

Guadua angustifolia en la Ecorregión Cafetera colombiana.

1. Extracción y cuantificación de lignina insoluble

Oscar Marino Mosquera¹;
Yeny Juliana Cortes¹;
Jaime Niño Osorio¹

La determinación de lignina insoluble en culmos de *Guadua angustifolia* de diferentes edades mostró que los contenidos más altos se presentan alrededor de los 48 y 60 meses. A esta edad, la guadua es apta para ser usada con fines estructurales, puesto que en ese momento se incrementan la resistencia y las características mecánicas.



Foto:

¹ Grupo de Biotecnología-Productos Naturales (GB-PN). Escuela de Tecnología Química. Facultad de Tecnología. Universidad Tecnológica de Pereira. AA 097. La Julita, Pereira, Colombia.
Autor para correspondencia: omosquer@utp.edu.co

Resumen

Se determinó la cantidad de lignina insoluble presente en 101 muestras de culmos de *Guadua angustifolia* con edades entre uno y diez años. Las muestras se colectaron en tres sitios diferentes de la Ecorregión Cafetera de Colombia: Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira, Fincas El Bambusal y Nápoles. La extracción de la lignina insoluble se hizo de acuerdo con la norma Tappi 222 om-06. Se encontró una variación entre 20,30% y 38,15% de lignina, la cual se relaciona con la madurez de los culmos. El porcentaje de lignina en individuos provenientes de un mismo sitio mostró poca variabilidad, pero se evidenciaron diferencias significativas ($\alpha \leq 0,005$) entre sitios de recolección y edad de los individuos. Los contenidos más altos de lignina se encontraron entre los cuatro y cinco años de edad. Los espectros de infrarrojo de la lignina insoluble contenida en diferentes muestras evaluadas mostraron absorciones típicas de los grupos funcionales hidroxilo, metoxilo y carbonilo.

Palabras claves: *Guadua angustifolia*; bambúes; ligninas; culmo; madurez; zona cafetera; Colombia

Summary

***Guadua angustifolia* in the Colombian coffee eco-region. Extraction and quantification of insoluble lignin contents.** The amount of insoluble lignin found in 101 samples of *Guadua angustifolia* culms aged one to ten years was determined. Samples were collected in three sites from the Colombian coffee ecoregion: Botanical Garden of the Universidad Tecnológica de Pereira, Nápoles and Bambusal farms. Tappi method 222 om-06 was used for the extraction of insoluble lignin. Lignin content ranged from 20.30% to 38.15%; this variation was closely related to maturity. The percentage of lignin in individuals from the same collecting place showed little variability; however, there were significant differences ($\alpha \leq 0.005$) among sites and ages. The highest lignin contents were found in culms aged four or five. Infrared spectra of insoluble lignin in different samples showed absorptions typical for hydroxyl, methoxyl and carbonyl functional groups.

Keywords: *Guadua angustifolia*; bamboos; lignins; culm; maturity; coffee zone; Colombia

Introducción

La guadua, o bambú, ha sido utilizada tradicionalmente en construcción por su excelente relación resistencia-peso, propiedades físico-mecánicas y flexibilidad arquitectónica. En el mundo existen alrededor de 1250 especies de bambú, localizadas principalmente en América, África y Asia. En Centro y Suramérica, una de las especies más usadas en construcción es *Guadua angustifolia* Kunt (Poaceae). Esta especie ha sido catalogada como una de las 20 especies de bambú de mayor sostenibilidad debido a su crecimiento rápido, gran tamaño y capacidad para la captación de CO₂ (Villegas 2005, López y Correal 2009).

La guadua está constituida principalmente por celulosa y lignina. Esta última es el segundo compo-

nente más importante de la pared celular de todas las plantas vasculares y representa entre 20-35% de la biomasa vegetal (Kuroda et ál. 2002). En general, la lignina se forma por deshidrogenación enzimática de los alcoholes fenilpropiónicos, *p*-cumarílico, coniferílico y sinapílico que se polimerizan y forman unidades monoméricas guaiacilo (G), siringerilo (S) y *p*-hidroxifenilo (H), por lo cual la lignina no tiene una estructura única (Buranov y Mazza 2008). En las gramíneas, la formación de lignina involucra los tres tipos de unidades monoméricas (H-G-S) (Del Río et ál. 2005), mientras que en las coníferas se forma por las unidades G-H (Sarkanen y Hergert 1971). Algunas de las funciones de la lignina son: la regulación de la hidratación de las moléculas hidrofílicas en las

paredes celulares, la capacidad de resistencia ante grandes compresiones y la protección contra ataques de patógenos y herbívoros (Anaya 2003).

Con este trabajo se pretendió determinar la importancia de este tipo de material para la construcción y fabricación de muebles. Los resultados de la investigación se presentan en dos partes, en este mismo número de la RRNA. En esta primera parte se busca: a) cuantificar el contenido de lignina insoluble presente en culmos de *G. angustifolia* y determinar si dicho contenido se correlaciona con la madurez de los culmos; b) establecer por espectroscopía infrarroja la naturaleza de los grupos funcionales predominantes en la lignina insoluble. En la segunda parte se busca determinar el efecto de la

madurez sobre el contenido de carbohidratos en sus extractivos y su relación con las secciones del culmo, para así inferir las condiciones de corte más adecuadas que permitan optimizar la utilización y preservación del producto.

Material vegetal

Se recolectó material vegetal de varios individuos de *G. angustifolia* en diferentes estados de madurez y en tres sitios: Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira (JB-UTP, 6 individuos), Finca Nápoles (FN, 1 individuo) y Finca El Bambusal (FB, 1 individuo), localizadas en Montenegro (Quindío). Además, de otros cuatro individuos se tomaron muestras de diferentes secciones para determinar el contenido de la lignina ácida insoluble (Fig. 1). En total se recolectaron 101 muestras (Cuadro 1).

Extracción y cuantificación de la lignina insoluble

De cada muestra se tomaron 5 g de material vegetal seco y molido, los cuales fueron sometidos a extracción con acetona a 45°C por 6 horas (dos veces); posteriormente, se extrajo con agua a 80°C por 1 hora (dos veces) y con etanol a 60°C por 6 horas (dos veces). Después de esto, el material vegetal extraído se secó a 60°C y se pasó por un tamiz de 20 Mesh para obtener una muestra de tamaño homogéneo.

Para la extracción de la lignina insoluble se siguió la metodología de la norma Tappi 222 om-06 (Tappi 2006) con algunas modificaciones: se tomaron 250 mg del material previamente tamizado, se agregaron 3,75 mL de ácido sulfúrico al 72% y se dejó reaccionar durante 2 horas a 15°C. Pasado este tiempo, se ajustó el volumen de la mezcla reaccionante con la adición de 143,75 mL de agua para que el ácido quedara al 1,9% y se sometió a ebullición durante cuatro horas; fue necesario adicionar agua frecuentemente para mantener constante la concentración del ácido. Posteriormente, la solución se dejó enfriar y se almacenó a 10°C durante 12 horas para permitir que la lignina insoluble decantara. Finalmente, el sobrenadante se filtró y el residuo se secó a 105°C. El porcentaje de lignina

insoluble en la muestra se determinó según Tappi (2006), mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Lignina insoluble} = (\text{Peso del residuo} / 250 \text{ mg}) \times 100$$

Esta extracción se realizó por triplicado en días diferentes para verificar la reproducibilidad del método de extracción.

Caracterización estructural de la lignina insoluble

La caracterización estructural de la lignina insoluble se llevó a cabo por espectroscopía infrarroja según los métodos descritos por Schultz et ál. (1985) y Abreu (1997). Se usó una pastilla de KBr al 1% en el espectrómetro de infrarrojo Satellite FT-IR (Thermo Mattson, Wisconsin,

Cuadro 1. Muestras de *Guadua angustifolia* analizadas

Zona de recolección	Individuo	Edad (meses)	Sección evaluada
Finca El Bambusal (1252 msnm; 4°51.8'N, 75°79.0'W)	1	12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 y 120	Muestra representativa de todo el individuo, no se diferenció por secciones
	1	12, 24, 36, 48, 60 y 72	
Jardín Botánico UTP (1411 msnm; 4°47'N, 75°41'W)	2	12, 24, 36, 48 y 60	Baja, media y alta
	7	12, 24, 36 y 48	Muestra representativa de todo el individuo, no se diferenció por secciones
	9	12, 24, 36, 48 y 60	
	11	12, 24, 48, 36, 60, 84 y 96	Baja – baja, baja, media, alta
Finca Nápoles (1250 msnm; 4°55.5'N, 75°80.2'W)	13	12, 24, 36, 48 y 60	Baja – baja, baja, media, alta
	1	12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 y 96	Baja, media y alta

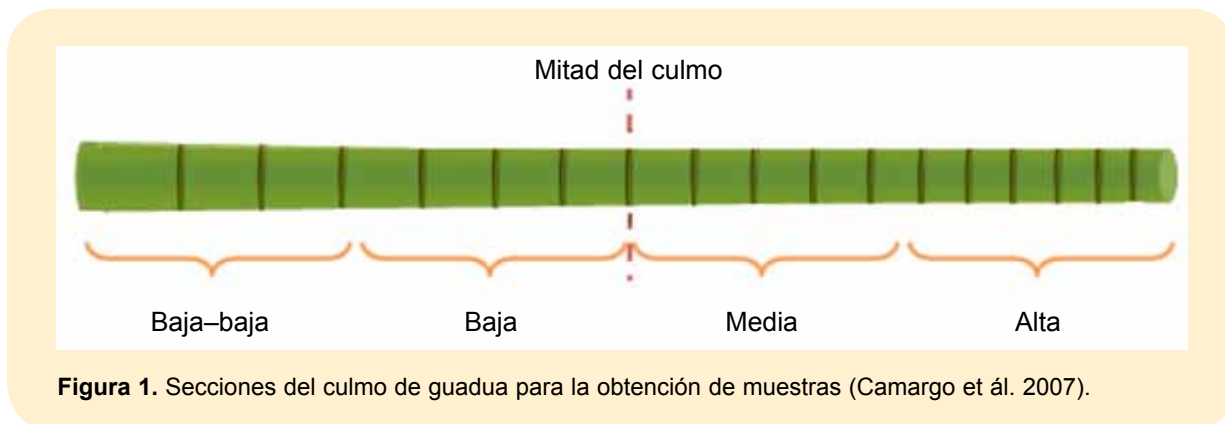


Figura 1. Secciones del culmo de guadua para la obtención de muestras (Camargo et ál. 2007).

EE.UU.) usando el software EZ Omnic (versión 6.0a).

Resultados y discusión

Extracción y cuantificación de la lignina insoluble

El contenido de lignina insoluble de los culmos de *G. angustifolia* varió entre 20,0% y 38,15% -resultados que concuerdan con los reportados para diferentes especies de bambú; por ejemplo, 23,4% para *Bambusa vulgaris* (Alves et ál. 2010), 26,1% para *Phyllostachys heterocyclus* y 23,8% para *Phyllostachys nigra* (Higuchi et ál. 1955). Los resultados obtenidos de las muestras colectadas en el JB-UTP se presentan en el Cuadro 1; el mayor porcentaje de lignina se encontró en la sección alta del culmo a los 48 y 60 meses de edad (Fig. 2). Aunque no se observaron diferencias significativas en el contenido de lignina insoluble entre las diferentes secciones del culmo, se evidenció una leve tendencia al aumento en los estados más avanzados de madurez. Lybeer y Koch (2005) encontraron resultados similares con la especie de bambú *Gigantochloa levis*.

En el Cuadro 2 se ofrecen los resultados obtenidos con las muestras recolectadas en las fincas Nápoles y El Bambusal. No se evidenciaron diferencias importantes en el contenido de lignina insoluble; en Nápoles, el mayor contenido se encontró en las secciones alta y media del culmo a los 60 y 96 meses de edad. Sin embargo, a los 96 meses también se presentó un alto contenido de lignina en la sección baja. En El Bambusal, el incremento con la edad fue mínimo.

Con base en los resultados obtenidos del porcentaje de lignina insoluble de las muestras colectadas en JB-UTP, FN y FB, se encontraron diferencias significativas ($\alpha = 0,05$) entre los tres sitios de recolección y entre edades (12, 24, 36, 48 y 60 meses). Los contenidos de lignina más altos se obtuvieron en las muestras colectadas a los 48

Cuadro 1. Porcentaje de lignina ácida insoluble presente en muestras de *Guadua angustifolia* recolectadas en el Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira

Individuo	Edad (meses)	Sección	Lignina insoluble (%)*	DS	
1	12	MR	25,17	1,23	
	24		20,30	2,20	
	36		21,90	2,10	
	48		25,44	0,68	
	60		24,10	1,45	
	72		23,77	2,49	
2	12	B	23,83	2,26	
		M	23,84	2,08	
		A	23,06	1,99	
	24	B	23,22	2,02	
		M	22,27	0,55	
		A	31,24	1,52	
	36	M	23,28	2,50	
		A	21,63	2,52	
		B	28,77	2,74	
	48	M	31,33	1,86	
		A	37,00	0,93	
		B	21,53	1,61	
60	M	31,57	1,51		
	A	35,35	1,60		
	B	26,54	0,83		
7	12	MR	26,54	0,83	
	24		20,80	2,37	
	36		22,14	1,38	
	48		25,88	0,95	
9	12	MR	29,96	1,22	
	24		21,65	1,58	
	36		23,80	1,61	
	48		23,18	1,00	
60	60	MR	26,34	1,31	
	12		B-B	25,28	1,95
	12		B	26,13	2,10
			M	25,37	1,00
A		24,77	1,12		
24	24	B-B	21,59	2,31	
		B	22,66	0,71	
		M	22,30	0,92	
	48	A	25,27	2,51	
		B-B	25,93	1,72	
		B-B	25,28	1,07	
84	B-B	28,20	1,81		
	B-B	30,61	1,09		
	B-B	23,96	0,42		
13	12	B-B	23,96	0,42	
		B	28,10	2,10	
		A	25,31	0,44	
	24	B-B	22,56	0,34	
		B	26,89	0,99	
		M	26,88	1,28	
	36	36	A	25,73	1,84
			B-B	26,04	1,10
			B	30,44	2,31
		48	M	25,47	0,20
			A	27,23	1,09
			B-B	24,66	2,60
60	48	B	25,90	2,32	
		M	27,17	0,55	
		A	29,67	0,15	
	60	B-B	27,01	2,49	
		B	26,25	0,58	
		M	29,33	1,84	
60	A	29,86	1,08		

A: alta; B-B: baja-baja; B: baja; M: media; MR: muestra representativa (no diferenciada por secciones)

*Media de tres repeticiones
DS: desviación estándar

y 60 meses de edad en FN, seguidos por las muestras del JB-UTP (Fig. 3). Estos resultados se enmarcan en lo supuesto por Liese y Weiner (1997), en el sentido de que la madurez del bambú se alcanza entre los tres y cuatro años de edad con lignificación posterior, a medida que envejece.

En general, el porcentaje de lignina presentó poca variabilidad entre las diferentes secciones, aunque sí se evidenciaron diferencias significativas entre sitios de recolección (análisis de varianza con Test de Tukey al 5%). Asimismo, hubo variaciones en los contenidos de lignina a diferentes edades de recolección para un mismo individuo analizado. A medida que los individuos avanzan en el estado de madurez, el contenido de lignina aumenta, lo que correlaciona con la distribución de lignina durante el envejecimiento de los tejidos de los culmos de *Phyllostachys pubescens* determinada por Yang et ál. (2010). Con esta información se puede inferir que la guadua más apta para uso estructural -por sus propiedades físico-mecánicas- es la que tenga una edad superior a los 48 meses, ya que a esa edad es cuando se tienen los porcentaje de lignina más altos. Para el uso en la industria papelera, la mejor opción se presenta a edades tempranas cuando la cantidad de lignina es menor; a mayor cantidad de lignina residual, mayores son las dificultades para la remoción total, lo que implica un consumo excesivo de reactivos para el blanqueamiento (Barbosa et ál. 2008).

El rango porcentual de lignina obtenido en este estudio (20,30 a 38,15%) es muy cercano al reportado por Li (2004) para maderas blandas (24 a 37%). Adicionalmente, se encontró que la desviación estándar entre los porcentajes obtenidos fue baja para la mayoría de las muestras, lo cual indica que la dispersión entre los datos de las tres repeticiones fue baja y, por lo tanto, el método de extracción implementado resultó reproducible.

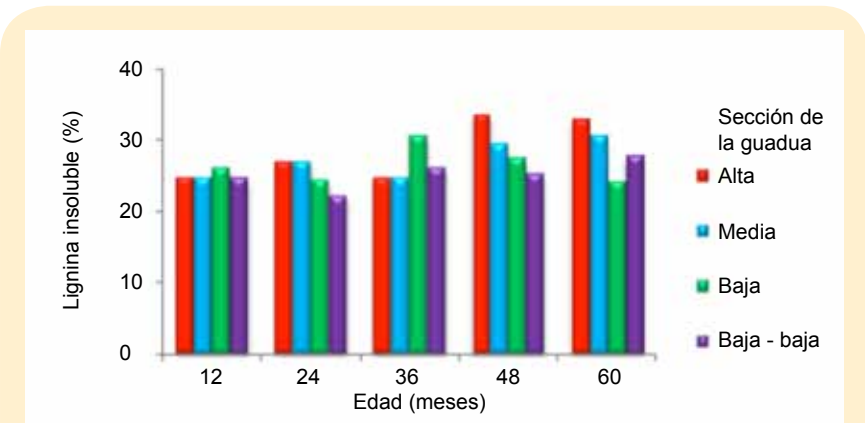


Figura 2. Contenido de lignina insoluble en diferentes secciones y edades de los individuos colectados en el Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira

Cuadro 2. Porcentaje de lignina ácida insoluble presente en las muestras de *Guadua angustifolia* Kunth recolectadas en las fincas Nápoles y El Bambusal

Individuo	Edad (meses)	Sección	Lignina insoluble (%)*	DS
Finca Nápoles				
7	12	B	23,65	0,94
		M	32,42	2,31
	24	A	23,61	1,02
		B	27,32	1,03
		M	25,91	1,38
	36	A	29,45	1,39
		B	30,02	0,91
		M	30,35	2,33
	48	A	34,11	0,15
		B	32,11	1,41
		M	33,58	2,99
	60	A	32,90	1,82
		B	29,88	1,61
		M	37,80	2,11
	72	A	33,97	0,81
		B	29,96	2,72
		M	33,86	2,61
	84	A	38,15	2,28
		B	30,59	1,46
		M	30,50	0,71
96	A	34,34	2,03	
	B	37,51	1,63	
	M	33,78	0,33	
		A	37,14	2,23
Finca El Bambusal				
1	12	MR	21,15	1,08
	24		21,84	0,66
	36		21,69	0,78
	48		23,75	1,18
	60		24,16	2,31
	72		23,92	1,78
	84		25,95	0,92
	120		23,65	0,31

A: alta; **B-B:** baja-baja; **B:** baja; **M:** media; **MR:** muestra representativa (no diferenciada por secciones)
 *Media de tres repeticiones
DS: desviación estándar

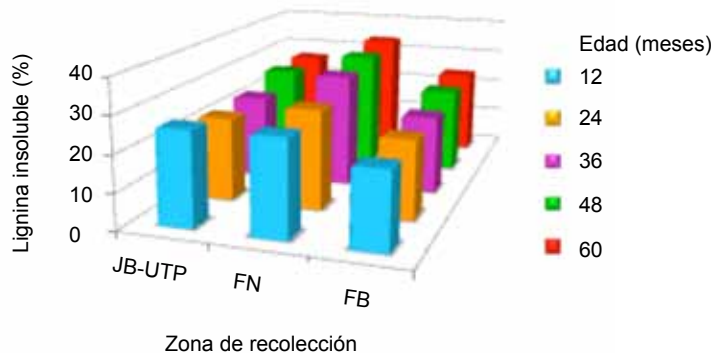


Figura 3. Contenido de lignina insoluble en las muestras colectadas en JB-UTP (Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira), FN (Finca Nápoles) y FB (Finca El Bambusal)

Cuadro 3. Absorciones características de la lignina en espectroscopía infrarroja

Grupo funcional		Frecuencia (ν cm)	Característica
Señal	Tipo		
I	O-H	3320	Hidroxilo: Fenol y/o alcohol
II	C=O	1720	Carbonilo
III	C-H Aromático	1600-1590 y 1596	Anillo aromático de guaiocilo
	C-H Aromático	1505-1511	Anillo aromático de siringerilo
IV	C-O	1268	Metoxilo de guaiocilo
	C-O	1244	Metoxilo de siringerilo

Fuente: Abreu (1997).

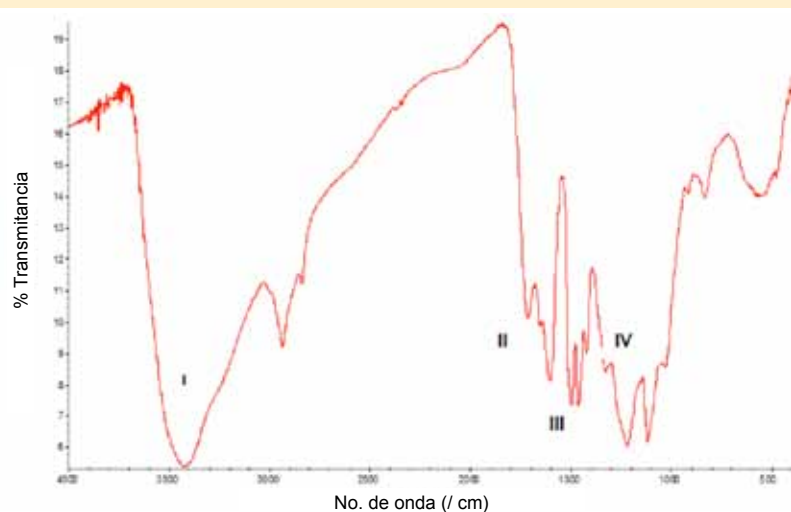


Figura 4. Espectro infrarrojo de lignina insoluble obtenida de culmos de *G. angustifolia* (individuo 7) recolectados en la Finca Nápoles

Caracterización estructural de la lignina insoluble

La caracterización estructural de la lignina insoluble proveniente de culmos de *G. angustifolia* se hizo por medio de espectroscopía infrarroja (IR). Los espectros IR se midieron en el rango de 4000 a 600/cm y en porcentaje de transmitancia en el espectrómetro Satellite FT-IR. En la Fig. 4 se presenta el espectro infrarrojo de la lignina insoluble obtenida de la sección baja del individuo 7 de 12 meses de edad, recolectado en la Finca Nápoles. En el Cuadro 3 se muestran las absorciones en el espectro infrarrojo presentadas por los principales grupos químicos; tales valores son típicos para este tipo de compuestos, y similares a los presentados por Boeriu et ál. (2004) y muy cercanos a los de la lignina de madera de *Pinus oocarpa* (tipo guaiocilo) (Morais et ál. 2005).

Al realizar el análisis de los espectros IR de lignina obtenida de varias muestras recolectadas en las tres zonas no se observó ninguna diferencia entre ellas, como se ilustra en la superposición de espectros presentada en la Fig. 5. Con base en los grupos químicos caracterizados y los datos bibliográficos se sugiere que la lignina de *G. angustifolia* corresponde al tipo siringil-guaiocilo (SG) (Carballo et ál. 2004).

Conclusiones

La determinación de lignina insoluble en culmos de *Guadua angustifolia* de diferentes edades mostró que los contenidos más altos se presentan alrededor de los 48 y 60 meses. A esta edad, la guadua es apta para ser usada con fines estructurales, puesto que en ese momento se incrementan la resistencia y las características mecánicas.

La cantidad de lignina no difiere significativamente entre las diferentes secciones de culmos provenientes de un mismo sitio de recolección. Esto demuestra el alto grado de aprovechamiento de este recurso natural, ya que se pueden utilizar todas las partes de un mismo individuo; sin

embargo, se evidenciaron diferencias entre los sitios de recolección y la edad de los individuos.

Estructuralmente, no se observaron variaciones de la lignina insoluble obtenida en los individuos provenientes de los diferentes sitios de recolección.

Agradecimiento

Los autores expresan agradecimiento a COLCIENCIAS (Proyecto Código 1110452-21121; Contrato 442-1-2008) y a la Universidad Tecnológica de Pereira por el financiamiento parcial del proyecto. Agradecemos también a los propietarios de las fincas Nápoles y El Bambusal por conceder el permiso de recolección de los materiales vegetales.

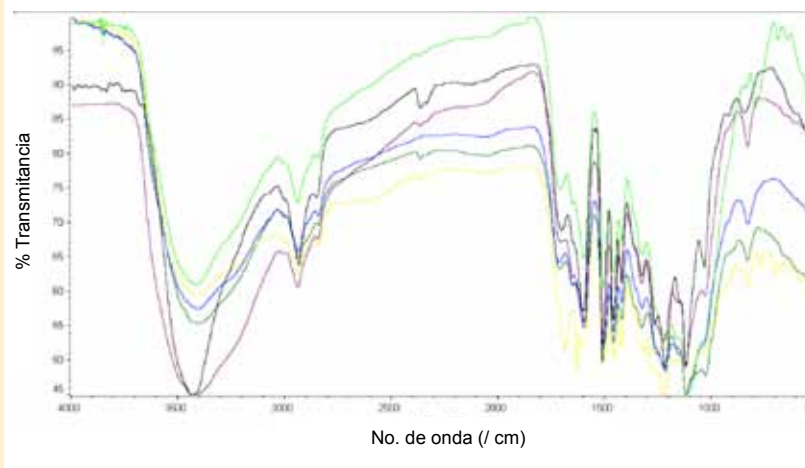


Figura 5. Superposición de espectros de infrarrojo de diferentes muestras de lignina de culmos de *G. angustifolia* obtenidos en el Jardín Botánico de la Universidad Técnica de Pereira y las fincas El Bambusal y Nápoles

Literatura citada

- Abreu, HS. 1997. Estimativa por infravermelho da concentração da unidade estrutural b-O-4 em ligninas de angiospermas tropicais. *Química Nova* 20: 592-598.
- Alves, EF; Bose, SK; Colodette, JL; Iakovlev, M; Van Heiningen, A. 2010. Carbohydrate composition of eucalyptus, bagasse and bamboo by a combination of methods. *Carbohydrate Polymers* 82:1097-1101.
- Anaya, AL. 2003. *Ecología química*. México, DF, México; Plaza y Valdés. 349 p.
- Barbosa, LC; Maltha, CR; Lopes, V. 2008. Determinação da relação siringila/guaiacila da lignina em de eucalipto por pirólise acoplada à cromatografia gasosa e espectrometria de massas (PI CG/EM). *Química Nova* 31: 2035-2041.
- Boeriu, CG; Bravo, D; Gosselink, RJA; van Dam, JEG. 2004. Characterization of structure-dependent functional properties of lignin with infrared spectroscopy. *Industrial Crops and Products* 20: 205-218.
- Buranov, AU; Mazza, G. 2008. Lignin in straw of herbaceous crops. *Industrial Crops and Products* 28: 237-259.
- Camargo, JC; Morales T; García JH. 2007. *Mensura e inventario forestal para la planificación y manejo sostenible de bosques de Guadua*. Dosquebradas, Colombia, Grupo de Investigación en Gestión de Agrosistemas Tropicales Andinos. 125 p.
- Carballo, LR; Orea, UI; Cordero, EM. 2004. Composición química de tres maderas en la provincia de Pinar del Río, Cuba, a tres alturas del fuste comercial. Parte No 1: *Corymbia citriodora*. *Revista Chapingo (Serie Ciencias Forestales y del Ambiente)* 10: 57-62.
- Del Río, JC; Gutiérrez A; Hernando, M; Landín, P; Romero, J; Martínez AT. 2005. Determining the influence of eucalypt lignin composition in paper pulp yield using Py-GC/MS. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 74: 110-115.
- Kuroda, KI; Nishimura, N; Izumi, A; Dimmel, DR. 2002. Pyrolysis of lignin in the presence of tetramethylammonium hydroxide: a convenient method for S/G ratio determination. *Journal of Agricultural Food and Chemistry* 50: 1022-1027.
- Higuchi, T; Kawamura, I; Kawamura H. 1955. Properties of the lignin decayed wood. *Journal of the Japanese Forest Society* 37: 298-302.
- Li, X. 2004. Physical, chemical, and mechanical properties of bamboo and its utilization potential for fiberboard manufacturing. Master Thesis. Louisiana State University, Agriculture and Mechanical College. 76 p.
- Liese, W; Weiner, G. 1997. Modifications of bamboo culm structures due to ageing and wounding. In Chapman, G. (Ed). *The Bamboos*. London, Academic Press. Linnean Society Symposium Series. p. 313-322.
- López, LF; Correal, JF. 2009. Estudio exploratorio de los laminados de bambú *Guadua angustifolia* como material estructural. *Maderas. Ciencia y Tecnología* 11: 171-182.
- Lybeer, B; Koch, G. 2005. Lignin distribution in the tropical bamboo species *Gigantochloa levis*. *IAWA Journal* 26: 443-456.
- Morais, SAL; Nascimento, EA; Melo, DC. 2005. Análise da madeira do *Pinus oocarpa*. Parte II: Caracterização estrutural da lignina de madeira moída. *Revista Árvore* 29: 471-478.
- Sarkanen, KV; Hergert, HL. 1971. Classification and distribution. In Sarkanen KV, Ludwig CH (Ed). *Lignins: occurrence, formation, structure and reactions*. New York, Wiley & Sons. p. 43-94.
- Schultz, T; Templeton, M; McGinnis, G. 1985. Rapid determination of lignocelluloses by diffuse reflectance fourier transform infrared spectrometry. *Analytical Chemistry* 57: 2867-2869.
- TAPPI (Leading Technical Association for the Pulp, Paper, and converting Industry). 2006. T 222 om-06. Acid-insoluble lignin in wood and pulp. 5 p.
- Villegas, M. 2005. *Guadua: arquitectura y diseño*. Bogotá, Colombia Villegas Editores. Edición ilustrada. 208 p.
- Yang, SM; Jiang, ZH; Ren, HQ; Fei, BH; Liu, XE. 2010. Determination of lignin distribution during ageing of bamboo culms (*Phyllostachys pubescens*) with visible-light spectrophotometry. *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi/Spectroscopy and Spectral Analysis* 30: 3399-3404.