	Sisal	Abacá
39	4-vinilguayacol	LG	150	0,2	1,3	1,1	2,0	1,3	0,9
40	siringol	LS	154	<0,1	0,2	6,2	3,4	4,0	3,3
41	eugenol	LG	164	-	<0,1	0,5	0,7	0,5	<0,1
42	4-hidroxibenzaldehído	LH	122	0,1	<0,1	<0,1	0,2	<0,1	1,9
43	4-propilguayacol	LG	166	-	-	<0,1	-	-	-
44	pirogalol	L	126	4,1	4,8	2,1	1,2	1,7	1,9
45	1,6-anhidrogallactopiranososa	PS (h)	162	1,2	0,3	-	<0,1	-	-
46	vainillina	LG	152	-	0,6	0,6	1,3	0,8	0,3
47	cis-isoeugenol	LG	164	-	<0,1	0,1	0,1	0,1	-
48	4-metilsiringol	LS	168	-	0,1	2,5	2,1	2,3	0,9
49	4-hidroxiacetofenona	LH	136	-	-	-	-	-	-
50	trans-isoeugenol	LG	164	0,1	0,4	0,8	1,3	1,0	0,1
51	homovainillina	LG	166	-	0,2	0,3	0,7	0,2	0,1
52	acetoguaayacona	LG	166	-	-	0,3	-	-	-
53	1,6-anhidromanopiranososa	PS (h)	162	0,8	0,9	-	<0,1	-	-
54	levoglucosano	PS	162	26,5	28,7	10,0	19,6	11,3	9,6
55	4-etilsiringol	LS	182	-	0,5	0,9	0,2	1,9	0,3
56	guayacilacetona	LG	180	-	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1
57	1,6-anhidro-β-D-glucofuranosa	PS	162	0,3	0,4	0,3	0,7	0,3	0,3
58	4-vinilsiringol	LS	180	<0,1	0,6	6,4	4,3	4,2	2,5
59	propiovainillona	LG	180	-	-	-	-	-	-
60	guayacil vinil cetona	LG	178	-	0,2	0,1	0,4	0,5	<0,1
61	4-alilsiringol	LS	194	-	0,3	1,7	1,3	1,6	0,6
62	4-propilsiringol	LS	196	-	<0,1	0,3	0,1	0,2	0,1
63	cis-4-propenilsiringol	LS	194	-	<0,1	1,4	1,0	1,0	0,4
64	siringaldehído	LS	182	<0,1	0,2	2,4	1,7	1,4	0,7
65	alcohol cis-coniferílico	LG	180	-	<0,1	0,3	0,4	-	<0,1
66	4-propinesiringol	LS	192	-	<0,1	0,4	0,6	0,5	0,2
67	trans-4-propenilsiringol	LS	194	0,1	0,4	7,5	5,4	5,9	2,4
68	acetosiringona	LS	196	<0,1	0,1	0,7	0,4	0,3	0,2
69	trans-coniferaldehído	LG	178	0,1	0,1	0,3	0,5	0,1	0,1
70	alcohol trans-coniferílico	LG	180	0,1	0,3	1,7	3,7	<0,1	0,3
71	siringilacetona	LS	210	<0,1	0,1	1,1	0,6	0,8	0,3
72	ácido p-cumárico	LH	164	-	-	-	-	-	0,4
73	acetato cis-coniferílico	LG	222	-	-	<0,1	0,1	0,1	<0,1
74	propiosiringona	LS	210	-	<0,1	0,3	0,1	0,2	0,1
75	alcohol dihidrosinapílico	LS	212	-	<0,1	0,4	0,6	0,5	<0,1
76	acetato trans-coniferílico	LG	222	-	-	<0,1	0,1	0,4	0,1
77	alcohol cis-sinapílico	LS	210	-	0,1	0,5	0,4	0,2	<0,1
78	trans-sinapaldehído	LS	208	0,1	0,1	1,9	1,8	1,1	0,2
79	alcohol trans-sinapílico	LS	210	0,1	0,1	3,7	3,1	0,3	0,2
80	acetato cis-sinapílico	LS	252	-	-	<0,1	0,1	<0,1	<0,1
81	acetato trans-sinapílico	LS	252	-	-	0,1	0,3	0,2	<0,1

- No detectados; PS: Polisacáridos; PS (h): Hemicelulosas; LH: Lignina tipo H; LG: Lignina tipo G; LS: Lignina tipo S; L: Lignina.

Los compuestos liberados tras la pirólisis de las fibras provienen de los carbohidratos (celulosa y hemicelulosa) y de la lignina. Los principales productos de pirólisis derivados de carbohidratos fueron hidroxiacetaldehído (1), 3-hidroxiopropanal (2), 2,3-butanodiona (4), 2-furaldehído (6), 2,3-dihidro-5-metilfuran-2-ona (13), 2-hidroxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona (19), 1,4-didesoxi-D-glicerohex-1-enopiranos-3-ulosa (38) y levoglucosano (54). Los pirogramas también mostraron compuestos fenólicos derivados de las unidades de lignina de tipo H, G y S, así como de ácidos *p*-hidroxicinámicos (*p*-cumárico y ferúlico). Mediante pirólisis analítica no es posible realizar un análisis separado de la lignina y de los ácidos cinámicos, ya que estos últimos dan lugar al mismo tipo de fragmentos que la lignina debido a la descarboxilación de los ácidos que tiene lugar durante la pirólisis (del Río *et al.*, 1996).

Entre los compuestos fenólicos se identificaron fenol (15), guayacol (24), siringol (40), y sus derivados 4-metil (22, 30, 48), 4-etil (25, 36, 55), 4-vinil (33, 39, 58), 4-alil (41, 61) y 4-propenil (47, 50, 63, 67). Por otro lado, también se identificaron compuestos más oxidados como vainillina (46), siringaldehído (64), acetosiringona (68), coniferaldehído (69), siringilacetona (71) y sinapaldehído (78). También se identificaron los alcoholes coniferílicos (65, 70) y sinapílicos (77, 79), así como sus acetatos (73, 76 y 80, 81, respectivamente). La presencia e identificación de los acetatos de los alcoholes coniferílicos y sinapílicos se describe en detalle en el apartado siguiente.

Los pirogramas de las diferentes fibras mostraron grandes diferencias entre sí (Figura 82). Las fibras de lino y cáñamo liberaron tras la pirólisis predominantemente compuestos derivados de carbohidratos, incluyendo grandes cantidades de levoglucosano (54) y cantidades menores de derivados fenólicos procedentes de los compuestos fenilpropano (lignina y ácidos *p*-hidroxicinámicos), obteniéndose una relación entre los compuestos fenólicos y los derivados de carbohidratos de 0,2 (Tabla 12). Por otra parte, las fibras de kenaf, yute, sisal y abacá liberaron cantidades mayores de compuestos fenólicos procedentes de lignina (y ácidos *p*-hidroxicinámicos), mostrando una relación de compuestos fenólicos frente a derivados de carbohidrato de 0,6-1,1 (Tabla 12). Estos resultados concuerdan con los contenidos de ligninas obtenidos por el método Klason (Tabla 2), que indican un menor contenido en lignina para las fibras de lino y cáñamo, con respecto a las de kenaf, yute, sisal y abacá.

También se observaron grandes diferencias en las abundancias de las diferentes unidades fenólicas (H, G y S) entre las diferentes muestras (Tabla 12). Las ligninas de las fibras de lino y cáñamo mostraron una mayor proporción de compuestos fenólicos con estructura de tipo G (relaciones S/G de 0,3 y 0,6, respectivamente), mientras que kenaf, yute, sisal y abacá liberaron predominantemente compuestos

fenólicos con estructura de tipo S (relaciones S/G de 5,1, 2,1, 4,0 y 4,5, respectivamente) típico de frondosas (Tabla 12) (del Río *et al.*, 2001c; Meier y Faix, 1992). En el caso del kenaf, la alta relación S/G está de acuerdo con los valores publicados anteriormente (Ralph, 1996; Morrison *et al.*, 1999a; Nishimura *et al.*, 2002; Kuroda *et al.*, 2002a), aunque algunos autores (Neto *et al.*, 1996; Seca *et al.*, 1998) han publicado unas proporciones de unidades G inusualmente altas obtenidas tras oxidación con permanganato de las fibras de kenaf.

**Tabla 12.** Composición H, G y S de los compuestos fenólicos (lignina y ácidos *p*-hidroxicinámicos) y las relaciones entre los diferentes compuestos por Py-GC/MS de las fibras.

Compuestos Py-GC/MS	Fibras					
	Lino	Cáñamo	Kenaf	Yute	Sisal	Abacá
%H <sup>a</sup>	57	13	1	2	1	64
%G <sup>b</sup>	33	53	16	32	20	6
%S <sup>c</sup>	11	34	82	66	79	30
S/G	0,3	0,6	5,1	2,1	4,0	4,5
Ph-C <sub>0-2</sub> /Ph-C <sub>3</sub> <sup>d</sup>	3,9	2,5	1,0	0,9	1,3	7,0
Lignina/carbohidrato <sup>e</sup>	0,2	0,2	1,1	0,8	0,6	0,9

Abreviaturas: H, compuestos *p*-hidroxifenilo; G, compuestos guayacilo; S, compuestos siringilo; Ph-C<sub>0</sub>, Ph-C<sub>1</sub>, Ph-C<sub>2</sub>; Ph-C<sub>3</sub>, compuestos fenólicos con sustituciones en la cadena lateral de ninguno, uno, dos y tres átomos de carbono.

<sup>a</sup> Picos 15, 21, 22, 25, 33, 42, 49 y 72 de la Tabla 11; <sup>b</sup> picos 24, 28, 30, 36, 39, 41, 43, 46, 47, 50, 51, 52, 56, 59, 60, 65, 69, 70, 73 y 76 de la Tabla 11; <sup>c</sup> picos 40, 48, 55, 58, 61, 62, 63, 64, 66, 67, 68, 71, 74, 75, 77, 78, 79, 80 y 81 de la Tabla 11; <sup>d</sup> Ph-C<sub>0</sub>, picos 15, 24 y 40; PhC<sub>1</sub>, picos 22, 30, 42, 46, 48 y 64; Ph-C<sub>2</sub>, picos 25, 33, 36, 39, 49, 51, 55, 58 y 68; Ph-C<sub>3</sub>, picos 41, 43, 47, 50, 56, 59-63, 65-67, 69-71, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80 y 81 de la Tabla 11; <sup>e</sup> picos H, G y S con respecto a los picos de carbohidratos 1-10, 13, 14, 16-20, 23, 27, 29, 32, 34, 38, 45, 53, 54 y 57 de la Tabla 11.

En resumen, el análisis por Py-GC/MS indica que las fibras de lino y cáñamo tienen características muy similares, con bajas relaciones de compuestos fenólicos frente a derivados de carbohidrato y baja relación S/G, mientras que las fibras de kenaf, yute, sisal y abacá muestran relaciones altas de compuestos fenólicos frente a derivados de carbohidrato y una alta relación S/G.

Es conocido que la eficacia del proceso de cocción alcalina para la obtención de pasta de papel depende en gran medida de las características de la materia prima, tales como el contenido y tipo de lignina. En general, la eficacia de la cocción alcalina es directamente proporcional a la cantidad de unidades S de la lignina respecto a las unidades G (Fergus y Goring, 1969; Chang y Sarkanen, 1973; González-Vila *et al.*, 1999; del Río *et al.*, 2005). La lignina de tipo S es más fácil

de oxidar y eliminar durante la cocción que la lignina de tipo G, debido a su menor grado de condensación y a su menor potencial redox. La diferencia en el grado de condensación se debe a la presencia de un solo grupo metoxilo en posición C<sub>3</sub> del anillo aromático de las unidades G frente a dos grupos metoxilos en C<sub>3</sub> y C<sub>5</sub> de las unidades S. Como consecuencia, las unidades S se encuentran preferentemente unidas por enlaces éter en el C<sub>4</sub>, mientras que un cierto porcentaje de unidades G presentan enlaces C<sub>5</sub>-C<sub>5</sub> (además, de los correspondientes enlaces éter en C<sub>4</sub>). Al presentar un mayor promedio de enlaces por unidad y ser los enlaces C-C más difíciles de atacar que los enlaces éter, la lignina G resulta más resistente al ataque químico en general. Estudios recientes muestran además cómo la composición de lignina es uno de los parámetros que influyen en el rendimiento de las pastas, estando relacionado una alta relación S/G con un alto rendimiento en pastas (del Río *et al.*, 2005).

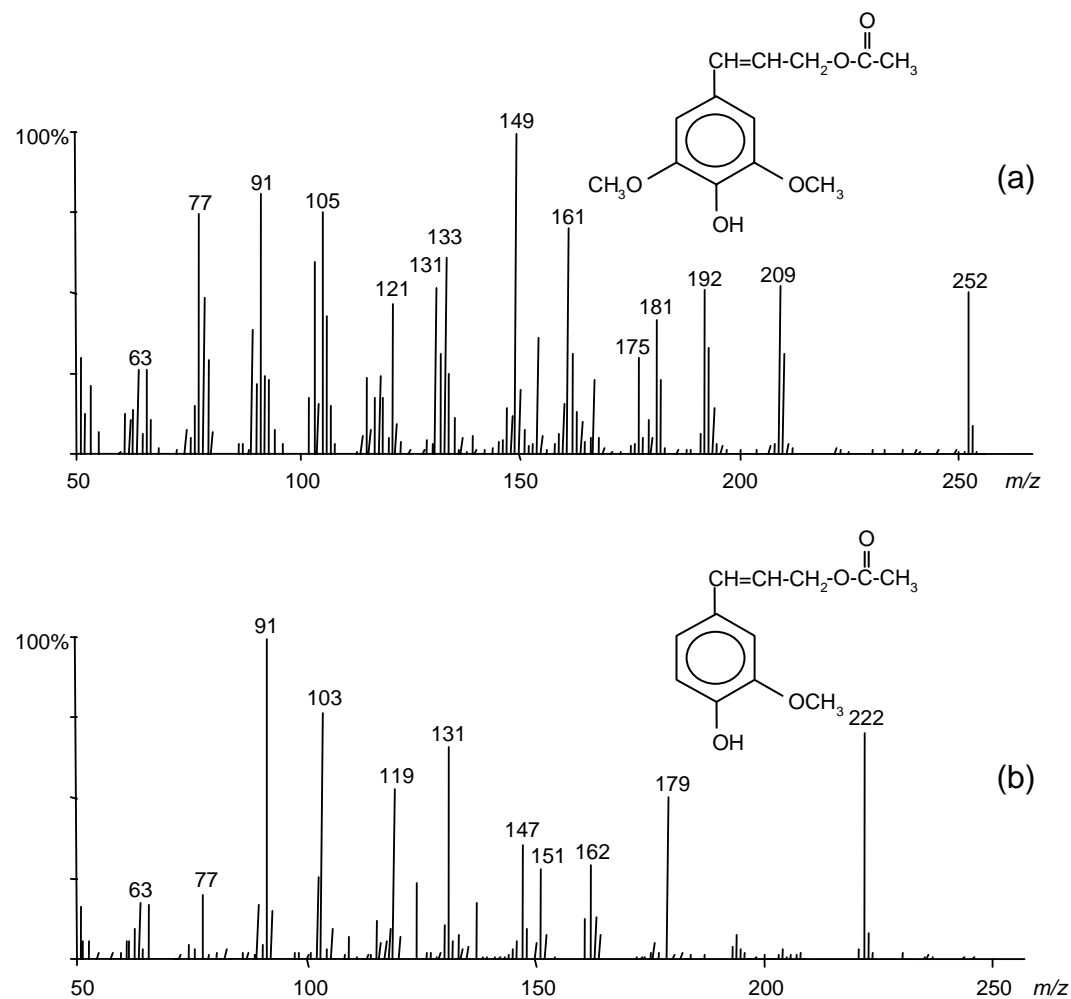
Por lo tanto, las altas relaciones S/G de kenaf, yute, sisal y abacá hacen que estas fibras sean más fáciles de deslignificar debido al menor grado de condensación de la lignina, a pesar de tener mayores contenidos en lignina. Por la misma razón, las fibras de lino y cáñamo son más difíciles de deslignificar debido a sus bajas relaciones S/G, a pesar de tener menores contenidos en lignina.

Por otro lado, la pirólisis de las fibras liberó también compuestos considerados generalmente como derivados de moléculas de lignina H tales como fenol (15), 4-metilfenol (22), 4-vinilfenol (33), 4-etilfenol (25) y *p*-hidroxibenzaldehído (42). De ellos, se observó una gran cantidad de 4-vinilfenol (33) en el abacá, siendo el compuesto más importante liberado por Py-GC/MS de esta fibra y estando casi ausente en el resto de las muestras. No obstante, la mayoría de 4-vinilfenol presente en el abacá podría proceder del ácido *p*-cumárico, el cual, bajo las condiciones de pirólisis, se descarboxila (del Río *et al.*, 1996). La presencia del ácido *p*-cumárico se confirmó mediante Py/TMAH y se obtuvieron grandes cantidades de ácido *p*-cumárico en la fibra de abacá, como se describe más adelante. Por otra parte, el bajo contenido de unidades H liberado después de la pirólisis de kenaf está de acuerdo con los datos publicados anteriormente (Nishimura *et al.*, 2002; Kuroda *et al.*, 2002a), aunque algunos autores (Neto *et al.*, 1996) han publicado un contenido de unidades H inusualmente alto comparado con otras ligninas de dicotiledóneas sugiriendo que el alto contenido de unidades H podría ser debido a la presencia de estructuras del tipo del ácido *p*-cumárico. Sin embargo, como se menciona más adelante, el análisis por Py/TMAH indicó la ausencia de ácido *p*-cumárico en las fibras de kenaf, lo que está de acuerdo con los datos de otros autores (Seca *et al.*, 1998; Kuroda *et al.*, 2002a).

Entre los compuestos liberados en la Py-GC/MS de las fibras, es importante destacar la presencia de los acetatos del alcohol sinapílico y del alcohol

coniferílico, acetilados en el carbono  $\gamma$  de la cadena lateral, en las fibras de kenaf, yute, sisal y abacá. La presencia de estos compuestos indica que la lignina de estas fibras está, al menos parcialmente, acetilada. Ésta es la primera vez que este tipo de compuestos se identifican mediante pirólisis de materiales lignocelulósicos. La posibilidad de que estos compuestos pudieran ser artefactos producidos durante la pirólisis se descartó ya que no se utilizó ningún agente acetilante en el análisis y las fibras no se sometieron a ningún tratamiento antes del análisis.

Los espectros de masas de los acetatos de los alcoholes sinapílico y coniferílico se muestran en la Figura 83.



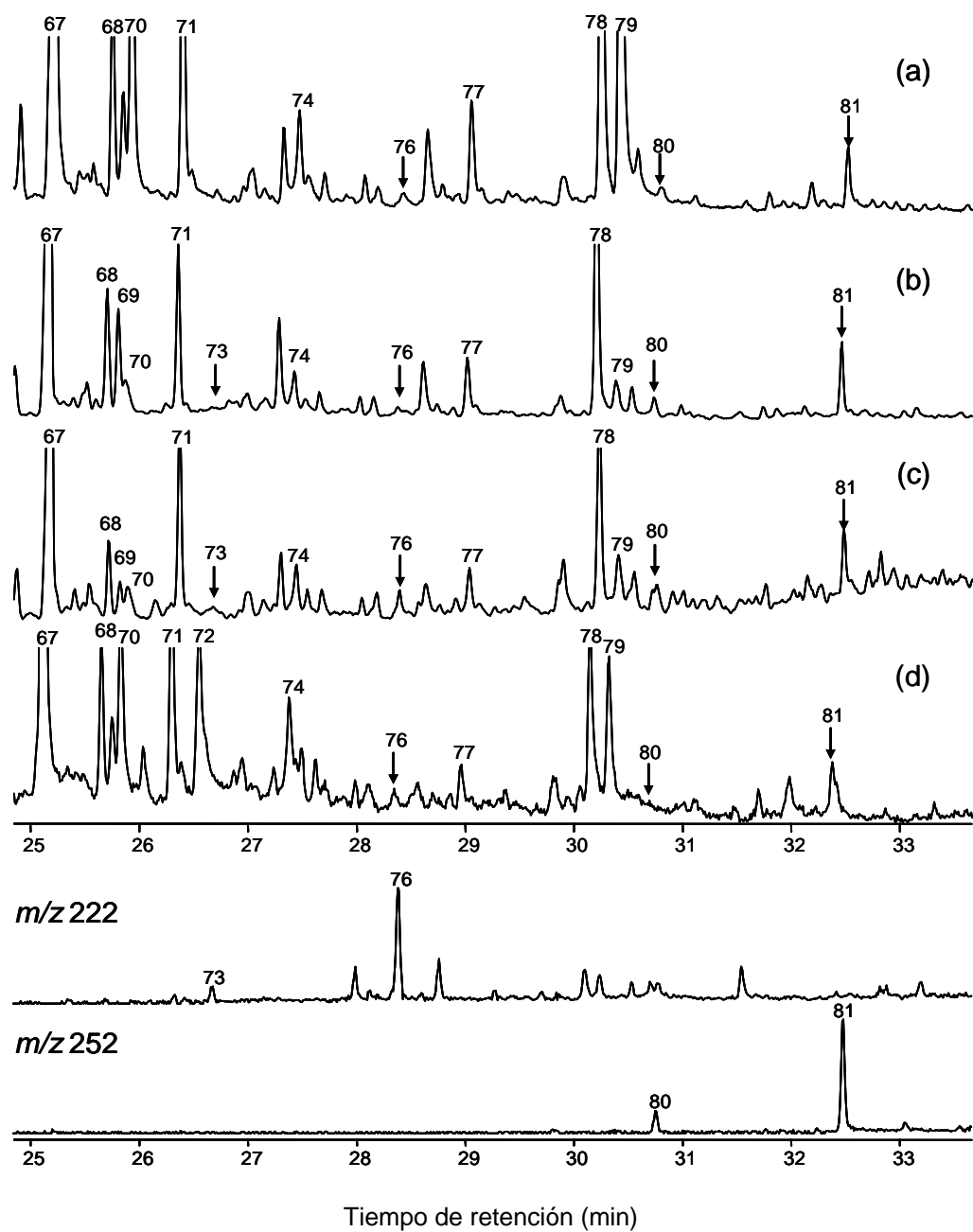
**Figura 83.** Espectros de masas de los acetatos del alcohol sinapílico (a) y del alcohol coniferílico (b).

El espectro de masas del acetato del alcohol sinapílico (Figura 83a) presenta un ión molecular a  $m/z$  252, siendo los fragmentos procedentes de la pérdida del grupo acetilo  $[M - CH_3CO]^+$  y  $[M - CH_3COOH]^+$  a  $m/z$  243 y 192, respectivamente. Pérdidas sucesivas de los dos grupos metoxilos en el anillo aromático dan lugar a los fragmentos a  $m/z$  161 y 131. El resto del espectro es similar al del diacetato sinapílico después de la pérdida de los dos grupos acetilo (Lu y Ralph, 1997). Por su parte, el espectro de masas del acetato del alcohol coniferílico (Figura 83b) presenta un ión molecular a  $m/z$  222 y fragmentos procedentes de la pérdida del grupo acetilo  $[M - CH_3CO]^+$  y  $[M - CH_3COOH]^+$  a  $m/z$  179 y 162, respectivamente. La pérdida del grupo metoxilo del anillo aromático da lugar al fragmento a  $m/z$  131. El resto de la fragmentación espectral es similar al del diacetato coniferílico después de la pérdida de los dos grupos acetilo (Lu y Ralph, 1997). Los acetatos del alcohol *p*-hidroxicinámico (H) sólo se pudieron identificar tentativamente debido a su baja abundancia. Es importante destacar que los acetatos del alcohol sinapílico y del alcohol coniferílico se detectaron únicamente en las fibras con elevada relación S/G, como kenaf, yute, sisal y abacá, mientras están ausentes en las fibras de lino y cáñamo, que tienen relaciones S/G bajas.

En la Figura 84 se muestra la presencia de los acetatos del alcohol coniferílico (73 y 76) y los acetatos del alcohol sinapílico (80 y 81) en los pirogramas de las fibras de kenaf, yute, sisal y abacá. En las cuatro fibras, el isómero *trans* predomina sobre el *cis*, como ocurre con los correspondientes alcoholes no acetilados. Por otra parte los acetatos sinapílicos predominan sobre los acetatos coniferílicos.

La presencia de unidades acetiladas en la lignina de kenaf ya había sido evidenciada por NMR (Ralph, 1996) y DFRC, un procedimiento degradativo para el análisis de la lignina que consiste en una derivatización seguida de rotura reductiva y que rompe los enlaces éter  $\alpha$  y  $\beta$ , manteniendo los ésteres  $\gamma$  intactos, lo que le hace apropiado para el estudio de la lignina acetilada (Lu y Ralph, 1997; Ralph y Lu, 1998). Sin embargo, ésta es la primera vez que estas unidades acetiladas se describen en yute, sisal y abacá. Por otra parte, también se demostró que en el kenaf el acetato sinapílico actúa como un precursor de la lignina y que participa en las reacciones de lignificación (Ralph y Lu, 1998, Lu y Ralph, 2002). Por tanto, es posible que en las fibras de yute, sisal y abacá, el acetato sinapílico sea también un monómero de lignina, como ocurre en el caso del kenaf. Si la presencia de unidades de lignina acetiladas es debida a la participación de los acetatos sinapílicos y coniferílicos en la biosíntesis como verdaderos precursores, como se sugiere para el kenaf (Lu y Ralph, 2002), tanto el concepto tradicional de la biosíntesis como los modelos actuales de la estructura de lignina deberían de ser reconsiderados. Esto indica, de acuerdo con otros autores (Sederoff *et al.*, 1999), que el proceso de lignificación es muy flexible y que la definición de lignina debería incluir no sólo a los tres alcoholes hidroxicinámicos tradicionales.





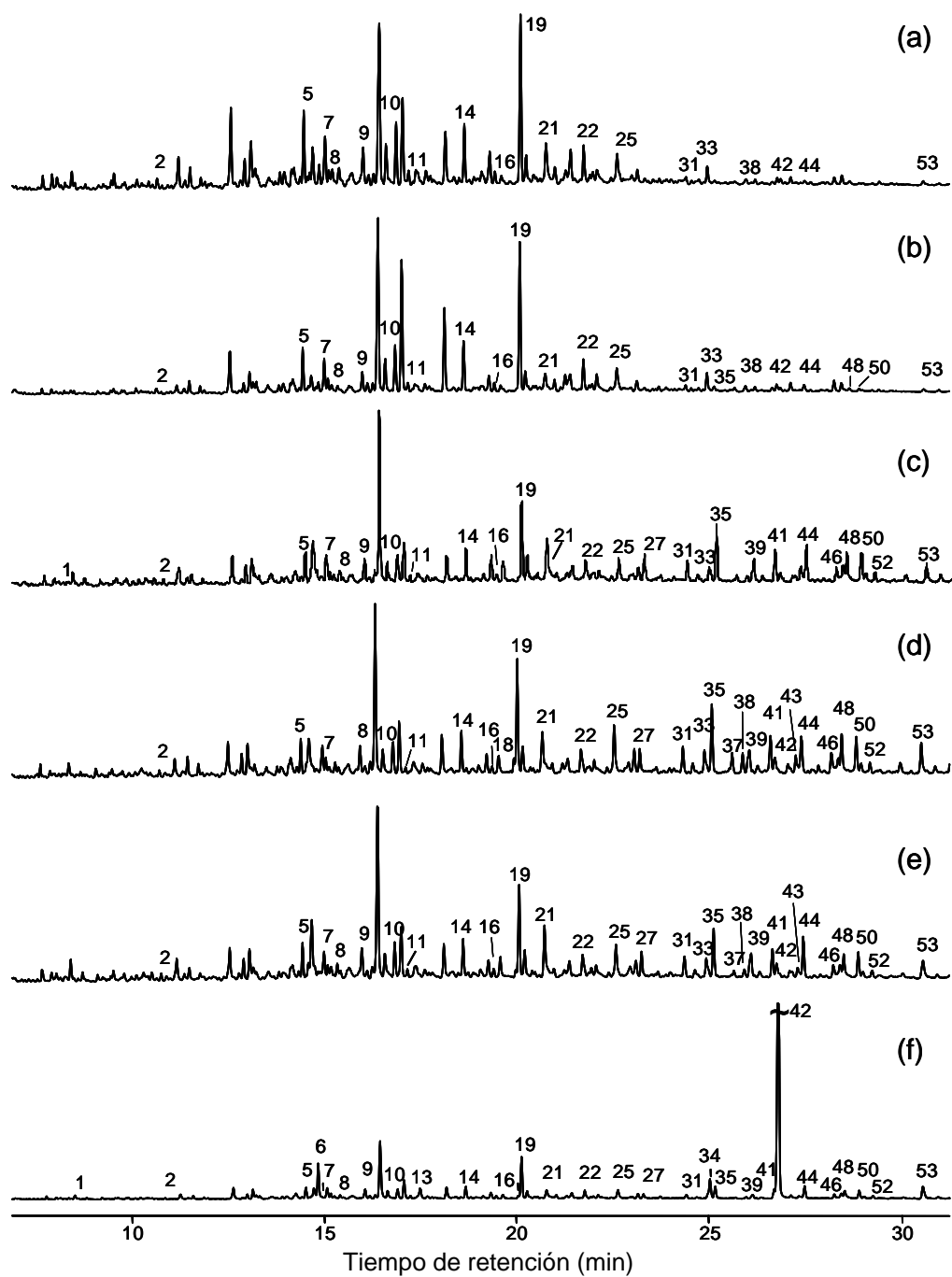
**Figura 84.** Pirogramas parciales de las fibras de kenaf (a), yute (b), sisal (c) y abacá (d) que muestran los acetatos de los alcoholes *p*-hidroxicinámicos (señalados mediante flechas). En la parte inferior se muestran los pirogramas reconstruidos del ión a  $m/z$  222 (acetato coniferílico) y a  $m/z$  252 (acetato sinapílico) de la muestra de sisal. La numeración corresponde a los compuestos listados en la Tabla 11.

Es interesante destacar la escasez de estudios sobre unidades acetiladas en la lignina, que puede deberse a los procedimientos analíticos usados para el aislamiento y caracterización de la lignina. Los acetatos originalmente presentes en la lignina pueden haber sido hidrolizados y eliminados con los métodos de extracción tradicionales (como la extracción alcalina a menudo aplicada en ligninas de fibras no madereras) y los procedimientos degradativos usados para su caracterización (como oxidación con nitrobenzén, oxidación con óxido de cobre, tioacidólisis). Por otra parte, en los análisis espectroscópicos (como NMR) se recurre a una acetilación previa de la lignina para aumentar la solubilidad, lo que hace indistinguible las unidades acetiladas nativas.

#### 4.3.1.2. Análisis por Py/TMAH

La pirólisis en presencia de TMAH (también denominada termoquimiólisis o pirólisis-metilación) se ha usado para la caracterización de diferentes biopolímeros y geomacromoléculas incluyendo lignina (Martín *et al.*, 1995; del Ríó *et al.*, 1996; Filley *et al.*, 1999; Chefetz *et al.*, 2000; Kuroda *et al.*, 2002b; Vane, 2003). Las ventajas de este método están basadas en el doble efecto del TMAH, por un lado la despolimerización alcalina de la lignina y por otro la metilación de los productos liberados mejorando su estabilidad a altas temperaturas, evitando la descarboxilación de los ácidos carboxílicos y produciendo los ésteres metílicos de los ácidos carboxílicos y los éteres metílicos de grupos hidroxilos. Mediante la pirólisis analítica convencional no es posible un análisis separado de la lignina y de los ácidos hidroxicinámicos como se ha mencionado anteriormente. La presencia de estos compuestos, que tienen también una estructura de fenilpropano, constituye una complicación para el análisis de la lignina por pirólisis debido a que se obtienen productos similares a los provenientes de la lignina. Estos ácidos hidroxicinámicos son abundantes en plantas herbáceas donde forman enlaces entre la lignina y los polisacáridos (Scalbert *et al.*, 1985; Lam *et al.*, 1992; Grabber *et al.*, 2000; Bunzel *et al.*, 2001; Lam *et al.*, 2001; Sun *et al.*, 2001, 2002). Este problema puede solucionarse mediante la pirólisis en presencia de TMAH (del Ríó *et al.*, 1996). Este método permite el análisis de los ácidos hidroxicinámicos intactos (como derivados metilados) diferenciándolos de los productos de degradación de la lignina. Por otro lado, la Py/TMAH induce la rotura de enlaces éter  $\beta$ -O-4 en la lignina liberando una serie de productos, algunos de ellos similares a los obtenidos por la técnica de oxidación alcalina con óxido de cobre (Martín *et al.*, 1995; del Ríó *et al.*, 1998b; Challinor, 1995; Clifford *et al.*, 1995).

Los resultados de la Py/TMAH de las fibras se muestran en la Figura 85. En la Tabla 13 se detalla la identidad y la abundancia relativa de los principales compuestos identificados en las fibras por Py/TMAH.



**Figura 85.** Pirogramas de la Py/TMAH de las fibras de lino (a), cáñamo (b), kenaf (c), yute (d), sisal (e) y abacá (f). Los números de los picos corresponden a los que aparecen en la Tabla 13. Los picos no numerados son derivados de carbohidratos como se explica en el texto. La escala vertical en (f) ha sido aumentada para permitir ver mejor los picos más pequeños.

**Tabla 13.** Compuestos liberados por Py/TMAH de las fibras (abundancias molares relativas).

Nº	Compuestos	Origen	MW	Lino	Cáñamo	Kenaf	Yute	Sisal	Abacá
1	metoxibenceno		108	1,0	0,6	0,4	0,3	1,1	0,1
2	2-metoxitolueno		122	0,2	0,2	<0,1	<0,1	0,1	-
3	4-metoxitolueno		122	0,2	0,6	0,4	0,4	0,5	0,2
4	1-etil-4-metoxibenceno		136	-	-	-	-	-	-
5	1,2-dimetoxibenceno	LG	138	13,2	10,8	5,1	4,6	5,5	1,7
6	4-metoxiestireno		134	<0,1	<0,1	1,0	0,4	0,5	6,2
7	1,4-dimetoxibenceno		138	9,4	8,6	5,4	3,8	4,3	1,7
8	2,3-dimetoxitolueno		152	1,9	1,1	0,9	0,5	1,1	0,2
9	3-metoxibenzaldehído		136	7,2	5,0	4,8	3,8	5,0	1,7
10	3,4-dimetoxitolueno	LG	152	2,2	1,2	1,2	2,0	1,4	0,3
11	2,5-dimetoxitolueno	PS	152	2,2	1,8	0,9	0,7	1,1	0,4
12	(4-metoxifenil)-1-metoxietano		166	-	-	-	-	-	-
13	4-metoxibenzaldehído	LH	136	<0,1	0,6	<0,1	<0,1	<0,1	2,5
14	1,2,3-trimetoxibenceno	LS	168	9,7	10,5	5,0	4,9	5,5	1,6
15	4-etil-1,2-dimetoxibenceno		166	-	-	-	-	-	-
16	éster metílico del ácido 3-metoxibenzoico		166	1,9	1,8	1,1	0,8	1,3	0,4
17	4-metoxiacetofenona	LH	150	<0,1	<0,1	-	-	<0,1	<0,1
18	3,4-dimetoxiestireno	LG	164	0,1	0,1	0,3	1,2	0,6	0,2
19	1,2,4-trimetoxibenceno	PS	168	30,3	32,6	12,7	13,4	12,8	6,5
20	éster metílico del ácido 4-metoxibenzoico	LH	166	<0,1	0,2	<0,1	<0,1	<0,1	0,1
21	3,4,5-trimetoxitolueno	LS	182	0,3	0,3	1,5	1,5	1,8	0,2
22	1,2,3,4-tetrametoxibenceno	PS	198	5,6	6,0	3,8	3,3	3,7	1,1
23	desconocido		196	-	-	-	-	-	-
24	1-(3,4-dimetoxifenil)-1-metoxietano		196	0,5	0,3	0,7	0,6	0,7	0,1
25	3,4-dimetoxibenzaldehído	LG	166	7,4	6,1	5,3	7,4	6,7	1,7
26	1-(3,4-dimetoxifenil)-1-propeno	LG	178	<0,1	<0,1	0,3	0,9	0,3	<0,1
27	3,4,5-trimetoxiestireno	LS	194	<0,1	<0,1	3,8	2,7	3,1	0,6
28	1,2,3,5-tetrametoxibenceno		198	-	-	-	-	-	-
29	1-(3,4,5-trimetoxifenil)-1-propeno	LS	208	-	-	0,2	0,4	0,3	<0,1
30	1-(3,4-dimetoxifenil)-1-metoxipropano		210	-	-	-	-	-	-
31	3,4-dimetoxiacetofenona	LG	180	0,9	1,0	3,9	3,7	3,3	0,6
32	1-(3,4-dimetoxifenil)-2-propanona	LG	194	0,1	0,2	0,7	1,1	0,6	<0,1
33	éster metílico del ácido 3,4-dimetoxibenzoico	LG	196	2,4	3,5	2,6	3,2	2,9	0,4
34	éster metílico del ácido <i>cis</i> -3-(4-metoxifenil)-3-propenoico	AC	192	<0,1	0,2	0,2	<0,1	0,5	3,0
35	3,4,5-trimetoxibenzaldehído	LS	196	0,4	0,9	8,8	7,8	6,9	1,5

(Cont.)

Nº Compuestos	Origen	MW	Lino	Cáñamo	Kenaf	Yute	Sisal	Abacá
36 éster metílico del ácido 3,4-dimetoxibencenoacético	LG	210	<0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	<0,1
37 <i>cis</i> -1-(3,4dimetoxifenil)-2-metoxietileno	LG	194	0,2	0,6	0,7	2,0	0,8	0,1
38 <i>trans</i> -1-(3,4dimetoxifenil)-2-metoxietileno	LG	194	0,7	1,2	1,1	2,4	1,1	0,2
39 <i>cis</i> -1-(3,4-dimetoxifenil)-metoxiprop-1-eno	LG	208	<0,1	0,2	4,2	3,2	4,2	0,9
40 <i>trans</i> -1-(3,4-dimetoxifenil)-metoxiprop-1-eno	LG	208	0,2	0,3	<0,1	0,1	0,1	<0,1
41 3,4,5-trimetoxiacetofenona	LS	210	0,2	0,4	4,4	3,7	3,3	0,4
42 éster metílico del ácido <i>trans</i> -3-(4-metoxifenil)-3-propenoico	AC	192	0,8	0,9	0,4	0,9	1,5	58,6
43 1-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-propanona	LS	224	<0,1	<0,1	1,0	1,3	1,1	0,2
44 éster metílico del ácido 3,4,5-trimetoxibenzoico	LS	226	0,2	1,1	4,5	3,6	4,9	1,5
45 desconocido	LG	208	<0,1	0,1	0,4	0,8	0,2	-
46 1-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-metoxipropano	LS	240	-	-	1,4	1,8	1,2	0,4
47 1,2,3-trimetoxifenil propan-3-ona		224	<0,1	-	1,2	0,9	1,0	0,4
48 <i>cis</i> 1-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-metoxietileno	LS	224	<0,1	0,2	2,9	3,2	2,0	0,7
49 éster metílico del ácido <i>cis</i> -3-(3-dimetoxifenil)-3-propenoico	AF	222	-	-	-	-	0,1	0,1
50 <i>trans</i> -1-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-metoxietileno	LS	224	<0,1	0,1	3,5	3,5	2,9	0,9
51 <i>cis</i> -1-(3,4,5-trimethoxifenil)-metoxiprop-1-eno	LS	238	-	0,1	0,8	0,7	0,5	0,2
52 <i>trans</i> -1-(3,4,5-trimetoxifenil)-metoxiprop-1-eno	LS	238	-	0,1	1,0	0,9	0,8	0,3
53 éster metílico del ácido <i>trans</i> -3-(3,4-dimetoxifenil)-3-propenoico	AF	222	0,6	0,5	1,0	1,4	2,7	2,1

– No detectados; PS: Polisacáridos, LH: Lignina tipo H, LG: Lignina tipo G, LS: Lignina tipo S, L: Lignina, AC: Ácido cumárico metilado y AF: Ácido ferúlico metilado.

Entre los principales productos obtenidos por Py/TMAH se encontraron 1,2,4-trimetoxibenceno (19), y 1,2,3,4-tetrametoxibenceno (22), que provienen de carbohidratos (Fabbri y Helleur, 1999; Swarzinger, 2002). Entre los productos liberados se identificaron diferentes fenoles metilados derivados de las unidades de lignina G y S, incluyéndose los respectivos derivados metilados de vainillina (25) y siringaldehído (35) y las correspondientes cetonas metiladas (31, 41) y ácidos metilados (33, 44), junto con cantidades menores de compuestos derivados de las unidades H (13, 17, 20).

La Py/TMAH induce también una saponificación de ésteres de ácidos *p*-hidroxicinámicos y la rotura de los enlaces éteres en C<sub>4</sub>, con la consecuente metilación de los grupos carboxilos e hidroxilos formados (del Río *et al.*, 1996). Por eso, la Py/TMAH de las fibras de abacá liberó grandes cantidades (alrededor del 60 %) del derivado metilado del ácido *p*-cumárico, (42), así como cantidades menores (2,5%) del derivado metilado del ácido ferúlico, (53). Además de las formas *trans* de los ácidos *p*-hidroxicinámicos metilados se identificaron cantidades menores de los isómeros *cis* (34, 49). Los derivados metilados de los ácidos *p*-hidroxicinámicos, que tienen un papel importante en la unión de la lignina y las hemicelulosas en plantas herbáceas, se detectaron también en las otras fibras, aunque en menor cantidad.

La Tabla 14 muestra la relación de los ácidos *p*-hidroxicinámicos y los compuestos derivados de lignina, así como la relación entre los ácidos *p*-cúmarico y ferúlico, estimada mediante Py/TMAH. Los ácidos *p*-hidroxicinámicos se encuentran presentes en baja proporción en las fibras estudiadas, excepto en el abacá, donde son muy abundantes y en el sisal. Estos datos concuerdan con los publicados por otros autores que muestran generalmente una mayor cantidad de estos compuestos en monocotiledóneas (sisal y abacá) que en dicotiledóneas (lino, cáñamo, kenaf y yute), aunque se ha encontrado importantes cantidades del ácido ferúlico en lino y en otras dicotiledóneas (Lozovaya *et al.*, 1999).

**Tabla 14.** Composición H, G y S de los compuestos fenólicos (lignina y ácidos *p*-hidroxicinámicos) y las relaciones entre los diferentes compuestos Py/TMAH de las fibras.

Compuestos Py/TMAH	Fibras					
	Lino	Cáñamo	Kenaf	Yute	Sisal	Abacá
%H <sup>f</sup>	3	5	3	2	3	37
%G <sup>g</sup>	70	62	38	46	43	25
%S <sup>h</sup>	27	33	59	52	54	37
S/G	0,4	0,5	1,5	1,1	1,3	1,5
(Ac/Ad) <sub>G</sub> <sup>i</sup>	0,3	0,6	0,5	0,4	0,4	0,2
(Ac/Ad) <sub>S</sub> <sup>j</sup>	0,6	1,3	0,5	0,5	0,7	0,9
<i>p</i> -Cumárico/ferúlico	1,4	1,9	0,5	0,6	0,7	27,9
Ác cinámico/lignina	0,03	0,03	0,02	0,03	0,07	2,64

Abreviaturas: H, compuestos *p*-hidroxifenilo; G, compuestos guayacilo; S, compuestos sirringilo; Ph-C<sub>0</sub>, Ph-C<sub>1</sub>, Ph-C<sub>2</sub>; Ph-C<sub>3</sub>, compuestos fenólicos con sustituciones en la cadena lateral de ninguno, uno, dos y tres átomos de carbono; Ac, ácidos; y Ad, aldehídos

<sup>f</sup> picos 1, 3, 6, 12, 13, 17 y 20 de la Tabla 13; <sup>g</sup> picos 5, 10, 18, 25, 26, 30-33, 36-40 y 45 de la Tabla 13; <sup>h</sup> picos 14, 21, 27, 29, 35, 41, 43, 44, 46-48 y 50-52 de la Tabla 13; <sup>i</sup> picos 33 y 25 de la Tabla 13; y <sup>j</sup> picos 44 y 35 de la Tabla 13.

El ácido *p*-cúmarico es muy abundante en las fibras de abacá, mientras que en las fibras de lino y cáñamo el ácido *p*-cumárico predomina sólo ligeramente sobre el ácido ferúlico. Por otro lado, en las fibras de kenaf, yute y sisal la abundancia del ácido ferúlico es mayor que la del ácido *p*-cúmarico. Algunos de estos resultados son nuevos en la literatura que describe generalmente cantidades mayores de ácido ferúlico que de ácido *p*-cúmarico en monocotiledóneas (Henry y Harris, 1997) así como en algunas dicotiledóneas, aunque con menores cantidades de ambos compuestos (Lozovaya *et al.*, 1999). Estudios en el maíz (Ralph *et al.*, 1994), trigo (Crestini y Argyropoulos, 1997) y otras plantas herbáceas incluyendo el bambú (Lu y Ralph, 1999), revelan que el ácido *p*-cumárico está esterificado en la posición  $\gamma$  de las cadenas laterales de lignina y en las unidades S predominantemente (Lu y Ralph, 1999; Grabber *et al.*, 1996). Por tanto, probablemente el ácido *p*-cúmarico en el abacá está también unido en la posición  $\gamma$  de las cadenas laterales de lignina.

Debido a que los ácidos *p*-hidroxicinámicos se obtuvieron intactos (como derivados metilados) después de Py/TMAH, se podría pensar que la composición molar de H, G y S obtenida (Tabla 14) debería ser considerada como más representativa de la composición de lignina que la obtenida por Py-GC/MS, la cual corresponde al total de los compuestos fenólicos (lignina y ácidos *p*-hidroxicinámicos). No obstante, el análisis de los productos de pirólisis que se formaron en presencia de TMAH, mostró gran cantidad de 4-metoxiestireno (6) en el abacá, que puede derivar parcialmente de la degradación del ácido *p*-cumárico durante el análisis, con lo que el porcentaje de unidades H estaría sobreestimado. Incluso si no se usara el 4-metoxiestireno en la cuantificación de la lignina H, las fibras de abacá tendrían porcentajes altos de unidades H.

#### 4.3.2. Composición química de la lignina en las lejías de cocción

Las pastas de papel de alta calidad se obtienen mediante procedimientos químicos que tienen como objetivo despolimerizar parcialmente y solubilizar la lignina que actúa como cemento entre las fibras celulósicas de la madera. Su eliminación parcial constituye una parte esencial del proceso de blanqueo necesario para conseguir pastas de papel con elevado grado de blancura. El estudio del efecto de los agentes de cocción sobre los materiales lignocelulósicos y, en particular el análisis de la lignina después del proceso de cocción, puede ofrecer una valiosa información, contribuyendo a la optimización de los tratamientos, al ahorro en el consumo de reactivos y a la mejora de las propiedades de las pastas (como blancura, reversión, facilidad para el refino y características mecánicas en los papeles obtenidos).

Con el fin de estudiar los cambios estructurales producidos en el polímero de lignina después de la cocción sosa/AQ de las fibras se estudió la composición de

las ligninas alcalinas obtenidas de los líquidos de cocción (o lejiás negras) por precipitación ácida. Para ello se utilizó la pirólisis (en presencia y ausencia de TMAH) acoplada a GC/MS.

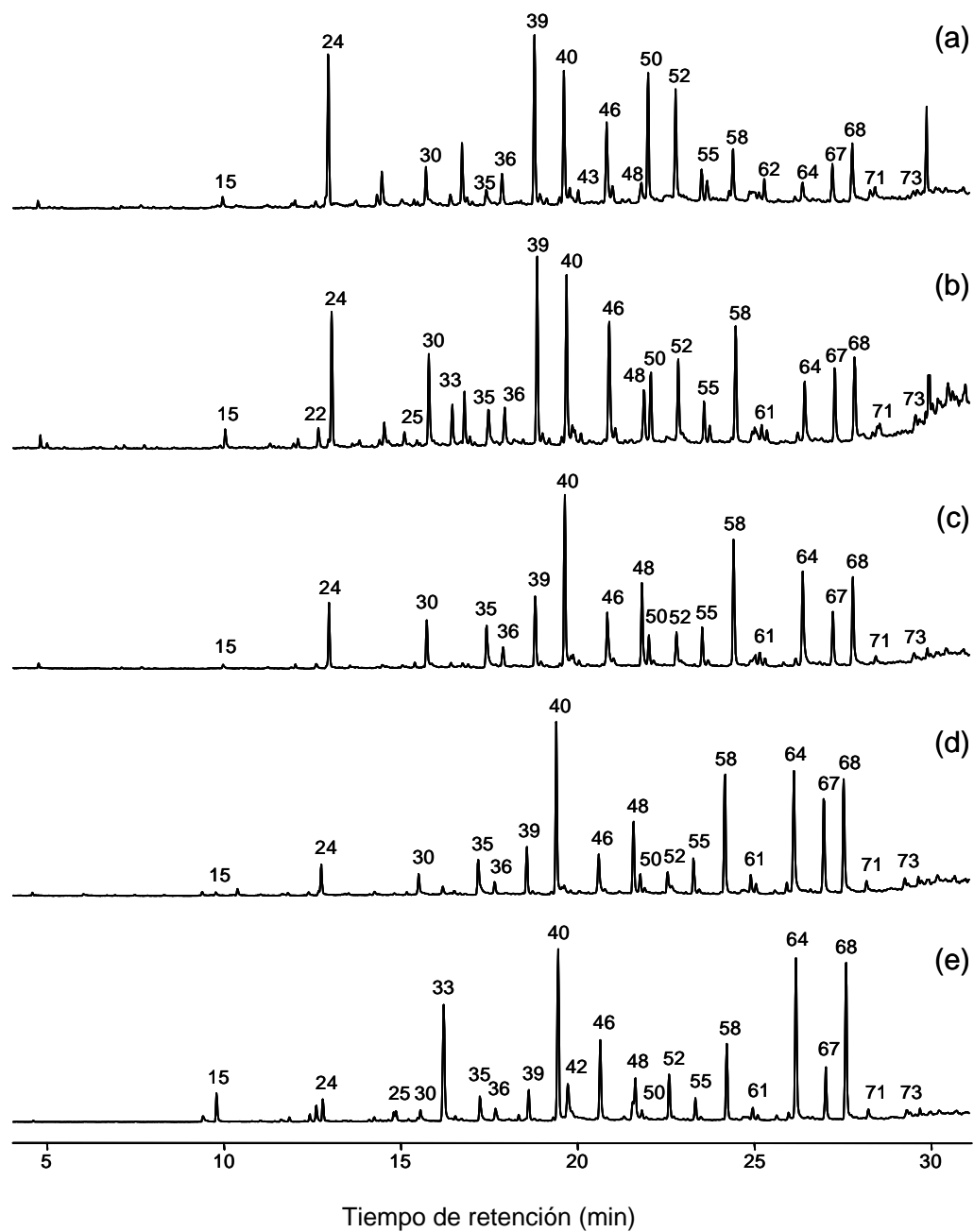
#### 4.3.2.1. Análisis por Py-GC/MS

Los pirogramas de las ligninas alcalinas aisladas de las fibras seleccionadas se muestran en la Figura 86. La composición y abundancia de los compuestos liberados por Py-GC/MS aparecen en la Tabla 15.

Como era previsible, no se detectaron compuestos derivados de carbohidratos en las distintas ligninas alcalinas, aunque en todas ellas se encontraron cantidades importantes de AQ (no incluida en la Tabla 15), procedentes del proceso de cocción. La pirólisis de las ligninas alcalinas liberó grandes cantidades de fenoles de las unidades H, G y S y de sus derivados (metil, etil, vinil, alil y propenil), encontrándose diferencias visibles entre las ligninas alcalinas de las distintas fibras. Los acetatos de los alcoholes sinapílico y coniferílico, presentes en algunas de las fibras estudiadas, no se detectaron en la Py-GC/MS de las ligninas alcalinas, indicando que los acetatos se hidrolizaron durante la cocción a la sosa.

En comparación con la lignina de las fibras analizadas *in situ*, la Py-GC/MS de las ligninas alcalinas produjo cantidades mayores de fenol (15), 3-metilguayacol (28), 4-metilguayacol (30), 4-etilguayacol (36), 4-vinilguayacol (39) y los respectivos compuestos de tipo S, siringol (40), 4-metilsiringol (48), 4-etilsiringol (55) y 4-vinilsiringol (58). Además, las muestras de lignina liberaron también cantidades mayores de compuestos C $\alpha$ -carbonilo, tales como vainillina (46), acetoguayacona (52), y los respectivos de tipo S, siringaldehído (64) y acetosiringona (68). Estos compuestos indican que los grupos C $\alpha$ -carbonilo están presentes en grandes cantidades en la lignina alcalina con respecto a la lignina original presente en la materia prima. Esto está de acuerdo con trabajos previos (Gierer y Lindeberg, 1980) que encuentran evidencias de compuestos del tipo de la acetoguayacona, después de la cocción kraft de compuestos modelos de lignina y de madera de picea, que provienen de la escisión de los enlaces  $\beta$ -aril éter de las unidades de lignina fenólica durante la cocción. Se identificaron también cresoles y catecoles, en particular 3-metoxicatecol (35), en las ligninas alcalinas. Resultados similares se encontraron en otras ligninas industriales (Zier *et al.*, 1997).





**Figura 86.** Pirogramas de las ligninas alcalinas de las fibras de lino (a), cáñamo (b), yute (c), sisal (d), y abacá (e). Los números de los picos corresponden a los compuestos que aparecen en la Tabla 15.

**Tabla 15.** Compuestos liberados por Py-GC/MS de las ligninas alcalinas de las fibras (abundancias molares relativas).

Nº	Compuestos	Origen	MW	Lino	Cáñamo	Yute	Sisal	Abacá
1	hidroxiacetaldehído	PS	60	-	-	-	-	-
2	3-hidroxiopropanal	PS	74	-	-	-	-	-
3	(3H) furan-2-ona	PS	84	-	-	-	-	-
4	2,3-butanodiona (T)	PS	80	-	-	-	-	-
5	(2H) furan-3-ona	PS	84	-	-	-	-	-
6	2-furaldehído	PS	96	-	-	-	-	-
7	2-metilfurano	PS	82	-	-	-	-	-
8	2-hidroximetilfurano	PS	98	-	-	-	-	-
9	ciclopent-1-ene-3,4-diona	PS	96	-	-	-	-	-
10	4-metiltetrahidrofuran-3-ona	PS	100	-	-	-	-	-
11	(5H) furan-2-ona	PS	84	-	-	-	-	-
12	acetilfurano	PS	110	-	-	-	-	-
13	2,3-dihidro-5-metilfuran-2-ona	PS	98	-	-	-	-	-
14	5-metil-2-furfuraldehído	PS	110	-	-	-	-	-
15	fenol	LH	94	1,1	1,8	0,5	0,5	3,4
16	5,6-dihidropiran-2,5-diona	PS	98	-	-	-	-	-
17	4-hidroxi-5,6-dihidro-(2H)-piran-2-ona	PS	114	-	-	-	-	-
18	3-hidroxi-2-metil-2-ciclopenten-1-ona	PS	112	-	-	-	-	-
19	2-hidroxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona	PS	112	-	-	-	-	-
20	2,3-dimetilciclopenten-1-ona	PS	110	-	-	-	-	-
21	2-metilfenol	LH	108	0,6	0,5	0,5	0,2	0,5
22	4-metilfenol	LH	108	0,6	2,0	0,7	0,4	0,8
23	éster metílico del ácido 2-furóico	PS	126	-	-	-	-	-
24	guayacol	LG	124	16,0	9,5	7,1	3,8	1,9
25	4-etilfenol	LH	122	0,6	0,9	0,2	0,2	1,6
26	3,4-dihidroxibenzaldehído	L	138	-	-	-	-	-
27	3,5-dihidroxi-2-metilpiran-4-ona	PS	142	-	-	-	-	-
28	3-metilguayacol	LG	138	0,5	0,3	0,4	0,2	0,1
29	5-hidroximetil-2-tetrahidrofuraldehído-3-ona	PS	144	-	-	-	-	-
30	4-metilguayacol	LG	138	2,8	5,0	4,3	2,2	1,2
31	catecol	L	110	0,2	1,0	0,2	0,2	0,1
32	5-hidroximetil-2-furaldehído (isómero)	PS	126	-	-	-	-	-
33	4-vinilfenol	LH	120	1,2	3,4	0,4	0,9	14,1
34	5-hidroximetil-2-furaldehído	PS	126	-	-	-	-	-
35	3-metoxicatecol	L	140	2,0	3,3	5,2	5,0	2,5
36	4-etilguayacol	LG	152	2,5	2,4	1,9	1,3	1,2
37	4-metilcatecol	L	124	0,1	0,2	0,1	0,1	<0,1
38	1,4-dideoxi-D-glicerohex-1-enopirenona-3-ulosa	PS	144	-	-	-	-	-
39	4-vinilguayacol	LG	150	12,8	11,3	6,7	4,4	2,6

(Cont.)

4. Resultados y discusión

Nº Compuestos	Origen	MW	Lino	Cáñamo	Yute	Sisal	Abacá
40 siringol	LS	154	10,4	10,4	15,6	16,4	14,8
41 eugenol	LG	164	0,6	0,5	0,2	0,1	<0,1
42 4-hidroxibenzaldehído	LH	122	-	-	-	-	3,9
43 4-propilguayacol	LG	166	0,8	0,6	0,3	0,3	0,1
44 pirogalol	L	126	-	-	-	-	-
45 1,6-anhidrogalactopiranosas	PS (h)	162	-	-	-	-	-
46 vainillina	LG	152	7,3	8,7	5,6	4,5	6,6
47 <i>cis</i> -isoeugenol	LG	164	1,1	0,6	0,5	0,3	0,1
48 4-metilsiringol	LS	168	1,7	3,3	6,9	6,8	1,6
49 4-hidroxiacetofenona	LH	136	0,1	<0,1	-	-	3,6
50 <i>trans</i> -isoeugenol	LG	164	9,8	4,2	2,4	1,7	0,5
51 homovainillina	LG	166	<0,1	<0,1	0,3	0,4	0,1
52 acetoguyacona	LG	166	8,4	4,6	3,1	1,7	3,4
53 1,6-anhidromanopiranosas	PS (h)	162	-	-	-	-	-
54 levoglucosano	PS	162	-	-	-	-	-
55 4-etilsiringol	LS	182	2,1	2,3	3,0	2,9	1,4
56 guayacilacetona	LG	180	1,6	0,9	0,4	0,4	0,2
57 1,6-anhidro-β-D-glucofuranosa	PS	162	-	-	-	-	-
58 4-vinilsiringol	LS	180	3,3	6,3	9,9	10,7	5,1
59 propiovainillona	LG	180	0,4	0,2	0,1	0,1	0,1
60 guayacil vinil cetona	LG	178	-	-	-	-	-
61 4-alilsiringol	LS	194	0,4	0,7	0,9	1,3	0,8
62 4-propilsiringol	LS	196	1,2	0,5	0,4	0,5	0,3
63 <i>cis</i> -4-propenilsiringol	LS	194	0,2	0,5	0,5	0,8	0,4
64 siringaldehído	LS	182	1,5	3,9	8,8	11,8	12,0
65 alcohol <i>cis</i> -coniferílico	LG	180	-	-	-	-	-
66 4-propinesiringol	LS	192	-	0,1	0,1	0,2	0,1
67 <i>trans</i> -4-propenilsiringol	LS	194	2,7	4,3	4,3	8,5	3,6
68 acetosiringona	LS	196	4,4	4,8	7,4	10,0	10,2
69 <i>trans</i> -coniferaldehído	LG	178	-	-	-	-	-
70 alcohol <i>trans</i> -coniferílico	LG	180	-	-	-	-	-
71 siringilacetona	LS	210	0,5	0,2	0,6	0,9	0,6
72 ácido <i>p</i> -cumárico	LH	164	-	-	-	-	-
73 acetato <i>cis</i> -coniferílico	LG	222	-	-	-	-	-
74 propiosiringona	LS	210	0,3	0,7	0,5	0,7	0,4
75 alcohol dihidrosinapílico	LS	212	-	-	-	-	-
76 acetato <i>trans</i> -coniferílico	LG	222	-	-	-	-	-
77 alcohol <i>cis</i> -sinapílico	LS	210	-	-	-	-	-
78 <i>trans</i> -sinapaldehído	LS	208	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
79 alcohol <i>trans</i> -sinapílico	LS	210	-	-	-	-	-
80 acetato <i>cis</i> -sinapílico	LS	252	-	-	-	-	-
81 acetato <i>trans</i> -sinapílico	LS	252	-	-	-	-	-

- No detectados; PS: Polisacáridos; PS (h): Hemicelulosas; LH: Lignina tipo H; LG: Lignina tipo G; LS: Lignina tipo S; L: Lignina.

Los porcentajes relativos de las diferentes unidades estructurales de la lignina en las muestras analizadas se muestran en la Tabla 16. La pirólisis reveló la presencia de lignina tipo G en las ligninas alcalinas de lino y cañamo (relación S/G 0,4-0,8) y de lignina tipo S en yute, sisal y abacá (relación S/G 1,7-3,4).

**Tabla 16.** Composición H, G y S de los compuestos de fenilpropano (lignina y ácidos *p*-hidroxicinámicos) y las relaciones entre los diferentes compuestos por Py-GC/MS de las ligninas alcalinas.

Compuestos Py-GC/MS	Ligninas alcalinas				
	Lino	Cañamo	Yute	Sisal	Abacá
%H <sup>a</sup>	4	9	2	2	26
%G <sup>b</sup>	67	51	36	22	19
%S <sup>c</sup>	29	40	62	76	55
S/G	0,4	0,8	1,7	3,4	2,9
Ph-C <sub>0,2</sub> /Ph-C <sub>3</sub> <sup>d</sup>	5,8	5,8	7,3	4,9	12,3

Abreviaturas: H, compuestos *p*-hidroxifenilo; G, compuestos guayacilo; S, compuestos siringilo; Ph-C<sub>0</sub>, Ph-C<sub>1</sub>, Ph-C<sub>2</sub>; Ph-C<sub>3</sub>, compuestos fenólicos con sustituciones en la cadena lateral de ninguno, uno, dos y tres átomos de carbono.

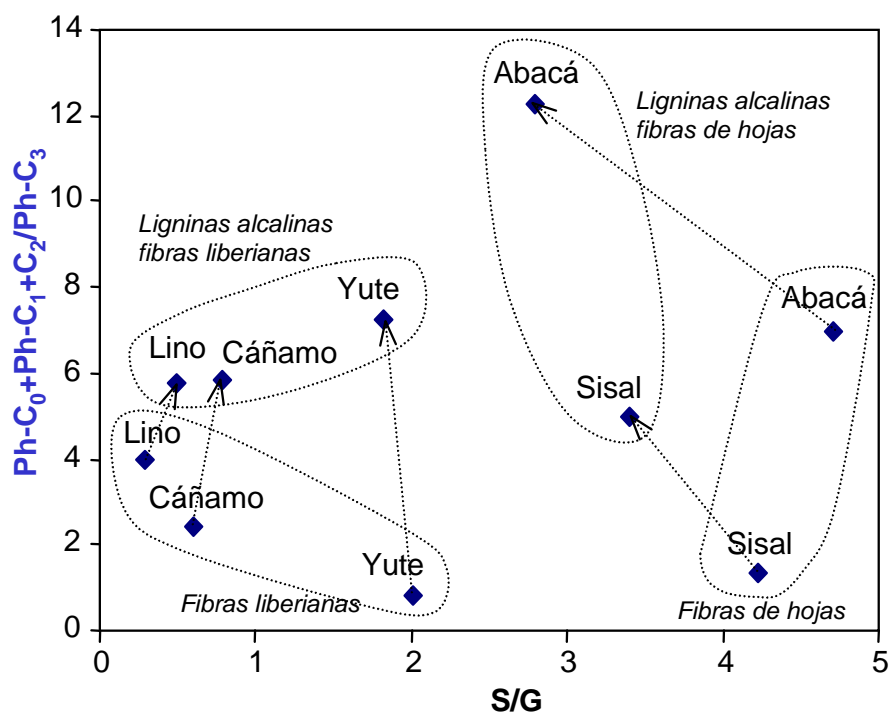
<sup>a</sup> Picos 15, 21, 22, 25, 33, 42, 49 y 72 de la Tabla 15; <sup>b</sup> picos 24, 28, 30, 36, 39, 41, 43, 46, 47, 50, 51, 52, 56, 59, 60, 65, 69, 70, 73 y 76 de la Tabla 15; <sup>c</sup> picos 40, 48, 55, 58, 61, 62, 63, 64, 66, 67, 68, 71, 74, 75, 77, 78, 79, 80 y 81 de la Tabla 15; <sup>d</sup> Ph-C<sub>0</sub>, picos 15, 24 y 40; PhC<sub>1</sub>, picos 22, 30, 42, 46, 48 y 64; Ph-C<sub>2</sub>, picos 25, 33, 36, 39, 49, 51, 55, 58 y 68; Ph-C<sub>3</sub>, picos 41, 43, 47, 50, 56, 59-63, 65-67, 69-71, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80 y 81 de la Tabla 15.

Al comparar los resultados obtenidos en la composición de la lignina nativa de las fibras y en las ligninas alcalinas se vio que la pirólisis de estas últimas produjo cantidades relativamente mayores de productos de cadena corta (fenoles Ph-C<sub>0</sub>, Ph-C<sub>1</sub> y Ph-C<sub>2</sub>) mientras que se encontraron cantidades menores de productos con la cadena lateral intacta (Ph-C<sub>3</sub>) procedentes de unidades de lignina inalteradas. Este hecho indica un acortamiento de la cadena lateral durante la cocción, como se ha visto en otras ligninas alcalinas (Zier *et al.*, 1997). No obstante, la presencia de *trans*-isoeugenol (50) y *trans*-4-propenilsiringol (67) en las ligninas alcalinas indica que éstas todavía contienen unidades completas intactas de Ph-C<sub>3</sub>. Además, la presencia de vinilguayacol (y vinilsiringol) e isoeugenol (y *trans*-4-propenilsiringol) puede ser interpretada como indicativo de la presencia de enlaces β-O-4 con grupos OH en posición α (Choi *et al.*, 2002).

La mencionada alteración de la lignina está en consonancia con la ausencia de los alcoholes sinapílico y coniferílico (indicadores de lignina inalterada) y las bajas

cantidades de *trans*-sinapaldehído, que se detectaron en todas las muestras de lignina alcalina.

La representación gráfica de la relación de  $(\text{Ph-C}_0 + \text{Ph-C}_1 + \text{Ph-C}_2)/\text{Ph-C}_3$  frente a la relación S/G de las fibras y de las ligninas alcalinas, se muestra en la Figura 87.



**Figura 87.** Representación gráfica de  $(\text{Ph-C}_0 + \text{Ph-C}_1 + \text{Ph-C}_2)/\text{Ph-C}_3$  frente a la relación S/G para las fibras y las ligninas alcalinas.

Esta representación refleja algunos de los cambios estructurales mencionados de las ligninas y, en particular el hecho de que la cocción alcalina produce un acortamiento de la cadena lateral así como una eliminación preferencial de las unidades siringilo en las fibras con elevada relación S/G.

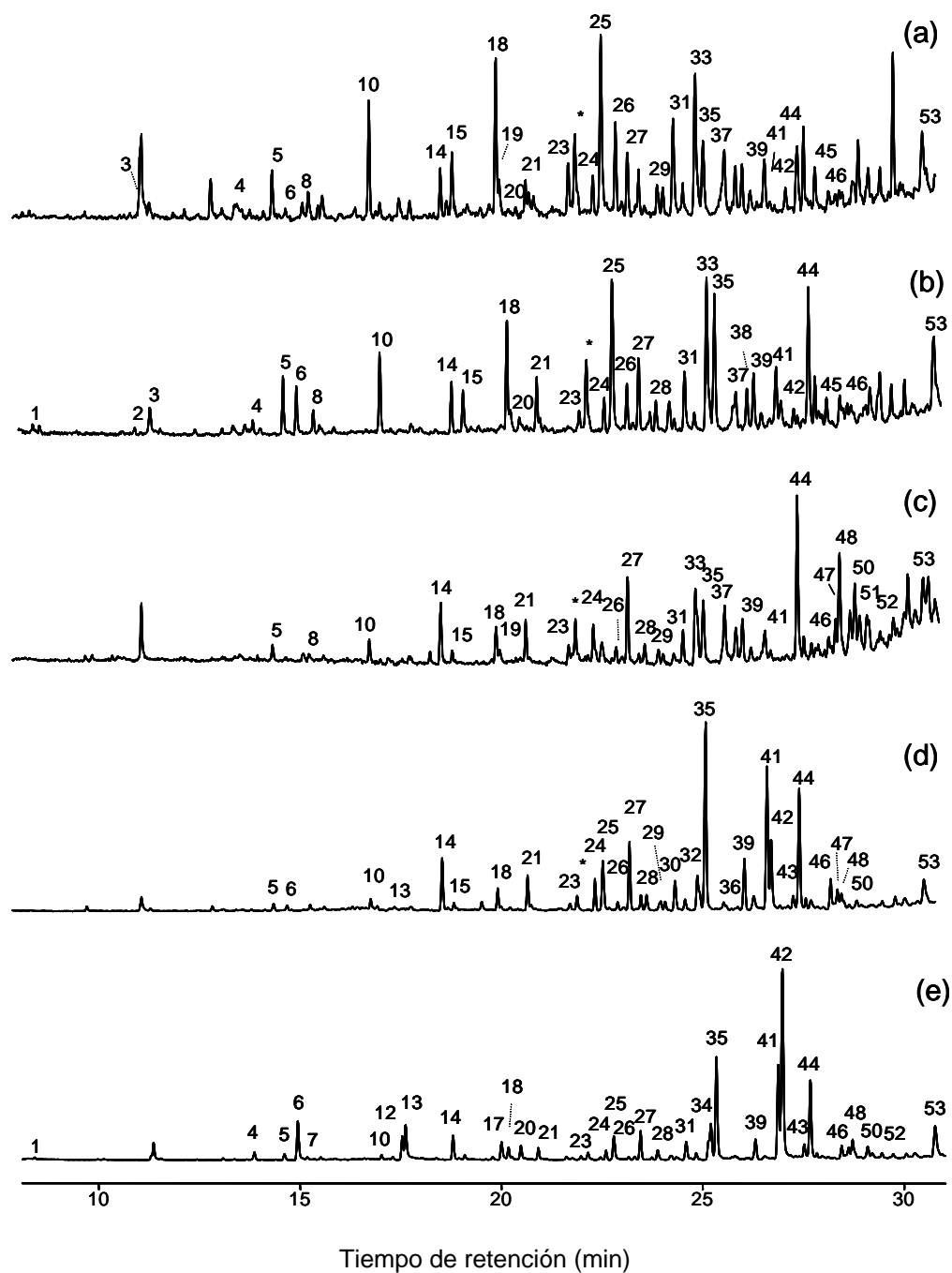
La Py-GC/MS produjo también varios compuestos derivados de unidades de la lignina de tipo H que son importantes en las ligninas del lino y del cáñamo, representando casi un 3,8 % del total de los productos de pirólisis, y especialmente abundantes en la lignina del abacá donde la cantidad es del 8,6% del total de los productos de pirólisis (Figura 86, Tabla 16). Como ocurre en la fibra de abacá, su respectiva lignina alcalina también liberó tras Py-GC/MS grandes cantidades de 4-vinilfenol (33), el cual procede principalmente de la pirólisis del ácido *p*-cumárico. Sin embargo, en comparación con la fibra la proporción de 4-vinilfenol liberada es menor en el caso de las ligninas alcalinas sugiriendo una disminución de las unidades de ácido *p*-cumárico. Este resultado se confirmó por Py/TMAH de la lignina alcalina de abacá que se muestra en el apartado siguiente.

#### 4.3.2.2. Análisis por Py/TMAH

Los resultados de la Py/TMAH de las diferentes ligninas alcalinas se muestran en la Figura 88. En la Tabla 17 se detalla la identidad y la abundancia relativa de los principales compuestos identificados por Py/TMAH.

Entre los principales productos obtenidos por Py/TMAH se identificaron diferentes fenoles metilados derivados de las unidades de lignina G y S, incluyéndose, respectivamente los metilados vainillina (25) y siringaldehído (35) y las correspondientes cetonas metiladas (31, 41) y ácidos metilados (33, 44), junto con cantidades menores de compuestos derivados de las unidades H (13, 17, 20).

Por otra parte, también se identificaron los ácidos *p*-hidroxicinámicos (como sus derivados metilados). En el caso del abacá, la relación de ácidos cinámicos respecto a los compuestos de lignina bajó de 2,6 en la fibra a 0,4 en la lignina alcalina, al igual que la relación entre el ácido *p*-cumárico y el ácido ferúlico (27 en la fibra, 5 en la lignina alcalina), confirmándose la disminución de las unidades de ácido *p*-cumárico en la lignina alcalina de abacá tal como se sugirió en el apartado anterior. Los ácidos *p*-hidroxicinámicos (como sus derivados metilados) se detectaron también en la lignina alcalina de sisal y, en menor proporción, en las otras muestras de ligninas (lino, cáñamo y yute). En cuanto a los distintos ácidos *p*-hidroxicinámicos, el ácido ferúlico predomina en el lino, cáñamo y yute, mientras en sisal y abacá predomina el *p*-ácido cumárico. Como una molécula bifuncional, con grupos carboxílicos y fenólicos, los ácidos *p*-hidroxicinámicos pueden formar enlaces éster y éter. Lo más probable es que los ácidos *p*-hidroxicinámicos que permanecen todavía en la lignina alcalina sean uniones éter (Scalbert *et al.*, 1985, Sun *et al.*, 2002, Lam *et al.*, 1992), porque los enlaces éster se rompen fácilmente en la cocción alcalina.



**Figura 88.** Pirogramas de la Py/TMAH de las ligninas alcalinas de las fibras de lino (a), cáñamo (b), yute (c), sisal (d), y abacá (e). Los números de los picos corresponden a los que aparecen en la Tabla 17.

**Tabla 17.** Compuestos liberados por Py/TMAH de las ligninas alcalinas de las fibras (abundancias molares relativas).

Nº	Compuestos	Origen	MW	Lino	Cáñamo	Yute	Sisal	Abacá
1	metoxibenceno		108	0,1	0,4	0,1	<0,1	0,2
2	2-metoxitolueno		122	0,1	0,3	0,1	<0,1	<0,1
3	4-metoxitolueno		122	0,5	2,4	0,1	0,2	0,6
4	1-etil-4-metoxibenceno		136	0,3	0,6	0,1	0,1	1,0
5	1,2-dimetoxibenceno	LG	138	2,9	3,7	2,0	1,0	0,8
6	4-metoxiestireno		134	0,4	3,5	0,2	0,5	6,0
7	1,4-dimetoxibenceno		138	-	-	-	-	0,3
8	2,3-dimetoxitolueno		152	0,9	1,4	1,2	0,1	<0,1
9	3-metoxibenzaldehído		136	-	-	-	-	-
10	3,4-dimetoxitolueno	LG	152	7,8	5,0	2,8	1,1	0,5
11	2,5-dimetoxitolueno	PS	152	-	-	-	-	-
12	(4-metoxifenil)-1-metoxietano		166	0,1	0,5	-	-	2,8
13	4-metoxibenzaldehído	LH	136	-	0,1	-	0,4	4,7
14	1,2,3-trimetoxibenceno	LS	168	3,1	2,8	5,8	5,0	2,5
15	4-etil-1,2-dimetoxibenceno		166	4,0	2,5	0,8	0,5	0,5
16	éster metílico del ácido 3-metoxibenzoico		166	<0,1	0,1	0,1	<0,1	-
17	4-metoxiacetofenona	LH	150	0,7	0,3	-	0,1	2,3
18	3,4-dimetoxiestireno	LG	164	8,8	5,6	2,6	1,8	1,0
19	1,2,4-trimetoxibenceno	PS	168	0,8	0,5	0,7	0,2	0,1
20	éster metílico del ácido 4-metoxibenzoico	LH	166	0,2	0,5	0,1	0,3	1,5
21	3,4,5-trimetoxitolueno	LS	182	1,4	2,3	3,1	2,6	1,0
22	1,2,3,4-tetrametoxibenceno	PS	198	-	-	-	-	-
23	desconocido		196	2,0	0,9	0,7	0,6	0,3
24	1-(3,4-dimetoxifenil)-1-metoxietano		196	2,0	1,7	3,6	2,6	0,8
25	3,4-dimetoxibenzaldehído	LG	166	12,7	10,6	2,5	5,6	3,0
26	1-(3,4-dimetoxifenil)-1-propeno	LG	178	5,2	2,4	1,6	0,7	0,2
27	3,4,5-trimetoxiestireno	LS	194	3,4	3,7	7,2	5,8	2,5
28	1,2,3,5-tetrametoxibenceno		198	0,4	1,5	1,4	1,4	1,1
29	1-(3,4,5-trimetoxifenil)-1-propeno	LS	208	0,1	1,6	1,3	1,0	0,5
30	1-(3,4-dimetoxifenil)-1-metoxipropano		210	1,3	0,4	0,7	0,6	0,3
31	3,4-dimetoxiacetofenona	LG	180	6,6	4,0	0,8	3,0	2,0
32	1-(3,4-dimetoxifenil)-2-propanona	LG	194	0,7	0,4	0,1	0,6	0,3
33	éster metílico del ácido 3,4-dimetoxibenzoico	LG	196	9,4	8,8	9,3	4,0	1,7
34	éster metílico del ácido <i>cis</i> -3-(4-metoxifenil)-3-propenoico	AC	192	0,1	0,2	<0,1	0,4	2,8
35	3,4,5-trimetoxibenzaldehído	LS	196	4,0	7,1	5,7	17,7	9,4
36	éster metílico del ácido 3,4-dimetoxibencenoacético	LG	210	0,6	1,2	0,3	0,3	0,1
37	<i>cis</i> -1-(3,4-dimetoxifenil)-2-metoxietileno	LG	194	2,7	1,7	5,0	<0,1	<0,1

(Cont.)



Nº Compuestos	Origen	MW	Lino	Cáñamo	Yute	Sisal	Abacá
38 <i>trans</i> -1-(3,4-dimetoxifenil)-2-metoxietileno	LG	194	2,0	2,0	2,9	0,1	0,1
39 <i>cis</i> -1-(3,4-dimetoxifenil)-metoxiprop-1-eno	LG	208	1,9	2,6	3,4	4,3	2,1
40 <i>trans</i> -1-(3,4-dimetoxifenil)-metoxiprop-1-eno	LG	208	0,1	<0,1	0,1	-	-
41 3,4,5-trimetoxiacetofenona	LS	210	2,5	2,6	2,0	13,2	9,8
42 éster metílico del ácido <i>trans</i> -3-(4-metoxifenil)-3-propenoico	AC	192	0,4	1,1	0,4	6,2	20,4
43 1-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-propanona	LS	224	0,1	<0,1	0,1	0,9	0,9
44 éster metílico del ácido 3,4,5-trimetoxibenzoico	LS	226	3,5	6,1	13,0	9,5	6,7
45 desconocido	LG	208	1,9	1,2	0,2	<0,1	<0,1
46 1-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-metoxipropano	LS	240	0,5	0,7	0,6	1,9	0,8
47 1,2,3-trimetoxifenil propan-3-ona		224	0,2	0,6	1,9	0,8	1,1
48 <i>cis</i> 1-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-metoxietileno	LS	224	0,5	0,6	6,9	0,8	1,3
49 éster metílico del ácido <i>cis</i> -3-(3,4-dimetoxifenil)-3-propenoico	AF	222	0,2	0,1	-	0,1	0,2
50 <i>trans</i> -1-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-metoxietileno	LS	224	0,2	0,4	4,4	0,6	0,9
51 <i>cis</i> -1-(3,4,5-trimetoxifenil)-metoxiprop-1-eno	LS	238	0,2	<0,1	0,5	0,1	0,3
52 <i>trans</i> -1-(3,4,5-trimetoxifenil)-metoxiprop-1-eno	LS	238	0,2	0,2	0,6	0,1	0,3
53 éster metílico del ácido <i>trans</i> -3-(3,4-dimetoxifenil)-3-propenoico	AF	222	2,4	3,2	3,2	3,0	3,9

-No detectados; PS: Polisacáridos, LH: Lignina tipo H, LG: Lignina tipo G, LS: Lignina tipo S, L: Lignina, AC: Ácido cumárico metilado y AF: Ácido ferúlico metilado.

La Tabla 18 muestra la composición relativa de los ácidos *p*-hidroxicinámicos (ácidos *p*-cumárico/ferúlico) en las distintas ligninas alcalinas. Es interesante destacar que esta relación disminuyó drásticamente en todas las ligninas (excepto la de sisal) cuando se compararon con la fibra de partida. Esto significa que, de acuerdo con la literatura (Ralph *et al.*, 1994; Crestini y Argyropoulos, 1997; Lu y Ralph, 1999; Grabber *et al.*, 1996), la mayor parte del ácido *p*-cumárico está unido a través de enlaces éster a la cadena lateral de la lignina (y a los carbohidratos) en las fibras, mientras el ácido ferúlico está unido a la lignina, predominantemente por enlaces éter. En el sisal, parece que ocurre lo contrario, el ácido ferúlico está predominantemente unido a la lignina a través de enlaces éster y el ácido *p*-cumárico a través de enlaces éter.

**Tabla 18.** Composición H, G y S de los compuestos de fenilpropano (lignina y ácidos *p*-hidroxicinámicos) y las relaciones entre los diferentes compuestos por Py/TMAH de las ligninas alcalinas.

Compuestos Py/TMAH	Ligninas alcalinas				
	Lino	Cáñamo	Yute	Sisal	Abacá
%H <sup>f</sup>	2	9	1	2	26
%G <sup>g</sup>	75	58	38	26	18
%S <sup>h</sup>	23	33	61	72	56
S/G	0,3	0,6	1,6	2,8	3,1
(Ac/Ad) <sub>G</sub> <sup>i</sup>	0,7	0,8	3,7	0,7	0,5
(Ac/Ad) <sub>S</sub> <sup>j</sup>	0,9	0,9	2,3	0,5	0,7
<i>p</i> -Cumárico/ferúlico	0,2	0,4	0,1	2,1	5,7
Ác cinámico/lignina	0,03	0,05	0,04	0,11	0,39

Abreviaturas: H, compuestos *p*-hidroxifenilo; G, compuestos guayacilo; S, compuestos siringilo; Ph-C<sub>0</sub>, Ph-C<sub>1</sub>, Ph-C<sub>2</sub>; Ph-C<sub>3</sub>, compuestos fenólicos con sustituciones en la cadena lateral de ninguno, uno, dos y tres átomos de carbono; Ac, ácidos; y Ad, aldehídos

<sup>f</sup> picos 1, 3, 6, 12, 13, 17 y 20 de la Tabla 17; <sup>g</sup> picos 5, 10, 18, 25, 26, 30-33, 36-40 y 45 de la Tabla 17; <sup>h</sup> picos 14, 21, 27, 29, 35, 41, 43, 44, 46-48 y 50-52 de la Tabla 17; <sup>i</sup> picos 33 y 25 de la Tabla 17; y <sup>j</sup> picos 44 y 35 de la Tabla 17.

Finalmente, una comparación entre las distribuciones de los productos de Py/TMAH de la lignina en la fibra y las respectivas ligninas alcalinas mostró un relativo incremento en los ésteres metílicos de los ácidos 3,4-dimetoxibenzoico y 3,4,5-trimetoxibenzoico con respecto a sus correspondientes aldehídos. Esto se refleja en la llamada relación ácido/aldehído (del Río *et al.*, 1998b), que se muestra también en la Tabla 18. Este parámetro es ligeramente mayor en las ligninas alcalinas comparado con la lignina nativa en las fibras, indicando que se han producido roturas oxidativas en los enlaces C<sub>α</sub>-C<sub>β</sub>, como ya se mostró por Py-GC/MS.

## **5. CONCLUSIONES**



Las principales conclusiones que se han alcanzado durante esta Tesis son las que se muestran a continuación:

1. En general, las fibras estudiadas se caracterizan por presentar un contenido alto en polisacáridos y bajo en lignina, hidrosolubles, extraíbles y cenizas, lo que a priori las hace interesantes como materias primas para la fabricación de pasta de papel de alta calidad desde el punto de vista de la composición química. De ellas, las fibras de lino y cáñamo son las que presentan el mayor contenido en polisacáridos y el menor contenido en lignina.
2. Las fibras de lino y cáñamo, a pesar de presentar un menor contenido en lignina, la estructura de la misma es predominantemente de tipo guayacilo, lo que las hace más difícilmente deslignificables. Por el contrario, las fibras de kenaf, yute, sisal y abacá, aunque presentan mayor contenido en lignina, ésta contiene una mayor proporción de unidades siringilo que de guayacilo y por tanto son más fácilmente deslignificables.
3. Se han identificado por primera vez los acetatos de los alcoholes sinapílico y coniferílico tras pirólisis de materiales lignocelulósicos, concretamente, en las ligninas de kenaf, yute, sisal y abacá. La presencia de estos compuestos indica que la lignina nativa de estas fibras está, al menos parcialmente, acetilada. Estos compuestos actúan como precursores de la lignina y participan en su biosíntesis junto con los monómeros tradicionales, los alcoholes coniferílicos y sinapílicos. Esto indica que el mecanismo de lignificación es muy flexible. Por tanto los conceptos tradicionales sobre la estructura de la lignina y su biosíntesis deben ser reconsiderados.
4. En las fibras de abacá se observaron cantidades muy elevadas de ácido *p*-cumárico, que parece estar esterificado en el carbono  $\gamma$  de la cadena lateral de la lignina. En las fibras estudiadas, la mayor parte del ácido *p*-cumárico está unido a través de enlaces éster, mientras el ácido ferúlico está unido predominantemente por enlaces éter, exceptuando el sisal donde ocurre lo contrario.
5. Con respecto a la composición lipídica, las fibras de lino, kenaf y yute se caracterizan por un alto contenido en ceras de alto peso molecular, mientras las fibras de cáñamo presentan una abundancia alta en esteroides y triterpenoides. Por otro lado, los lípidos de las fibras de sisal y abacá se caracterizan por la presencia de series de ácidos hidroxicinámicos (ácido *p*-cumárico y/o ácido ferúlico) esterificados con *n*-alcoholes y  $\omega$ -hidroxiácidos de cadena larga. La serie de ésteres del ácido *p*-cumárico con  $\omega$ -hidroxiácidos es la primera vez que se describe en plantas.

6. Se ha identificado y caracterizado, por primera vez, la estructura del (RS)-2,3-dihidro-4,9-dihidroxi-8-metoxi-1-fenilfenaleno en las fibras de abacá. Este compuesto, con estructura de tipo fenilfenalenona, es una fitoalexina que se produce como respuesta a una invasión microbiana.
7. Durante la cocción alcalina, los lípidos de las fibras presentan distintos comportamientos según su estructura. Las ceras se hidrolizan y los ácidos grasos se disocian y se solubilizan mientras que los compuestos neutros (alcoholes, esteroides, triterpenoides, glicósidos, etc.) que tienen muy baja solubilidad en agua, tienden a permanecer en las pastas pudiendo dar lugar a problemas de “pitch” y problemas en el blanqueo posterior.
8. La cocción alcalina también afecta a la estructura de la lignina. Las unidades S se degradan preferentemente a las unidades G debido a su menor grado de condensación y menor potencial redox. Un cierto porcentaje de unidades G presentan enlaces C<sub>5</sub>-C<sub>5</sub> además de los correspondientes enlaces éter en C<sub>4</sub>. Este mayor promedio de enlaces por unidad y el que los enlaces C-C sean más difíciles de atacar que los enlaces éter, hace que la lignina G sea más resistente al ataque químico en general. Además, el tratamiento alcalino produjo un acortamiento de la cadena lateral de la lignina y mayores proporciones de compuestos oxidados. Los ácidos *p*-hidroxicinámicos se identificaron también en las ligninas alcalinas por Py/TMAH, aunque en menores cantidades que en las fibras, y probablemente unidos por enlaces éter ya que los enlaces éster se rompen fácilmente durante el tratamiento alcalino.

En conclusión, la caracterización química de estas fibras ofrece una valiosa información que servirá para mejorar los procesos de cocción y blanqueo de estas materias primas utilizando tecnologías menos contaminantes. Este conocimiento contribuirá a un aprovechamiento industrial sostenible de estos materiales lignocelulósicos y al desarrollo de nuevas especies de interés socioeconómico.

## **6. REFERENCIAS**





- Adler, E. 1977.** Lignin chemistry - Past, present and future. *Wood Sci. Technol.* 11, 169-218.
- Angelova, V., Ivanova, R., Delibaltova, V. e Ivanov, K. 2004.** Bio-accumulation and distribution of heavy metals in fibre crops (flax, cotton and hemp). *Ind. Crops Prod.* 19, 197-205.
- Allen, L. H. 1980.** Mechanisms and control of pitch deposition in newsprint mills. *Tappi J.* 63(2), 81-87.
- Allen, L. H. 1988.** Pitch control during the production of aspen kraft pulp. *Pulp Paper Can.* 89(10), 87-91.
- Ammalahti, E., Brunow, G., Bardet, M., Robert, D. y Kilpeläinen, I. 1998.** Identification of side-chain structures in a poplar lignin using three-dimensional HMQC-HOHAHA NMR spectroscopy. *J. Agr. Food Chem.* 46, 5113-5117.
- Anglés, M. N., Reguant, J., Martínez, J. M., Farriol, X., Montané, D. y Salvadó J. 1997.** Influence of the ash fraction on the mass balance during the summative analysis of high-ash content lignocellulosics. *Biores. Technol.* 59, 185-193.
- Aplin, R. T., Arthur, H. R. y Hui, W. H. 1966.** The structure of the triterpene simiarenol (a E:B-friedo-hop-5-ene) from the Hong Kong species of *Rhododendron simiarum*. *J. Chem. Soc (C)*, 1251-1255.
- Argai, G., Kálmár, A., Kapor, A., Ribár, B., Petrovic, S. y Gorunovic, M. 1997.** Crystal structure of a mixture of lupeol acetate tautomers isolated from *Hieracium plumulosum* A. Kerner, *Asteraceae*. *J. Mol. Struct.* 435, 169-179.
- Aue, W. P., Bartholdi E. y Ernst, R. R. 1976.** Two-dimensional spectroscopy. Application to nuclear magnetic resonance. *J. Chem. Phys.* 64, 2229-2246.
- Back, E. L. y Allen, L. H. 2000.** *Pitch control, wood resin and deresination*. TAPPI Press, Atlanta
- Baldé, A. M., Claeys, M., Pieters, L. A., Wray, V. y Vlietinck, A. J. 1991.** Ferulic acid esters from stem bark of *Pavetta owariensis*. *Phytochemistry* 30, 1024-1026.

- Banerji, N., Sen, A. K. y Das, A. K. 1982.** A new 9,19-cyclotriterpene from flowers of *Musa paradisiaca* (Banana). *Indian J. Chem.* 21B, 387-388.
- Barba, C. 2002.** Síntesis de carboximetilcelulosa (CMC) a partir de pastas de plantas anuales. Departamento de Ingeniería Química. Universidad Rovira I Virgili. Tarragona.
- Bianchi, G. 1995.** Plant waxes. In *Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions*; Hamilton, R. J., Ed., The Oily Press: Dundee, Scotland, 175-222.
- Bidlack, J., Malonge, M. y Benson, R. 1992.** Molecular structure and component integration of secondary cell walls in plants. *Proceedings of the Oklahoma. Academy of Science* 72, 51-56.
- Binks, R. H., Greenham, J. R., Luis, J. G. y Gowen, S. R. 1997.** A phytoalexin from roots of *Musa acuminata* var. Pisang Sipulu. *Phytochemistry* 45, 47-49.
- Botello, J. I., Gilarranz, M. A, Rodríguez, F y Oliet, M. 1999.** Preliminary study on products distribution in alcohol pulping of *Eucalyptus globulus*. *J Chem Technol Biotechnol.* 74, 141-148.
- Bowyer, J. L. 2001.** Industrial Hemp (*Cannabis sativa L.*) as a papermarking raw material in Minnesota: Technical, economic, and environmental considerations. Department of Wood & Paper Science, University of Minnesota. [www.cnr.umn.edu/BP/publications/hemp.pdf](http://www.cnr.umn.edu/BP/publications/hemp.pdf)
- Brooks, R. T., Edwards, L. L., Nepote, J. C. y Caldwell, M. R. 1994.** Bleach plant closeup and conversion to TCF: A case study using mill data and computer simulation. *Tappi J.* 77, 83-92.
- Buckley, S. A., Stott, A. W. y Evershed, R. P. 1999.** Studies of organic residues from ancient Egyptian mummies using high temperature-gas chromatography-mass spectrometry and sequential thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry and pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *Analyst*, 124, 443-452.
- Budzikiewicz, H., Wilson, J. M. y Djerassi, C. 1963.** Mass spectrometry in structural and stereochemical problem. XXXII. Pentacyclic triterpenes. *J. Am. Chem. Soc.* 85, 3688-3699.

- Bunzel, M., Ralph, J., Marita, J. M., Hatfield, R. D. y Steinhart, H. 2001.** Diferulates as structural components in soluble and insoluble cereal dietary fibre. *J. Sci. Food Agr.* 81, 653-660.
- Camarero, S., Bocchini, P., Galletti, G. C. y Martínez, A. T. 1999.** Pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry analysis of phenolic and etherified units in natural and industrial lignins. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 13, 630-636.
- Challinor, J. M. 1995.** Characterization of wood by pyrolysis derivatization-gas chromatography/mass spectrometry. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 35, 93-107.
- Chang, H. -M. y Sarkanen, K. V. 1973.** Species variation in lignin: effect of species on the rate of kraft delignification. *Tappi J.* 56(3), 132-134.
- Chang, S. -J., Lin, T. -H. y Chen, C. -C. 2001.** Constituents from the stems of *Dendrobium clavatum* var. *Aurantiacum*. *J. Chin. Med.* 12, 211-218.
- Chefetz, B., Chen, Y., Clapp, C. E. y Hatcher, P. G. 2000.** Characterization of organic matter in soils by thermochemolysis using tetramethylammonium hydroxide (TMAH). *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, 583-589.
- Chen, C. -L. 1992.** Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Methods in Lignin Chemistry*, Lin, S. Y., Dence, C. W., Eds., Springer-Verlag: Berlin.
- Chen, T., Wang, Z., Zhou, Y., Breuil, C., Aschim, O. K., Yee, E. y Nadeau, L. 1995.** Using solid-phase extraction to assess why aspen causes more pitch problems than softwoods in kraft pulping. *Tappi J.* 78(10), 143-149.
- Choi, J. W., Faix, O. y Meier, D. 2002.** Characterization of residual lignins from chemical pulps of spruce (*Picea abies* L.) and beech (*Fagus sylvatica* L.) by analytical pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry. *Holzforschung* 55, 185-192.
- Christie, W. W. 1994.** *Gas Chromatography and Lipids*. The Hannah Research Institute, Dandee, Scotland DD5-IPJ.
- Clifford, D. J., Carson, D. M., McKinney, D. E., Bortiatynski, J. M. y Hatcher, P. G. 1995.** A new rapid technique for the characterization of lignin in vascular plants: Thermochemolysis with tetramethylammonium hydroxide (TMAH). *Org. Geochem.* 23, 169-175.

- Cooke, R. G. y Edwards, J. M. 1981.** Naturally occurring phenalenones and related compounds. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* 40, 153–190.
- Correia, S. J., David, J. P. y David, J. M. 2003.** Constituintes das cascas de *Tapira guianensis* (Anacardiaceae). *Quim. Nova* 26, 36-38.
- Crestini, C. y Argyropoulos, D. S. 1997.** Structural analysis of wheat straw lignin by quantitative  $^{31}\text{P}$  and 2D NMR spectroscopy. The occurrence of ester bonds and  $\alpha$ -O-4 substructures. *J. Agr. Food Chem.* 45, 1212-1219.
- DeJongh, D. C., Radford, T., Hribar, J. D., Hanessian, S., Bieber, M., Dawson, G. y Sweeley, C. C. 1969.** Analysis of trimethylsilyl derivatives of carbohydrates by gas chromatography and mass spectrometry. *J. Am. Chem. Soc.* 91(7), 1728-1740.
- del Río, J. C., Martín, F. y González-Vila, F. J. 1996.** Thermally assisted hydrolysis and alkylation as a novel pyrolytic approach for the structural characterization of natural biopolymers and geomacromolecules. *Trends Anal. Chem.* 15, 70-79.
- del Río, J. C., Gutiérrez, A., González-Vila, F. J., Martín, F. y Romero, J. 1998a.** Characterization of organic deposits produced in the kraft pulping of *Eucalyptus globulus* wood. *J. Chromatogr. A* 823, 457-465.
- del Río, J. C., McKinney, D. E., Knicker, H., Nanny, M. A., Minard, R. D. y Hatcher, P. G. 1998b.** Structural characterization of bio- and geomacromolecules by off-line thermochemolysis with tetramethylammonium hydroxide. *J. Chromatogr. A* 823, 433-448.
- del Río, J. C., Romero, J. y Gutiérrez, A. 2000.** Analysis of pitch deposits produced in kraft pulp mills using totally chlorine free bleaching sequences. *J. Chromatogr. A* 874, 235-245.
- del Río, J. C., Gutiérrez, A., Martínez, M. J. y Martínez, A. T. 2001a.** Py-GC/MS study of *Eucalyptus globulus* wood treated with different fungi. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 58/59, 441-453.
- del Río, J. C., Gutiérrez, A., Romero, J., Martínez, M. J. y Martínez, A. T. 2001b.** Identification of residual lignin markers in eucalypt kraft pulps by Py-GC/MS. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 58/59, 425-433.

- del Río, J. C., Gutiérrez, A., Camarero, S. y Martínez, A. T. 2001c.** Lignin and hemicellulose analysis during manufacturing of high-quality flax and kenaf alkaline pulps. *Proc. 11th ISWPC*, Nice, 11-14 June.
- del Río, J. C., Speranza, M., Gutiérrez, A., Martínez, M. J. y Martínez, A. T. 2002.** Lignin attack during eucalypt wood decay by selected basidiomycetes: A Py-GC/MS study. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 64, 421-431.
- del Río, J. C., Gutiérrez, A., Hernando, M., Landín, P., Romero, J. y Martínez, A. T. 2005.** Determining the influence of eucalypt lignin composition in paper pulp yield using Py-GC/MS. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 74, 110-115.
- Dumazer, M., Farines, M. y Soulier, J. 1986.** Identification de stérols par spectrométrie de masse. *Rev. Fr. Corps. Gras.* 4, 151-156.
- Dunlop-Jones, N., Jialing, H. y Allen, L. H. 1991.** An analysis of the acetone extractives of the wood and bark from fresh trembling aspen: Implications for deresination and pitch control. *J. Pulp Paper Sci.* 17(2), J60-J66.
- Effland, M. J. 1977.** Modified procedure to determine acid-insoluble lignin in wood and pulp. *Tappi J.* 6(10), 143-144.
- Ekman, R. y Holmbom, B. 2000.** The chemistry of wood resin. In *Pitch Control, Wood Resin and Deresination*, Eds. Back, E. L., Allen, L.H. Tappi Press, Atlanta, 37-76.
- Elder, T. 1991.** Pyrolysis of Wood. In *Wood and Cellulosic Chemistry*. Hon, D. N. S., Shiraishi, N., Eds., Marcel Dekker, N.Y.
- Evershed, R. P., Spooner, N., Prescott, M. C. y Goad, L. J. 1988.** Isolation and characterization of intact steryl ferulates from seeds. *J. Chromatogr. A.* 440, 23-35.
- Evershed, R. P., Prescott, M. C., Spooner, N. y Goad, L. J. 1989.** Negative ion ammonia chemical ionization and electron impact ionization mass spectrometric analysis of steryl fatty acyl esters. *Steroids* 53, 285-309.
- Fabbri, D. y Helleur, R. 1999.** Characterization of the tetramethylammonium hydroxide thermochemolysis products of carbohydrates. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 49, 277-293.

- Faix, O., Meier, D. y Fortmann, I. 1990.** Thermal degradation products of wood. A collection of electron-impact (EI) mass spectra of monomeric lignin derived products. *Holz Roh-Werkstoff* 48, 351-354.
- F.A.O. 2006.** Base de datos de la FAO "FAOSTAT". <http://apps.fao.org/>.
- Fengel, D. y Wegener, G. 1984.** Wood: Chemistry, ultrastructure, reactions. De Gruyter, Berlin.
- Fergus, B. J. y Goring, D. A. 1969.** Species variation in lignin. effect of species on the rate of kraft delignification. *Pulp Pap. Mag. Can.* 19, 314.
- Filley, T. R., Minard, R. D. y Hatcher, P. G. 1999.** Tetramethylammonium hydroxide (TMAH) thermochemolysis: Proposed mechanisms based upon the application of <sup>13</sup>C-labeled TMAH to a synthetic model lignin dimer. *Org. Geochem.* 30, 607-621.
- Freire, C. S. R., Silvestre, A. J. D. y Neto, C. P. 2002.** Identification of new hydroxy fatty acids and ferulic acid esters in the wood of *Eucalyptus globulus*. *Holzforschung* 56, 143-149.
- Galkin, S., Ammalahti, E., Kilpeläinen, I., Brunow, G. y Hatakka, A. 1997.** Characterization of milled wood lignin from reed canary grass (*Phalaris arundinacea*). *Holzforschung* 51, 130-134.
- Galletti, G. C., Bocchini, P., Guadalix, M. E., Almendros, G., Camarero, S. y Martínez, A. T. 1997.** Pyrolysis products as markers in the chemical characterization of paperboards from waste paper and wheat straw pulps. *Biores. Technol.* 60, 51-58.
- García Hortal, J. A. 1993.** Características morfológicas de las fibras naturales no madereras. *Constituyentes fibrosos de pastas y papeles*. Ed Etseit, Terrassa, 85-127.
- García Hortal, J. A. y Colom, J. F. 1992.** El proceso al sulfato. Vol. I. Universitat Politècnica de Catalunya, Terrassa (España).
- Gierer, J. y Lindeberg, O. 1980.** Reactions of lignin during sulfate pulping. XIX. Isolation and identification of new dimers from a spent sulfate liquor. *Acta Chem. Scand. B* 34, 161-170.
- González-Vila, F. J., Almendros, G., del Río, J. C., Martín, F., Gutiérrez, A. y Romero, J. 1999.** Ease of delignification assesment of wood from different

*Eucalyptus* species by pyrolysis (TMAH)-GC/MS and CP/MAS <sup>13</sup>C-NMR spectrometry. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 49, 295-305.

- Grabber, J. H., Quideau, S. y Ralph, J. 1996.** *p*-Coumaroylated syringyl units in maize lignin: Implications for  $\beta$ -ether cleavage by thioacidolysis. *Phytochemistry* 43, 1189-1194.
- Grabber, J. H., Ralph, J. y Hatfield, R. D. 2000.** Cross-linking of maize walls by ferulate dimerization and incorporation into lignin. *J. Agr. Food Chem.* 48, 6106-6113.
- Graça, J. y Pereira, H. 1998.** Feruloyl esters of  $\omega$ -hydroxyacids in cork suberin. *J. Wood Chem. Technol.* 18, 207-217.
- Greca, M. D., Lanzetta, R., Molinaro, A., Monaco, P. y Previtiera, L. 1992.** Phenalene metabolites from *Eichhornia crassipes*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2, 311-314.
- Gutiérrez, A., del Río, J. C., González-Vila, F. J. y Martín, F. 1998.** Analysis of lipophilic extractives from wood and pitch deposits by solid-phase extraction and gas chromatography. *J. Chromatogr. A* 823, 449-455.
- Gutiérrez A., del Río J. C., González-Vila, F. J. y Martín, F. 1999.** Chemical composition of lipophilic extractives from *Eucalyptus globulus* Labill. wood. *Holzforschung* 53, 481-486.
- Gutiérrez, A. y del Río, J. C. 2001.** Gas chromatography/mass spectrometry demonstration of steryl glycosides in eucalypt wood, kraft pulp and process liquids. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 15, 2515-2520.
- Gutiérrez, A., Romero, J. y del Río, J. C. 2001a.** Lipophilic extractives from *Eucalyptus globulus* pulp during kraft cooking followed by TCF and ECF bleaching. *Holzforschung* 55, 260-264.
- Gutiérrez, A., Romero, J. y del Río, J. C. 2001b.** Lipophilic extractives in process waters during manufacturing of totally chlorine free kraft pulp from eucalypt wood. *Chemosphere* 44, 1237-1242.
- Gutiérrez, A., del Río, J. C., Martínez, M. J. y Martínez, A. T. 2001c.** The biotechnological control of pitch in paper pulp manufacturing. *Trends Biotechnol.* 19(9), 340-348.

- Gutiérrez, A. y del Río J. C. 2003a.** Lipids from flax and their fate in alkaline pulping. *J. Agr. Food Chem.* 51, 4965-4971.
- Gutiérrez, A. y del Río, J. C. 2003b.** Correction to Lipids from flax fibers and their fate in alkaline pulping. *J. Agric. Food Chem.* 51, 6911-6914.
- Gutiérrez, A., Rodríguez, I. M. y del Río, J. C. 2004.** Chemical characterization of lignin and lipid fractions in kenaf bast fibers used for manufacturing high-quality papers. *J. Agr. Food Chem.* 52, 4764-4773.
- Gutiérrez, A. y del Río J. C. 2005.** Chemical characterization of pitch deposits produced in the manufacturing of high-quality paper pulps from hemp fibers. *Biores. Technol.* 96(13), 1445-1450.
- Han, J. S. 1998.** Properties of Nonwood Fibers. Proceedings of the Korean society of wood science and technology annual meeting.
- Hasan, C. M., Islam, A., Ahmed, M., Ahmed, M. -D. y Waterman, P. G. 1984.** Capsugenin, a dammarane triterpene from *Corchorus capsularis*. *Phytochemistry* 23(11), 2583-2588.
- Henry, R. J. y Harris, P. J. 1997.** Molecular distinction between monocotyledons and dicotyledons: More than a simple dichotomy. *Plant. Mol. Biol. Reporter* 15, 216-218.
- Hillis, W. E. 1962.** *Wood extractives*. Academic Press, London.
- Hillis, W. E. y Sumimoto, M. 1989.** Effect of extractives on pulping. In *Natural Products of Woody Plants II*, Rowe, J.W., Ed., Springer-Verlag, Berlin, 880-920.
- Higuchi, T. 1997.** *Biochemistry and Molecular Biology of Wood*. Springer Verlag, London.
- Hisham, A., Ajitha Bai, M. D., Fujimoto, Y., Hara, N. y Shimada, H. 1996.** Complete  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectral assignment of cabraleadiol, dammarane triterpene from *Dysoxylum malabaricum* Bedd. *Magnet. Reson. Chem.* 34, 146-150.
- Hölscher, D. y Schneider, B. 1999.** HPLC-NMR analysis of phenylphenalenones and a stilbene from *Anigozanthos flavidus*. *Phytochemistry* 50(1), 155-161.
- Hölscher, D. y Schneider, B. 2000.** Phenalenones from *Strelitzia reginae*. *J. Nat. Products* 63, 1027-1028.



- Holton, H. H. 1977.** Soda additive softwood pulping: A major new process. *Pulp Paper Can.* 78, T218.
- Hunsigi, G. 1989.** Agricultural fibres for paper pulp. *Outlook of agriculture* 18(3), 96-103.
- Jiménez, L., Ramos, E., Rodríguez, A., De la Torre, M. J. y Ferrer, J. L. 2005.** Optimization of pulping conditions of abaca. An alternative raw material for producing cellulose pulp. *Biores. Technol.* 96(9), 977-983.
- Kaldor, A. F., Karlgren, C. y Verwest, H. 1990.** Kenaf - a fast growing fiber source for papermaking. *Tappi J.* 78, 205-209.
- Kamo, T., Kato, N., Hirai, N., Tsuda, M., Fujioka, D. y Ohigashi, H. 1998.** Phenylphenalenone-type phytoalexins from unripe Buñgulan banana fruit. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62, 95-101.
- Kamo, T., Hirai, N., Tsuda, M., Fujioka, D. y Ohigashi, H. 2000.** Changes in the content and biosynthesis of phytoalexins in banana fruit. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64, 2089-2098.
- Karhunen, P., Rummakko, P., Sipila, J., Brunow, G. y Kilpeläinen, I. 1995.** The formation of dibenzodioxocin structures by oxidative coupling. A model reaction for lignin biosynthesis. *Tetrahedron Lett.* 36, 4501-4504.
- Kawanishi, K. y Hashimoto, Y. 1987.** Long chain esters of *Virola* species, *Phytochemistry* 26, 749-752.
- Kelley, S. S, Rowell, R. M., Davis, M., Jurich, C. K. e Ibach, R. 2004.** Rapid analysis of the chemical composition of agricultural fibers using near infrared spectroscopy and pyrolysis molecular beam mass spectrometry. *Biomass Bioenerg.* 27(1), 77-88.
- Khristova, P., Kordsachia, O., Patt, R., Khider, T. y Karrar, I. 2002.** Alkaline pulping with additives of kenaf from Sudan. *Ind. Crops Prod.* 15(3), 229-235.
- Kleen, M. y Gellerstedt, G. 1991.** Characterization of chemical and mechanical pulps by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 19, 139-152.
- Knapp, F. F. y Nicholas, H. J. 1969.** The distribution of sterols and sterol esters in the banana plant. *Phytochemistry* 8(10), 2091-2093.

- Kuroda, K., Ozawa, T. y Ueno, T. 2001.** Characterization of sago palm (*Metroxylon sagu*) lignin by analytical pyrolysis. *J. Agr. Food Chem.* 49, 1840-1847.
- Kuroda, K., Izumi, A., Mazumder, B. B., Ohtani, Y. y Sameshima, K. 2002a.** Characterization of kenaf (*Hibiscus cannabinus*) lignin by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry in the presence of tetramethylammonium hydroxide. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 64, 453-463.
- Kuroda, K., Nishimura, N., Izumi, A. y Dimmel, D. R. 2002b.** Pyrolysis of lignin in the presence of tetramethylammonium hydroxide: A convenient method for S/G ratio determination. *J. Agr. Food Chem.* 50, 1022-1027.
- Lai, Y. Z. y Sarkanen, K. V. 1971.** Isolation and structural studies. In *Lignins, Occurrence, Formation, Structure and Reactions*; Sarkanen, K. V., Ludwig, C. H., Eds., Wiley-Interscience: New York, 165-240.
- Lam, T. B. T., Iiyama, K. y Stone, B. A. 1992.** Cinnamic acid bridges between cell wall polymers in wheat and *Phalaris* internodes. *Phytochemistry* 31, 1179-1183.
- Lam, T. B. T., Kadoya, K. e Iiyama, K. 2001.** Bonding of hydroxycinnamic acids to lignin: Ferulic and *p*-coumaric acids are predominantly linked at the benzyl position of lignin, not the  $\beta$ -position, in grass cell walls. *Phytochemistry* 57, 987-992.
- Lauer, W. M., Aasen, A. J., Graff, G. y Holman, R. T. 1970.** Mass Spectrometry of Triglycerides: I. Structural Effects. *Lipids* 5(11), 861-868.
- Lewin, M. y Pearce, E. M. 1998.** *Handbook of fiber chemistry*. Marcel Dekker, Inc.: New York.
- Leone, R. y Breuil, C. 1998.** Filamentous fungi can degrade aspen steryl esters and waxes. *Int. Biodeter. Biodegr.* 41, 133-137.
- Lin, S. Y. y Dence, C. W. 1992.** *Methods in Lignin Chemistry*, Springer-Verlag: Berlin.
- Lozovaya, V. V., Gorshkova, T. A., Yablokova, E. V., Rumyantseva, N. I., Valieva, A., Ulanov, A. y Widholm, J. M. 1999.** Cold alkali can extract phenolic acids that are ether linked to cell wall components in dicotyledonous plants (buckwheat, soybean and flax). *Phytochemistry* 50, 395-400.

- Lu, F. C. y Ralph, J. 1997.** DFRC method for lignin analysis. 1. New method for  $\beta$ -aryl ether cleavage: Lignin model studies. *J. Agr. Food Chem.* 45, 4655-4660.
- Lu, F. C. y Ralph, J. 1999.** Detection and determination of *p*-coumaroylated units in lignins. *J. Agr. Food Chem.* 47, 1988-1992.
- Lu, F. C. y Ralph, J. 2002.** Preliminary evidence for sinapyl acetate as a lignin monomer in kenaf. *Chem. Commun.*, 90-91.
- Luis, J. G., Echeverri, F., Quiñones, W., Brito, I., López, M., Torres, F., Cardona, G., Aguiar, Z. y Rojas, M. 1993.** Irenolone and emenolone — two new types of phytoalexin from *Musa paradisiaca*. *J. Org. Chem.* 58, 4306–4308.
- Luis, J. G., Fletcher, W. Q., Echeverri, F. y Grillo, T. A. 1994.** Phenalenone-type phytoalexins from *Musa acuminata* synthesis of 4-phenylphenalenones. *Tetrahedron* 50(37), 10963-10970.
- Luis, J. G., Fletcher, W. Q., Echeverri, F., Grillo, T. A., Perales, A. y González, A. 1995.** Intermediates with biosynthetic implications in de novo production of phenyl-phenalenone-type phytoalexins by *Musa acuminata*. Revised structure of emenolone. *Tetrahedron* 51, 4117–4130.
- Luis, J. G., Quiñones, W., Echeverri, F., Grillo, T. A., Kishi, M., García-García, F., Torres, F. y Cardona, G. 1996.** Musanolones: four 9-phenylphenalenones from rhizomes of *Musa acuminata*. *Phytochemistry* 41,753–757.
- Lusby, W. R., Thompson, M. J. y Kochansky, J. 1984.** Analysis of sterol esters by capillary gas chromatography-electron impact and chemical ionization – mass spectrometry. *Lipids* 19(11), 888-901.
- Macmillan, W. G., Sen Gupta, A. B. y Roy, A. 1956.** A comparative study of some chemical characteristics of jute and hibiscus fibres. *J. Indian Chem. Soc.* 33, 49-53.
- Martín, F., Saiz-Jiménez, C. y González-Vila, F. J. 1979.** Pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry of lignins. *Holzforschung* 33, 210-212.
- Martín, F., del Río, J. C., González-Vila, F. J. y Verdejo, T. 1995.** Thermally assisted hydrolysis and alkylation of lignins in the presence of tetraalkylammonium hydroxides. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 35, 1-13.

- Martínez, A. T., González, A. E., Prieto, A., González-Vila, F. J. y Fründ, R. 1991.** *p*-Hydroxyphenyl: guaiacyl: syringyl ratio of lignin in some Austral hardwoods estimated by CuO-oxidation and solid state NMR. *Holzforschung* 45, 279-284.
- Mazumder, B. B., Nakgawa-Izumi, A., Kuroda, K., Ohtani, Y. y Sameshima, K. 2005.** Evaluation of harvesting time effects on kenaf bast lignin by pyrolysis-gas chromatography. *Ind. Crops Prod* 21(1), 17-24.
- McDougall, G. J., Morrison, I. M., Stewart, D., Weyers, J. D. B. y Hillman, J. R. 1993.** Plant fibres: Botany, chemistry and processing for industrial use. *J. Sci. Food Agric.* 62, 1–20.
- Meier, D. y Faix, O. 1992.** Pyrolysis-Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *In Methods in Lignin Chemistry.* Lin, S. Y., Dence, C. W., Eds., Springer-Verlag: Berlin.
- Moldovan, Z., Jover, E. y Bayona, J. M. 2002.** Systematic characterization of long-chain aliphatic esters of wool wax by gas chromatography-electron impact ionisation mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 952, 193-204.
- Moore, G. 1996.** *Nonwood Fibre Applications in Papermaking*; Pira International, Leatherhead, Surrey, UK.
- Morrison, W. H. III. y Archibald, D. D. 1998.** Analysis of graded flax fiber and yarn by pyrolysis mass spectrometry and pyrolysis gas chromatography mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 46, 1870-1876.
- Morrison, W. H. III., Akin, D. E., Archibald, D. D., Dodd, R. B. y Raymer, P. L. 1999a.** Chemical and instrumental characterization of maturing kenaf core and bast. *Ind. Crops Prod.* 10, 21-34.
- Morrison, W. H. III., Akin, D. E., Himmelsbach, D. S. y Gamble, G. R. 1999b.** Chemical, microscopic, and instrumental analysis of graded flax fibre and yarn. *J. Sci. Food Agric.* 79, 3-10.
- Morrison, W. H. III. y Akin, D. E. 2001.** Chemical composition of components comprising bast tissue in flax. *J. Agric. Food Chem.* 49, 2333-2338.
- Mosihuzzaman, M., Theander, O. y Áman, P. 1982.** Analysis of carbohydrates in the jute plant (*Corchorus capsularis*). *J. Sci. Food Agric* 33, 1207-1212.

- Nakamura, N., Kojima, S., Lim, Y. A., Meselhy, M. R., Hattori, M., Gupta, M. P., y Correa, M. 1997.** Dammarane-type triterpenes from *Cordia spinescens*. *Phytochemistry* 46(6), 1139-1141.
- Neto, C. P., Seca, A. M. L., Fradinho, D., Coimbra, M. A., Domingues, F. M. J., Evtuguin, D., Silvestre, A. J. D. y Cavaleiro, J. A. S. 1996.** Chemical composition and structural features of the macromolecular components of *Hibiscus cannabinus* grown in Portugal. *Ind. Crops Prod.* 5, 189-196.
- Neuhaus, D. y Williamson, M. P. 1989.** *The Nuclear Overhauser effect in structural and conformational analysis*. V.C.H. Publishers, New York.
- Nilvebrant, N.-O. y Byström, S. 1995.** Demonstration of glucosidic linked sterols in birch. In *Proceedings of the 8th International Symposium on Wood and Pulping Chemistry*, Helsinki, 135-140.
- Niemann, G. J., Pureveen, J. B. M., Eijkel, G. B., Poorter, H. y Boon, J. J. 1992.** Differences in relative growth rate in 11 grasses correlate with differences in chemical composition as determined by pyrolysis mass spectrometry. *Oecologia* 89, 567-573.
- Niemelä, K. 1989.** Identification of *O*- $\alpha$ -D-galactopyranosylsaccharinic acids as their trimethylsilyl derivatives by mass spectrometry. *Carbohydr. Res.* 194, 37-47.
- Nimz, H. 1974.** Beech lignin- Proposal of a constitutional scheme. *Angew. Chem. Int. Edit.* 13, 313-321.
- Nishimura, N., Izumi, A. y Kuroda, K. 2002.** Structural characterization of kenaf lignin: Differences among kenaf varieties. *Ind. Crops Prod.* 15, 115-122.
- Ogunkoya, I. 1981.** Application of mass spectrometry in structural problems in triterpenes. *Phytochemistry* 20(1), 121-126.
- Örsa, F. y Holmbom, B. 1994.** A convenient method for the determination of wood extractives in papermaking process waters and effluents. *J. Pulp Paper Sci.* 20(12), 361-366.
- Pande, H. y Roy, D. N. 1998.** Influence of fibre morphology and chemical composition on the papermaking potential of kenaf fibres. *Pulp Paper Can.* 99(11), 31-34.

- Peng, G. M. y Roberts, J. C. 2000.** Solubility and toxicity of resin acids. *Water Res.* 34, 2779-2785.
- Peralta, A. G. 1995.** Pulp produced from decorticated abaca fiber. *Tappi J.* 79(3), 263-266.
- Pouwels, A. D., Tom, A., Eijkel, G. B. y Boon, J. J. 1987.** Characterization of beech wood and its holocellulose and xylan fractions by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 11, 417-436.
- Pouwels, A. D., Eijkel, G. B. y Boon, J. J. 1989.** Curie-point pyrolysis-capillary gas chromatography-high-resolution mass spectrometry of microcrystalline cellulose. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 14, 237-280.
- Quader, M. A. y Ahmed, M. -D. 1987.** Capsugenin 30-*O*- $\beta$ -diglucoopyranoside: A new glycoside from the leaves of *Corchorus capsularis*. *J. Nat. Products* 50(3), 479-481.
- Quader, M. A., Gray, A. I. y Waterman, P. G. 1990.** Capsugenin 25,30-*O*- $\beta$ -diglucoopyranoside: A new glycoside from the leaves of *Corchorus capsularis*. *J. Nat. Products* 53(2), 527-530.
- Qiu, S. -X., van Hung, N., Xuan, L. T., Gu, J. -Q., Lobkovsky, E., Khanh, T. C., Soejarto, D. D., Clardy, J., Pezzuto, J. M., Dong, Y., Tri, M. V., Huong, L. M. y Fong, H. H. S. 2001.** A pregnane steroid from *Aglaia lawii* and structure confirmation of cabraleadiol monoacetate by X-ray crystallography. *Phytochemistry* 56(7), 775-780.
- Ralph, J. y Hatfield, R. D. 1991.** Pyrolysis-GC/MS characterization of forage materials. *J. Agr. Food Chem.* 39, 1426-1437.
- Ralph, J., Hatfield, R. D., Quideau, S., Helm, R. F., Grabber, J. H. y Jung, H. - J. G. 1994.** Pathway of *p*-coumaric acid incorporation into maize lignin as revealed by NMR. *J. Chem. Soc.* 34, 1-12.
- Ralph, J. 1996.** An unusual lignin from kenaf. *J. Nat. Products* 59, 341-342.
- Ralph, J. y Lu, F. C. 1998.** The DFRC method for lignin analysis. 6. A simple modification for identifying natural acetates on lignins. *J. Agr. Food Chem.* 46, 4616-4619.

- Roux, D., Martin, M. -T., Adelinec, M. -T., Sevenec, T., Hadib, A. H. A. y Païsc, M. 1998.** Foveolins A and B, dammarane triterpenes from *Aglaia foveolata*. *Phytochemistry* 49(6), 1745-1748.
- Rowe, J. W. 1989.** Natural Products of Woody Plants. I and II. *Chemicals Extraneous to the Lignocellulosic Cell Wall*. Springer-Verlag, Berlin.
- Rowell, R. M. y Stout, H. P. 1998.** *Handbook of Fiber Chemistry*. 2nd edition. Eds Lewin M y Pearce E.M. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Sabharwal, H. S., Akhtar, M., Blanchette, R. A. y Young, R. A. 1994.** Biomechanical pulping of kenaf. *Tappi J.* 77(12), 105-112.
- Saijonkari-Pabkala, K. 2001.** Non-wood plants as raw material for pulp and paper. MTT Agrifood Research Finland. Plant Production Research.
- Sain, M. y Fortier, D. 2002.** Flax shives refining, chemical modification and hydrophobisation for paper production. *Ind. Crops Prod.* 15, 1-13.
- Saiz-Jiménez, C., Boon, J. J., Hedges, J. I., Hessels, J. K. C. y de Leeuw, J. W. 1987.** Chemical characterization of recent and buried woods by analytical pyrolysis. Comparison of pyrolysis data with  $^{13}\text{C}$  NMR and wet chemical data. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 11, 437-450.
- Santoro, J. y King, C. G. 1992.** A constant-time 2D overbodenhausen experiment for inverse correlation of isotopically enriched species. *J. Magn. Reson.* 97(1), 202-207.
- Scalbert, A., Monties, B., Lallemand, J. -Y., Guittet, E. y Rolando, C. 1985.** Ether linkage between phenolic acids and lignin fractions from wheat straw. *Phytochemistry* 24, 1359-1362.
- Sharkey, A. G. Jr., Shultz, J. L., Friedel, R. A. 1959.** Mass spectra of esters. Formation of rearrangement ions. *Anal. Chem.* 31, 87-94.
- Schöning, A. G. y Johansson, G. 1965.** Absorptiometric determination of acid-soluble lignin in semichemical bisulfite pulps and in some woods and plants. *Svensk papperstid* 68(18), 607-613.
- Schulten, H. R. y Gortz, W. 1978.** Curie-point pyrolysis and field ionization mass spectrometry of polysaccharides. *Anal. Chem.* 50, 428-433.
- Seca, A. M. L., Cavaleiro, J. A. S., Domingues, F. M. J., Silvestre, A. J. D., Evtuguin, D. y Neto, C. P. 1998.** Structural characterization of the bark

- and core lignins from kenaf (*Hibiscus cannabinus*). *J. Agric. Food Chem.* 46, 3100-3108.
- Seca, A. M. L., Silva, A. M. S., Silvestre, A. J. D., Cavaleiro, J. A. S., Domingues, F. M. J. y Neto, C. P. 2000.** Chemical composition of the light petroleum extract of *Hibiscus cannabinus* bark and core. *Phytochem. Anal.* 11, 345-350.
- Sederoff, R. R., MacKay, J. J., Ralph, J. y Hatfield, R. D. 1999.** Unexpected variation in lignin. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2(2), 145-152.
- Serés-Aspax, A., Alcañiz-Baldellou, J. M. y Gassiot-Matas, M. 1985.** Application of pyrolysis-gas chromatography to the study of the composting process of barley straw and pear-tree wood. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 8, 415-426.
- Shimizu, K. 2001.** Chemistry of hemicelluloses; in: *Wood and Cellulosic Chemistry*. 2nd edition, Eds. D.N.-S. Hon, N. Shiraishi, Marcel Dekker Inc., New York, USA, 177-214.
- Sitholé, B. B., Sullivan, J. L. y Allen, L. H. 1992.** Identification and quantitation of acetone extractives of wood and bark by ion exchange and capillary GC with a spreadsheet program. *Holzforschung* 46(5), 409-416.
- Sjöstrom, E. 1993.** *Wood Chemistry Fundamentals and Applications*. 2nd edition, Academic Press, San Diego, USA, 90-109.
- Streitwieser, A. Jr. y Heathcock, C. H. 1983.** *Química Orgánica*. 3ª edición. Importecnica, S.A. 726-730.
- Ström, G. 2000.** Physico-chemical properties and surfactant behavior. In *Pitch Control, Wood Resin and Deresination*, Eds. Back, E. L., Allen, L.H. Tappi Press: Atlanta, 139-149.
- Struik, P. C., Amaducci, S., Bullard, M. J., Stutterheim, N. C., Venturi, G. y Cromack, H. T. H. 2000.** Agronomy of fibre hemp (*Cannabis sativa L.*) in Europe. *Ind. Crops Prod.* 11, 107-118.
- Summers, M. F., Bax, A. y Marzilli, L. G. 1986.** Complete <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C assignment of coenzyme B12 through the use of new two-dimensional NMR experiments. *J. Am. Chem. Soc.* 108, 4285-4294.



- Sun, R., Lawther, J. M. y Banks, W. B. 1997.** A tentative chemical structure of wheat straw lignin. *Ind. Crop. Prod.* 6, 1-8.
- Sun, R. C., Sun, X. F. y Zhang, S. H. 2001.** Quantitative determination of hydroxycinnamic acids in wheat, rice, rye, and barley straws, maize stems, oil palm frond fiber, and fast-growing poplar wood. *J. Agr. Food Chem.* 49, 5122-5129.
- Sun, R. C., Sun, X. F., Wang, S. Q., Zhu, W. y Wang, X. Y. 2002.** Ester and ether linkages between hydroxycinnamic acids and lignins from wheat, rice, rye, and barley straws, maize stems, and fast-growing poplar wood. *Ind. Crop. Prod.* 15, 179-188.
- Suzuki, S., Lam, T. B. T. e Iiyama, K. 1997.** 5-Hydroxyguaiacyl nuclei as aromatic constituents of native lignin. *Phytochemistry* 46(4), 695-700.
- Swan, E. P. 1989.** Health hazards associated with extractives, p. 931-952. In J. W. Rowe (ed.), *Natural products of woody plants II*. Springer-Verlag.
- Swan, B. 1967.** Extractives of unbleached and bleached prehydrolysis-kraft pulp from *Eucalyptus globulus*. *Svensk Papperstidn.* 70, 616-619.
- Swarzinger, C. 2002.** *Thermally assisted hydrolysis and methylation of carbohydrates and related materials*, Univ. Johannes Kepler (PhD thesis): Linz, Austria.
- Talapatra, S. K., Sengupta, S. y Talapatra, B. 1968.** A pentacyclic triterpene alcohol from *Evodia fraxinipolia* Hook F.1,2. *Tetrahedron Letters* 57, 5963-5968.
- Tulloch, A. P. 1976.** Chemistry of waxes of higher plants. In: *Chemistry and Biochemistry of Natural Waxes*, Kolattukudy, P. E. Ed., Elsevier, Amsterdam, 236-252.
- U. S. Department of Agriculture 2000.** Industrial hemp in the United States : Status and market potencial.  
[www.ers.usda.gov/publications/ages001E/ages001E.pdf](http://www.ers.usda.gov/publications/ages001E/ages001E.pdf)
- van Dam, J. E. G., van Vilsteren, G. E. T., Zomers, F. H. A., Shannon, W. B. y Hamilton, I. T. 1994.** *Increased application of domestically produced plant fibres in textiles, pulp and paper production and composite materials*, European Commission, DG XII, Science Research and Development: Brussels.

- Vane, C. H. 2003.** The molecular composition of lignin in spruce decayed by white-rot fungi (*Phanerochaete chrysosporium* and *Trametes versicolor*) using pyrolysis-GC-MS and thermochemolysis with tetramethylammonium hydroxide. *Int. Biodeter. Biodegr.* 51, 67-75.
- van der Doelen, G. A., van den Berg, K. J., Boon, J. J., Shibayama, N. E., de la Rie, R. y Genuit, W. J. L. 1998.** Analysis of fresh triterpenoid resins and aged triterpenoid varnishes by high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionisation (tandem) mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 809, 21-37.
- Vantreese, V. L. 1998.** Industrial Hemp: Global operations local implications. University of Kentucky, Department of Agricultural Economics, Lexington. [www.uky.edu/Ag/AgEcon/pubs/res\\_other/hemp98.pdf](http://www.uky.edu/Ag/AgEcon/pubs/res_other/hemp98.pdf)
- Vilegas, J. H. Y., Lancas, F. M., Vilegas, W. y Pozetti, G. L. 1997.** Further Triterpenes, Steroids and furocoumarins from Brazilian medicinal plant of *Dorstenia* genus (Moraceae). *J. Brazil. Chem Soc.* 8, 529-535.
- Wakeham, S. G. y Frew, N. M. 1982.** Glass capillary gas chromatography-mass spectrometry of wax esters, steryl esters, and triacylglycerols. *Lipids* 17(11), 831-843.
- Williams, P. T. y Reed, A. R. 2003.** Pre-formed activated carbon matting derived from the pyrolysis of biomass natural fibre textile waste. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 70(2), 563-577.
- Yokoi, H., Ishida, Y., Ohtani, H., Tsuge, S., Sonoda, T. y Ona, T. 1999.** Characterization of within-tree variation of lignin components in *Eucalyptus camaldulensis* by pyrolysis-gas chromatography. *Analyst* 124, 669-674.
- Zier, N., Schiene, R. y Fischer, K. 1997.** Structure characterization of an organosolv lignin by analytical pyrolysis and wet chemical degradation methods. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 40/41, 525-551.
- Zomers, F. H. A., Gosselink, R. J. A., van Dam, J. E. G. y Tjeerdsma, B. F. 1995.** Organosolv pulping and test paper characterization of fiber hemp. *Tappi J* 78(5), 149-155.