

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



División de Estudios de Posgrado

Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera

Maestría en Ciencias y Tecnología de la Madera

TESIS

DESARROLLO DE FORMULACIONES ADHESIVAS ANTIFÚNGICAS PARA
MADERA: USO DE LIGNINA DESPOLIMERIZADA Y EXTRAÍBLES DE
LATIFOLIADAS.

PARA OBTENER EL GRADO DE:

Maestro en Ciencias y Tecnología de la Madera

PRESENTA:

Q.F.B. Edgar Hernández Corona

ASESOR:

D.C. Pablo López Albarrán

MORELIA, MICHOACÁN, AGOSTO 2013



Durante la realización del presente trabajo se contó con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través de una beca de maestría.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo, así como todos mis logros a lo largo de mi vida a través de su enseñanza y sabiduría transmitida, a mis dos grandes compañeros, amigos, confidentes y sobretodo maestros:

Isaías Hernández Armas y Margarita Corona Balderas

Gracias Papás.

A toda mi familia por su gran apoyo incondicional, confianza y cariño que me han brindado, lo cual gracias a ello he logrado culminar otra etapa más de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres les agradezco enormemente su gran apoyo otorgado durante la realización del presente trabajo.

Al D.C. **Pablo López Albarrán**. Por haberme permitido entrar en su equipo de trabajo, así como brindarme su apoyo, conocimiento, tiempo, espacio y sabiduría necesaria para culminar este trabajo de investigación.

A los D.C. **Rafael Herrera Bucio**, D.C. **José Guadalupe Rutiaga Quiñones**. Por haberme brindado las instalaciones, equipo y material necesario para la realización de este trabajo de investigación, así como brindarme su apoyo, conocimiento, tiempo y asesoramiento.

A mis revisores de tesis D.C. **Pablo López Albarrán**, D.C. **Rafael Herrera Bucio**, D.C. **José Guadalupe Rutiaga Quiñones**, D.C. **David Raya Gonzales** y D.C. **Jorge Enrique Ambris Parra**. Que gracias a sus observaciones, sugerencias, tiempo y consejos, hicieron de este un trabajo mejor.

Al **Instituto de Investigaciones Químico Biológicas-UMSNH**. Por poner a mi disposición sus equipos e instalaciones para el desarrollo experimental.

Al D.C. **Antonio Pizzi**. Por haberme recibido en su laboratorio en mi estancia de investigación, por su gran implicación y dirección para completar el presente trabajo.

A la **Escuela Nacional Superior de las Industrias de Madera (e/n/s/t/i/b) de la Universidad de Nancy 1, Francia**. Por poner a mi disposición sus equipos e instalaciones para el desarrollo experimental.

A la **Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera (FITECMA)- (UMSNH)**. Por poner a mi disposición sus equipos e instalaciones durante la realización de este trabajo de investigación.

PRODUCTOS CIENTÍFICOS DEL PRESENTE TRABAJO

Estancia de investigación

Estancia de investigación realizada en la **Escuela nacional Superior de las Industrias de Madera (e/n/s/t/i/b) de la Universidad de Nancy 1, Francia** del 01/03/2012 al 31/08/2012, cubriendo un total de 6 meses de estancia.

Formación de recursos humanos

Servicio social prestado por:

Edgar Zacarías Calderón.

Alumno de octavo semestre de la carrera Ingeniería en Tecnología de la Madera de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

ÍNDICE GENERAL

Índice de figuras	5
Índice de tablas	7
Lista de abreviaturas	8
Resumen	9
I.- INTRODUCCIÓN	10
1.1 Generalidades	10
1.2 Adhesión	12
1.2.1 Teorías de adhesividad	13
1.3 Adhesivos para madera en la formación de enlaces y su eficiencia	14
1.4 Propiedades de la superficie de la madera para la adhesión	15
1.5 Aplicaciones de los adhesivos para madera	15
II.- ANTECEDENTES	17
2.1 La madera	17
2.1.1 Capas que forman el tronco de un árbol	17
2.2 Composición química de la madera	19
2.2.1 La celulosa	21
2.2.2 Las hemicelulosas	22
2.2.3 Componentes extraíbles de la madera	23
2.2.4 Generalidades de los componentes extraíbles de las maderas de coníferas y latifoliadas	23

2.3	Género Dalbergia	24
2.4	Actividad biológica de algunas especies del género Dalbergia	25
2.5	La madera como material	25
2.6	Materiales a base de madera	26
2.7	Biodegradación de la madera por ataque de hongos	27
2.7.1	Ciclo biológico de los hongos xilófagos	28
2.7.2	Tipos de pudriciones	28
2.8	Formulaciones adhesivas para madera a base de resinas sintéticas	30
2.9	Ataque por hongos a materiales de madera	31
2.9.1	Hongos lignolíticos	31
2.9.2	<i>Trametes versicolor</i>	32
2.9.3	Enzima lacasa	33
2.10	Formulaciones adhesivas a base de lignina	35
2.10.1	La lignina	35
2.10.2	Lignina como adhesivo	39
2.11	Desarrollo de adhesivos con capacidad preservante	41
2.12	Durabilidad natural de la madera	42
2.12.1	Biopreservantes de maderas basados en extractos naturales	43
III.- JUSTIFICACIÓN		45
IV.- HIPÓTESIS		47
V.- OBJETIVOS		47

5.1	Objetivo general	47
5.2	Objetivos específicos	47
VI.- MATERIAL Y MÉTODOS		48
6.1	Fuente de madera para el estudio	49
6.1.1	Preparación del material experimental	49
6.1.1.1	Preparación del material para la obtención de lignina	49
6.2	Preparación del material experimental de maderas de alta durabilidad	50
6.3	Análisis químico	50
6.3.1	Determinación de sustancias extraíbles de maderas de alta durabilidad natural	50
6.3.2	Materia prima para obtención de lignina	51
6.3.3	Liberación de extraíbles	51
6.3.3.1	Extracción con n-hexano	51
6.3.3.2	Extracción con acetona	52
6.3.4	Extracción de lignina	54
6.4	Ensayo antifúngico	55
6.5	Formulaciones adhesivas	56
6.5.1	Resina a base de tanino/hexamina	56
6.5.2	Glioxalación de lignina despolimerizada	56
6.5.2.1	Resina a base de lignina glioxilada/hexamina	58
6.5.3	Resina a base de lignina despolimerizada/hexamina	59
6.5.4	Determinación de porcentaje de solido en resinas	60

6.6	Adhesivo para tablero	61
6.7	Formulación de mejor desempeño	61
6.8	Postulación de formulación adhesivo-preservante	62
VII.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN		64
7.1	Obtención y cuantificación de lignina despolimerizada	64
7.1.1	Determinación de porcentaje de extraíbles	64
7.1.2	Determinación del contenido de lignina	65
7.2	Obtención de extractos de maderas de alta durabilidad	66
7.2.1	Determinación de rendimientos de los extractos	67
7.3	Actividad antifúngica	68
7.4	Inhibición de crecimiento fúngico.	70
7.5	Obtención de resinas a base de materiales no tóxicos y renovables	79
7.5.1	Porcentaje de sólidos en resinas a base de hexamina	81
VIII.-CONCLUSIONES		83
IX.- REFERENCIAS		84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Capas que forman el tronco de un árbol	18
Figura 2.- Representación esquemática de la pared celular vegetal a cuatro niveles	20
Figura 3.- Basidiosporas	32
Figura 4.- Cuerpo fructífero de <i>Trametes versicolor</i>	33
Figura 5.- Estructura de Lacasa	35
Figura 6.- Ciclo catalítico de la enzima lacasa: Oxidación monoelectrónica de una molécula de sustrato (fenoles, aminas aromáticas ó alifáticas) al radical reactivo correspondiente. La base catalítica de la enzima está formada por el agrupamiento de cuatro átomos de cobre	35
Figura 7.- Unidades y monómeros básicos de la lignina	37
Figura 8.- Modelo experimental lignina, obtenido por RMN	38
Figura 9.- Diagrama que esquematiza la metodología	48
Figura 10. Mezcla de tanino/hexamina	52
Figura 11.- Mezcla para la reacción de glioxalación	53
Figura 12.- Matraz reactor de tres cuellos equipado con un condensador, termómetro y un agitador magnético	54
Figura 13.- Mezcla de lignina glioxilada/hexamina	56
Figura 14.- Mezcla de lignina despolimerizada/hexamina	57
Figura 15.- Equipo Soxhlet para liberación de extraíbles mediante n-hexano	58
Figura 16.- Equipo Soxhlet para liberación de extraíbles mediante acetona	59

Figura 17.- Secado de harina de madera para liberación de extraíbles en horno de secado modelo HS-41	60
Figura 18.- Equipo Soxhlet usando solventes aproticos	66
Figura 19.- Concentración de extractos crudos de maderas de alta durabilidad en rota-evaporador BUCHI B-490	67
Figura 20.- Actividad biológica de los diferentes extractos ante el hongo <i>Trametes versicolor</i>	69
Figura 21.- Porcentaje de inhibición del hongo <i>Trametes versicolor</i> ante extractos a los 7 días de inoculación	73
Figura 22.- Porcentaje de inhibición del hongo <i>Trametes versicolor</i> ante extractos a los 7 días de inoculación	74
Figura 23.- Porcentaje de inhibición del hongo <i>Trametes versicolor</i> ante extractos a los 7 días de inoculación	75
Figura 24.- Porcentaje de inhibición del hongo <i>Trametes versicolor</i> ante extractos a los 14 días de inoculación	76
Figura 25.- Porcentaje de inhibición del hongo <i>Trametes versicolor</i> ante extractos a los 14 días de inoculación	77
Figura 26.- Porcentaje de inhibición del hongo <i>Trametes versicolor</i> ante extractos a los 14 días de inoculación	78
Figura 27.- Lignina glioxilada obtenida a partir de la reacción de glioxalación	79
Figura 28.- Resina a base de tanino/hexamina	80
Figura 29.- Resina a base de lignina glioxilada /hexamina	80
Figura 30.- Resina a base de lignina despolimerizada/hexamina	81

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Clasificación de la durabilidad natural de la madera	42
Tabla 2.- Porcentaje de extraíbles obtenidos a partir de materia prima para la obtención de lignina	65
Tabla 3.- Porcentaje de lignina obtenida a partir de harina de madera libre de extraíbles (H.L.E)	66
Tabla 4.- Rendimiento de los extractos de <i>Cordia elaeagnoides</i> (cueramo), mediante extracción Soxhlet, a partir de 12 g de harina de duramen, utilizando 200 ml de cada solvente	67
Tabla 5.- Rendimiento de los extractos de <i>Dalbergia granadillo</i> (zangalicua), mediante extracción Soxhlet, a partir de 12 g de harina de duramen, utilizando 200 ml de cada solvente	68
Tabla 6.- Rendimiento de los extractos de <i>Dalbergia congestiflora</i> Pittier (canpinceran), mediante extracción Soxhlet, a partir de 12 g de harina de duramen, utilizando 200 ml de cada solvente	68
Tabla 7.- Porcentaje de inhibición del hongo <i>Trametes versicolor</i> a los 7 días de inoculación de los medios	71
Tabla 8.- Porcentaje de inhibición del hongo <i>Trametes versicolor</i> a los 14 días de inoculación de los medios	72
Tabla 9.- Porcentaje de solido de resinas a base de hexamina	82

LISTA DE ABREVIATURAS

ASTM	Anual Book of Standar
FITECMA	Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera
UMSNH	Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
e/n/s/t/i/b	Escuela Nacional Superior de las Industrias de Madera
UDT-EST	Unidad de Desarrollo Tecnológico-Universidad de Concepción
THF	Tetrahidrofurano
H .L. E	Harina libre de extraíbles

RESUMEN

El buscar un escenario para el desarrollo de formulaciones adhesivas antifúngicas para madera, a base de lignina despolimerizada y extraíbles de latifoliadas, hace necesario realizar investigaciones y trabajos como el presente, con el objetivo primordial de promover la innovación de productos eco-amigables, durables y con exacerbada capacidad al biodeterioro.

De tal modo que la elección del material para elaborar adhesivos se basa en la disponibilidad, precio y sus características estructurales.

Tomando como base lo anterior, se tiene que el buscar una formulación de mejor desempeño nos referimos a aquella en donde esta cumpla con las especificaciones necesarias para preparar adhesivos basados en el uso de materiales no tóxicos y respetuosos con el medio ambiente.

Mi propuesta experimental en esta investigación es la de utilizar ligninas despolimerizadas y un extracto proveniente del duramen de maderas de alta durabilidad natural, para producir adhesivos basados en estos materiales no tóxicos así como renovables, donde esta formulación adhesiva tendría que cumplir con la relación típica de adhesivo / partículas de madera en el ámbito industrial del 10% (% en peso), de tal manera que se aprovechen integralmente el conocimiento químico de materiales lignocelulósicos.

Por lo tanto, disminuir o eliminar completamente las emisiones de formaldehído en los paneles preparados con adhesivos basados en el uso de formaldehído abre nuevas líneas de investigaciones en el ámbito de adhesivos; teniendo así que en el presente trabajo se logre llegar a despertar el interés a disminuir o eliminar las emisiones del agente tóxico.

Palabras clave: madera, tablero de partículas, paneles, aldehído no-tóxico, glioxal, adhesivos, *Dalbergia congestiflora*P, preservación, durabilidad natural, extractos, actividad antifúngica, *Trametes versicolor*, Lacasa.

I.-INTRODUCCIÓN.

1.1 Generalidades.

La madera como material estructural ha permanecido en uso desde tiempos antiguos por su versatilidad, resistencia y trabajabilidad (**Tsoumis, 1991**). En la actualidad, el alto consumo de madera y sus productos derivados hacen que este material sea valioso, por lo que requiere de su preservación para prolongar su periodo de servicio o vida útil (**Vignote y Jiménez, 2000**). Debido a que su principal desventaja proviene de ser un material natural susceptible al ataque de agentes dañinos que la degradan, se necesita tratarle con sustancias externas que incrementen su durabilidad (**Groenier, 2006**).

Tomando en cuenta lo anterior se debe de recurrir a la utilización de maderas con alta durabilidad natural que presenten resistencia al ataque de microorganismos formando éstos parte de un grupo primitivo: los hongos, los cuales tienen la capacidad de secretar enzimas especializadas a través de estructuras conocidas como hifas que degradan la materia orgánica, modificándola químicamente para así ser utilizadas como fuente de carbono y alimento (**Higuchi, 1985**).

Se ha observado que el duramen de la madera de *Dalbergia congestiflora* Pittier es resistente a este ataque, esta madera es ampliamente utilizada en la elaboración de muebles, artesanías y joyería. Esta resistencia se encuentra generalmente atribuida a la presencia de sustancias químicas activas en las paredes celulares de la madera, que juegan un papel importante en la durabilidad natural. Estas sustancias proporcionan una actividad antifúngica o fungistáticas eliminando o inhibiendo el crecimiento de agentes xilófagos (**Deon, 1983**).

La pudrición de la madera es una de las mayores causas de deterioro microbiológico que ocasiona fallas estructurales de manera rápida, sobre elementos de madera en servicio. Los más potentes e importantes organismos de

podrición de la madera, son los hongos de pudrición blanca, marrón, blanda y las bacterias **(Mora y Encinas, 2001)**. El hongo de pudrición blanca llamado *Trametes versicolor* es uno de los más agresivos para la madera de latifoliadas, razón por lo que la norma internacional Anual Book of Standar **(ASTM, 1986)** lo recomienda para los ensayos de durabilidad.

En la actualidad, el alto consumo de madera y sus productos derivados hacen que este material sea valioso, por lo que considerando la necesidad de desarrollar productos madereros eco-amigables, durables y con exacerbada capacidad al biodeterioro, los antecedentes descritos nos abren una ventana de oportunidades en la generación del conocimiento y fundamentación en la innovación de formulaciones adhesivas con capacidad cementante.

Tomando en cuenta de forma general que la composición de la madera se encuentra por lo general compuesta por tres grupos de macromoléculas que conforman la pared celular: celulosa, poliosas (hemicelulosas) y ligninas, que están presente en todas las maderas. En menor proporción la conforman las sustancias de baja masa molar conocidas también como extraíbles y las sustancias minerales **(Fengel y Wegener, 1984)**.

La lignina nativa o protolignina funciona como agente cementante para impartir rigidez al tejido leñoso. Esta propiedad de cementación involucra diferentes tipos de interacciones químicas como puentes de hidrogeno, fuerzas de Van der Waals y enlaces con carbohidratos **(Sarkanen y Ludwig, 1971)**. La misma rigidez aportada por el efecto de relleno de la lignina es aprovechada por los árboles y plantas en general, así como para satisfacer sus necesidades de conducción de líquidos. Esta función se facilita debido al hecho de que la lignina permite la impermeabilidad en las paredes celulares a los líquidos que fluyen a lo largo de ellas.

Considerando que su estructura es similar al fenol-formaldehido, pudiera ser utilizada como adhesivo pero, sin embargo, ya que la lignina sufre degradación, aun muy ligera, por el método de extracción (lignina kraft, lignina organosolv, etc.)

tienen que recibir un tratamiento posterior para poder llegar a la estructura fenólica con capacidad adhesiva **(Pizzi y Mittal, 1994)**. Ha sido y sigue siendo investigada por científicos e industriales por presentar una ventaja desde el punto de vista económico y ambiental, en el desarrollo de adhesivos para madera y materiales en base a madera.

1.2 Adhesión.

La historia registrada de la madera en condiciones de servidumbre se remonta por lo menos 3 000 años en la época de los egipcios **(Skeist y Miron, 1990)**, mientras que la de los adhesivos a principios de la humanidad **(Keimel, 2003)**.

Se debe de tomar en cuenta que una de las mejoras para llegar a la comprensión de los aspectos críticos de la adhesión de madera debe conducir a la búsqueda de materiales compuestos, por tal motivo en la química de madera centraremos nuestra atención a las tensiones externas e internas como un principio básico científico para mejorar nuestra comprensión de los adhesivos de la madera **(Pizzi y Mittal, 1994)**.

El uso de adhesivos es un hecho cotidiano que en muchos sectores de procesamiento de madera, en el de partículas, madera contrachapada y los campos de empalme. Tomando en cuenta que la adhesión es un fenómeno físico-químico importante el cual ha llamado la atención de muchos investigadores en diversos campos de la ciencia; este fenómeno se nota en los materiales, no sólo en relación a lo que hemos llegado a conocer de los adhesivos a un sustrato en el sentido más estricto **(Pizzi, 1994)**.

Considerando lo anterior se deben de tomar en cuenta dos cuestiones a analizar antes de conocer las teorías de los adhesivos:

1. La generalización de los principios de todas las clases de materiales adhesivos y como tales han comunicado poco interés específico o técnico

inmediato a muchos productos de madera. Esto es comprensible, aunque insatisfactorio ya que los adhesivos tienen una amplia variedad de campos de aplicación.

2. La información referente a los adhesivos sin duda son escritos por y para especialistas en la adhesión o al menos para las personas relacionadas en dicho tema.

El comprender la naturaleza de un adhesivo, así como su comportamiento no es una ciencia propia de este fin, más bien es el compendio de ciencias entrelazadas entre sí desde el conocimiento de la mecánica de la madera en conjunto con las fuerzas que interaccionan en la unión adhesivo-sustrato (adherente), lo cual involucra la acción de unir dos materiales entre sí ya sean materiales de igual o diferente composición (**Pizzi, 1994**).

1.2.1 Teorías de adhesividad.

La adhesión se refiere a la interacción de la superficie del adhesivo con la superficie del sustrato, por lo que no debe confundirse con una fuerza de unión. Ciertamente, si hay poca interacción del adhesivo con el adherente, estas superficies se separan cuando se aplica una fuerza determinada. Sin embargo, la resistencia de la unión es más complicada debido a factores como la concentración de esfuerzos, la disipación de energía y debilidad en las capas superficiales a menudo juegan un papel más importante que la adherencia(**Pizzi y Mittal,1994**).

En general, las seis principales teorías que describen el fenómeno de la adhesión son las que a continuación se mencionan:

- 1.- Entrelazamiento mecánico (Interlocking) / Teoría de enclavamiento.
- 2.- Teoría electrónica.
- 3.- Teoría de la interfaces.

- 4.- Teoría de la difusión.
- 5.- Adsorción / teoría de adhesión específica.
- 6.- Teoría del enlace químico.

1.3 Adhesivos para madera en la formación de enlaces y su eficiencia.

Los adhesivos para madera juegan un papel creciente en la industria de los productos forestales y constituye un factor clave para una eficiente utilización de nuestros recursos madereros. Los adhesivos que se usan principalmente en la fabricación de materiales para construcción, incluyendo la madera contrachapada, tableros de fibra orientada, aglomerado, tableros de fibra, estructura de madera compuesta, puertas, ventanas y marcos, así como productos de madera en fabricación con laminado (**Vick, 1996**).

Las fuerzas de atracción entre las moléculas del adhesivo y la madera contribuyen en gran medida a la adhesión. A pesar de los enlaces químicos covalentes entre los adhesivos, no existe evidencia que contribuya a la fuerza de las uniones adhesivas. No obstante, las fuerzas intermoleculares atractivas tales como las fuerzas de Van der Waals, fuerzas dipolo-dipolo y los puentes de hidrógeno, ocurren con tanta frecuencia que deben ser muy importante para la fuerza de la adherencia, especialmente teniendo en cuenta el área de contacto con el adhesivo (**Pizzi y Mittal,1994**).

Por lo tanto, el rendimiento de una unión adhesiva dependerá de lo bien que los complejos factores contribuyan a las propiedades de los enlaces individuales (madera, adhesivos y de las regiones de la interface de la madera-adhesivo) sean controlados durante el ensamble del producto, lo que en última instancia, determina la fuerza de la cadena.

1.4 Propiedades de la superficie de la madera para la adhesión.

Debido al acceso a la superficie por los adhesivos por medio de enlaces, las condiciones físicas y químicas de la superficie de la madera son muy importantes para el rendimiento de los enlaces de manera satisfactoria. La superficie de la madera debe de ser lisa, plana y libre de marcas de la máquina y otras irregularidades de la superficie, incluyendo cepillado y grano molido, rotos o astillados. La superficie debe de estar libre de grietas, exudados, aceites, suciedad y otros desechos que forman una frontera débil entre el adhesivo y la madera **(Pizzi y Mittal, 1994)**.

La superficie de la madera es altamente fragmentable o no puede formar un vínculo fuerte, incluso si el adhesivo forma un fuerte enlace con la superficie. La madera débil debajo de la superficie es la conexión débil en la cadena y de la falla en la localización de la unión. En otros casos, una fuerza de unión es pobre debido a las propiedades químicas de la superficie **(Pizzi, 1994)**.

1.5 Aplicaciones de los adhesivos para madera.

La aplicación física del adhesivo puede comprender solamente una serie de métodos, incluso el uso de spray, recubrimiento con rodillos, método de la cuchilla, recubridor de cortinas y contar con aplicaciones tecnológicas. Después de la aplicación del adhesivo, abre una combinación de algunos y cierra los tiempos de montaje en función del proceso de unión específica. Debe de haber un tiempo necesario entre el adhesivo y la madera para la penetración del primero en el segundo antes de la formación de enlaces, pero el tiempo de montaje abierto provocará la pérdida de disolvente o agua de la formulación **(Green et al. 1999)**.

Largos tiempos de abertura pueden hacer que el adhesivo se seque en la superficie causando uniones pobres, ya que el flujo es necesario para la unión del sustrato. En el proceso de unión, la presión se utiliza para llevar las superficies más cerca. En algunos casos, el calor y la humedad son utilizados durante el

proceso de unión, por lo que más flujo hará más fluido el adhesivo y más deformable a la madera (**River et al. 1991**).

II.-ANTECEDENTES

2.1 La madera.

Se llama madera al conjunto de tejidos del xilema que forman el tronco, las raíces y las ramas de los árboles o arbustos. La madera no es un material homogéneo, sino que está formado por un conjunto de células especializadas en tejidos que llevan a cabo las tres funciones fundamentales del árbol o arbusto: La conducción de la savia, la transformación y almacenamiento de los productos vitales así como sostén del árbol (**García y col. 2003**). Considerándose como un material biológico, renovable, orgánico, poroso, higroscópico, anisotrópico y heterogéneo (**Cruz, 2006**).

2.1.1 Capas que forman el tronco de un árbol.

Cuando se corta el tronco de un árbol maduro en forma perpendicular a su longitud y se observa cuidadosamente, se pueden distinguir varias capas por lo general concéntricas que llegan a tener funciones diversas (**figura 1**).

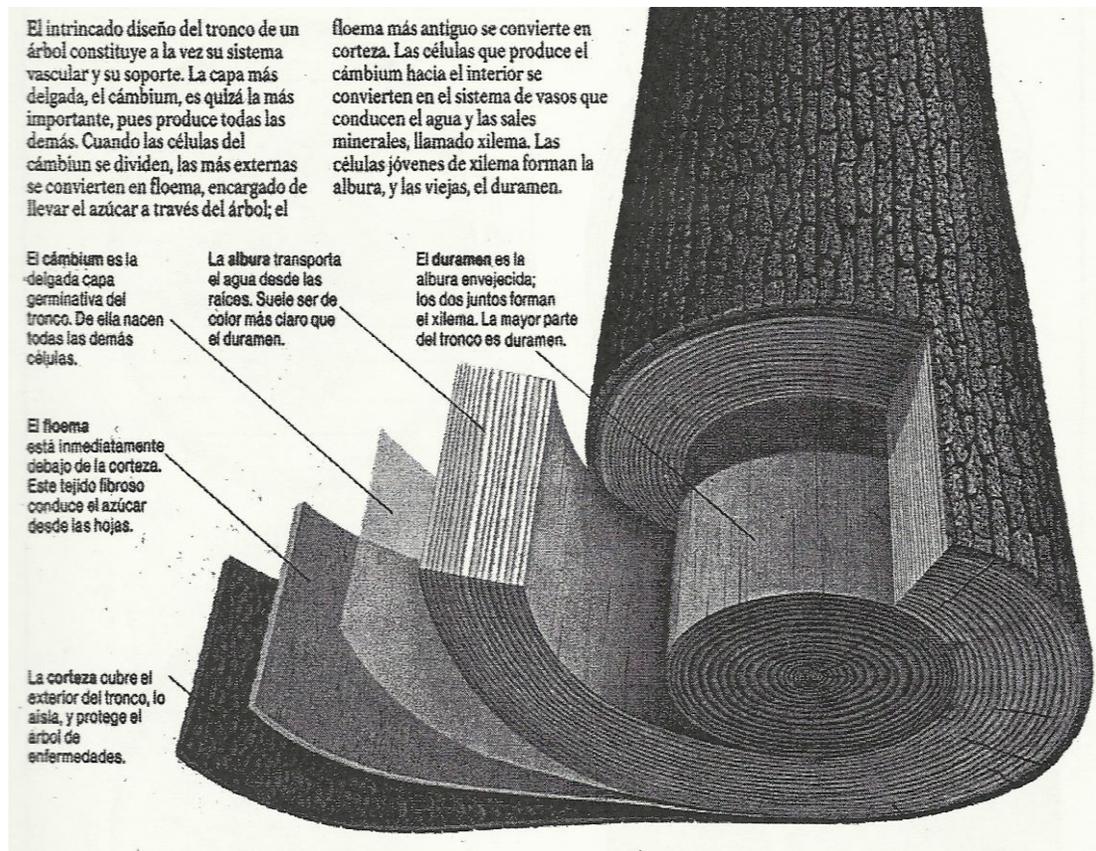


Figura 1.- Capas que forman el tronco de un árbol(García y col. 2003).

- a) **Corteza:** es una capa de espesor irregular, en la que se encuentran dos zonas claramente diferenciadas siendo estas:
1. **Corteza Interna:** es la capa exterior y está formada por células muertas que protegen al árbol de daños físicos, así como de cambios climáticos.
 2. **Corteza Externa:** también llamada FLOEMA, tiene la función de conducir en forma descendente la savia elaborada por las hojas.
- b) **Cambium:** es el tejido generatriz de casi la totalidad de los tejidos que están formando al tronco y por lo tanto es el responsable del crecimiento en grosor del árbol.

- c) **Albura o Sámago:** es la parte viva del tejido leñoso, la cual es casi siempre de color más claro que el duramen por la cual se conduce la savia bruta (agua y sales minerales) en forma ascendente hasta las hojas (**García y col. 2003**).

- d) **Duramen:** aparece contiguo a la albura pero más hacia el interior. El proceso de lignificación en esta capa ya es completo, por lo que le confiere características de durabilidad y resistencias máximas. Su color es normalmente más oscuro que el albura (**Capuz, 2005**). Contiene sustancias solubles como carbohidratos, polisacáridos, alcaloides y taninos que al oxidarse le dan su característico color oscuro.

- e) **Medula:** es la zona que debe ocupar el centro del tronco, es de consistencia frágil (por estar formada de células de parénquima, las cuales pueden ser cuadradas o esféricas de pared muy delgada), o hasta hueca con segmentos. Y respecto a la forma puede ser; de forma circular, elíptica, cuadrada, triangular y en forma de estrella.

2.2 Composición química de la madera.

La madera está compuesta de forma general por tres grupos de macromoléculas que conforman la pared celular: celulosa, poliosas (hemicelulosas) y ligninas (**figura 2**), que están presente en todas las maderas. En menor proporción la conforman las sustancias de baja masa molar conocidas también como extraíbles y las sustancias minerales (**Fengel y Wegener, 1984**).

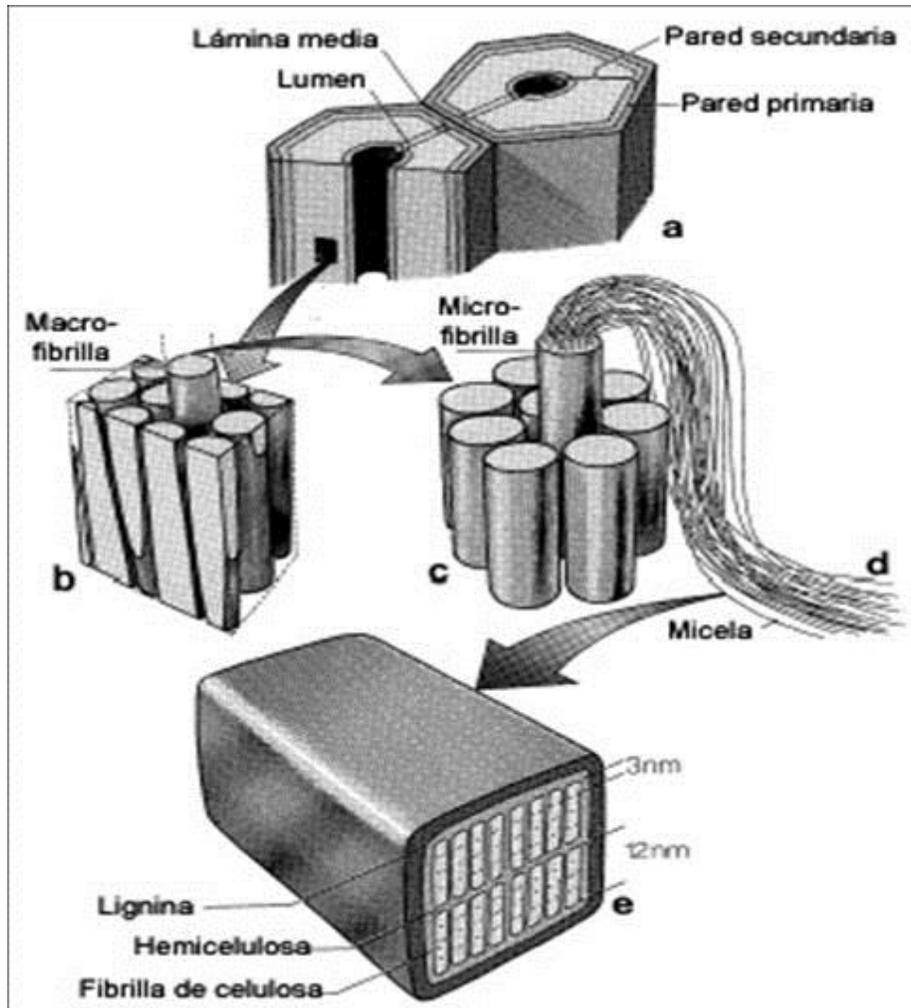


Figura 2.- Representación esquemática de la pared celular vegetal a cuatro niveles (Drawn by G. Tambour, Forstliche Fakultät, Göttingen).

Donde:

- a) Corte transversal de una fibra de madera mostrando la lámina media y la pared celular primaria y secundaria.
- b) Sección transversal de una porción de la pared secundaria con macrofibrillas.
- c) Un manojito de microfibrillas.
- d) Los filamentos micelares.
- e) Corte transversal de una micela, mostrando la composición ultraestructural: la lignina, hemicelulosa y celulosa.

El espacio entre las fibras vegetales (lámina media), microfibrillas, microfibrillas y los filamentos micelares está ocupado por lignina (**Hüttermann, 2001**).

La proporción y composición química de la lignina y las poliosas difiere entre las maderas de coníferas y latifolias, mientras que la celulosa es uniforme en composición en todas las maderas (**Browning, 1967**). La proporción de estos componentes varía con la especie, entre la madera de árboles de la misma especie y en diferentes partes del propio árbol, en la madera de la albura y duramen, en dirección radial y longitudinal (**Fengel y Wegener, 1984**).

2.2.1 La celulosa.

La celulosa es el homopolisacárido que se encuentra en mayor proporción en la madera, es una estructura básica de las células de las plantas y la sustancia más importante producida por este organismo vivo (**Marx y Figini, 1964**), siendo el principal componente de la pared celular (**Fengel y Wegener, 1984**). La celulosa consiste en unidades de anhidro- β - D (+) glucopiranosas en conformación C_1 , unidos por enlaces glicosídicos β -1-4, por lo que se puede describir como un polímero lineal de glucanos. La unidad estructural de la celulosa es la celobiosa (disacárido) con una longitud de 1,03nm (**Fengel y Wegener, 1984**).

El grado de polimerización es del orden de los 15,000, lo que equivale a una masa molar en el orden de los 2,3 millones. Debido al tipo de enlace (β -1-4) la molécula de celulosa tiene una forma lineal, estabilizada por la formación de numerosos puentes de hidrógeno intracadenales e intercadenales. Entre 40 y 70 moléculas se encuentran agrupadas en fibrillas elementales de un espesor de 3,5 y 7,5 nm y una longitud de varios μ m. En ellas las moléculas de celulosa están orientadas longitudinalmente formando un agregado cristalino fuertemente ordenado, en el que todas las moléculas presentan la misma polaridad, lo que

indica que tienen su extremo reductor orientado hacia el mismo extremo de la microfibrilla **(Guardiola y Amparo, 1995)**.

La celulosa presenta un alto grado de cristalinidad, pero no es 100% cristalina, dependiendo de la materia prima de donde proviene. La presencia de hemicelulosas en la celulosa de las maderas parece causar disturbios en la cristalinidad. Cuanto más cristalina es la celulosa mayor es su densidad **(Browning, 1967)**.

2.2.2 Las hemicelulosas.

Las hemicelulosas son importantes en la madera y su localización cobra singular significación, pues todas las células contienen de 50-60% de carbohidratos a excepción de las células del parénquima de las latifoliadas que pueden llegar a poseer hasta 80% de O-acetil-4-O-metilglucuronoxilano. Se conoce que las hemicelulosas se encuentran a lo largo de toda la pared celular, desde la lámina media, hasta la capa S3 de la pared secundaria. Las hemicelulosas presentes en estas paredes son: β (1-3), β (1-4) glucanos, calosa β (1-3), que normalmente se encuentran en pequeñas cantidades y se acumulan como respuesta a una lesión o durante la deformación de las placas cribosas en el floema **(Guardiola y Amparo, 1995); (Fueller, 1996)**.

La función de las hemicelulosas en la madera parece ser de intermediario entre la celulosa y la lignina, tal vez facilitando la incrustación de las microfibrillas.

Probablemente no exista enlace químico alguno entre las hemicelulosas y la celulosa, mas suficiente adhesión mutua que es fortalecida por los puentes de hidrógeno y las fuerzas de Van der Waals **(Fueller, 1996)**. Las hemicelulosas son importantes en la fabricación de pulpa ya que aumenta su rendimiento y aumentan la resistencia del papel. Algunas, como los arabinogalactanos después de separados pueden constituir un subproducto de la fabricación de celulosa, y ser utilizadas como tensoactivo en la industria de tintas **(Guardiola y Amparo, 1995)**.

2.2.3 Componentes extraíbles de la madera.

Todas las especies de madera y la mayoría de los vegetales contienen cantidades variables de algunas sustancias químicas diferentes a los carbohidratos y a la lignina que constituyen la pared celular. De acuerdo con el punto de vista con el que se estén tratando, reciben diversos nombres: Componentes extraños de la madera (porque son diferentes a los compuestos que constituyen la pared celular), sustancias extraíbles o solubles, extractivos, sustancias volátiles (porque muchas de estas sustancias son volátiles o imparten características de olor a la madera) y constituyentes menores.

De manera que la madera está formada por componentes estructurales y no estructurales, los estructurales son los que componen la pared celular y los no estructurales son denominados como **sustancias extraíbles (Bland, 1985)**.

La proporción de estos componentes varía con la especie, entre la madera de árboles de la misma especie y en diferentes partes del propio árbol, en la madera de la albura y duramen, en dirección radial y longitudinal. Los parámetros edafoclimáticos influyen en la composición química, así, se presentan diferencias entre maderas que provienen de zonas templadas con las que provienen de zonas tropicales **(Fengel y Wegener, 1984)**.

2.2.4 Generalidades de los componentes extraíbles de las maderas de coníferas y latifoliadas.

Los extractivos son componentes externos a la madera que pueden ser separados del material insoluble de la pared celular por su solubilidad en agua o solventes orgánicos. A menudo son específicos de cada género o especie, y es posible utilizar su presencia en esquemas taxonómicos basados en su composición química. La clasificación de los extractivos resulta difícil debido a su gran variedad **(Goldstein, 1991)**.

En general, las coníferas tienen un mayor contenido de extractivos que las maderas de latifoliadas. La mayoría de los extractivos en ambas (**coníferas y latifoliadas**) están localizados en el duramen, y algunos son responsables del color, olor y durabilidad de la madera (**Rowell et al., 2005**).

Los extractos se encuentran en la madera en pequeña cantidad, pero su presencia puede interferir en la deslignificación. Los extractivos cubren una gama amplia, desde los de bajo peso molecular, monoterpenos volátiles, hasta sustancias de peso molecular más alto, tales como triterpenos y esteroides, y de los hidrocarburos a las complejas estructuras de polifenoles. La cantidad y la composición de los extractos varían según la especie considerada (**Walker, 2006**).

2.3 Género *Dalbergia*.

De las aproximadamente 100 especies de árboles y arbustos del género *Dalbergia* (**Mabberley, 1987**), aproximadamente 15 están entre las maderas comerciales más valiosas, entre ellas el palo de rosa del Brasil (*Dalbergia nigra*), palo de Rosa de la India (*Dalbergia latifolia*), el palo negro de África (*D. melanoxyton*), el cocobolo de América Central y del sur de México (*Dalbergia retusa* Hemsl, *Dalbergia granadillo*P., *Dalbergia hipoleuca*P. y *Dalbergia leneata*P. y el palo de rosa de Honduras (*Dalbergia stevensoni*Standl).

En China *Dalbergia odorifera* es utilizada en medicina tradicional como antiinflamatorio y anticoagulante (**Cheng y col. 1998**). Se ha reportado que algunas especies de *Dalbergia* poseen alta durabilidad natural ya que presentan actividad antimicrobiana (**Barragán y col. 1994**) y antifúngica, como es el caso de *D.granadillo* (**Rutiaga y col. 1995**). Esta resistencia se encuentra generalmente atribuida a la presencia de sustancias químicas activas que le proporcionan una actividad antifúngica o fungistática (**Deon, 1983**).

2.4 Actividad biológica de algunos extraíbles del género *Dalbergia*.

Los extractivos del género *Dalbergia* representan una alternativa al uso de productos químicos sintéticos, tales como pesticidas, antimicrobianos, antioxidantes, colorantes, antiinflamatorios, antialérgicos anticoagulantes, entre otros.

En *Dalbergia granadillo* se ha encontrado actividad antifúngica contra *Trametes versicolor*, *Coniophora puteana*, *Chaetomium globosum* *Trichoderma viridae* (Rutiaga y col. 1995).

Se reporta actividad antimicrobiana para *D. granadillo*, *D. congestiflora* (Barragan y col 1998), *D. palo escrito* y para *D. candenatensis* (Hamburguer 1988).

Estudios realizados con *Dalbergia melanoxyton* mostraron actividad antimicrobiana con los extractos acuoso y etanólico mientras que con el extracto obtenido con diclorometano tuvo efecto antifúngico (Gundidza y Gaza, 1993).

2.5 La madera como material.

La madera como material estructural ha permanecido en uso desde tiempos antiguos por su versatilidad, resistencia y trabajabilidad (Tsoumis, 1991). En la actualidad, el alto consumo de madera y sus productos derivados hacen que este material sea valioso, por lo que requiere de su preservación para prolongar su periodo de servicio o vida útil (Vignote y Jiménez, 2000). Debido que su principal desventaja proviene de ser un material natural susceptible al ataque de agentes dañinos que la degradan, se necesita tratarle con sustancias externas que incrementen su durabilidad (Groenier, 2006).

La madera como material o como parte de materiales compuestos (compositos) ha incrementado su demanda las últimas tres décadas, dado que los profesionales de la construcción y del diseño de muebles han mostrado gran aceptación de los productos de la industria maderera, como son los tableros aglomerados o tableros contrachapados (Nadine, 2008). Sin embargo, tanto la

madera en tabla como los compositos derivados de ella están en constante exposición al ataque de insectos y microorganismos (especialmente hongos), además del deterioro por factores ambientales.

2.6 Materiales a base de madera.

Debido a que tanto las maderas comerciales como los compositos derivados de ella provienen mayoritariamente de especies arbóreas con baja resistencia natural al ataque de insectos y hongos, para incrementar su durabilidad se recurre a procesos de preservación en los que se adicionan sustancias químicas tanto a la madera en tabla como a los compositos derivados de ella.

Los preservantes químicos que se utilizan actualmente, están formulados con sales de cromo, cobre y arsénico, así como cianatos (**Groenier, 2006**). Ante la necesidad de utilizar los productos de la industria maderera en exteriores, la toxicidad y lixiviación a mediano y largo plazo de los mencionados preservantes hacen que su aplicación tienda a disminuir por las cada vez más rigurosas normas y legislaciones ambientales, en beneficio de la salud humana y de los ecosistemas afectados.

En el ámbito del ensamble y capacidad adherente, los escenarios descritos anteriormente muestran dos grandes problemáticas:

1) Las piezas de madera preservadas presentan problema de resistencia y cualidades mecánicas en sus uniones adhesivas con otras piezas, debido en gran parte a su incompatibilidad con el adhesivo aplicado.

2) los tableros de partículas o laminados presentan deficiencias en su propiedades estructurales y de estabilidad en composición, al adicionar sustancias químicas preservantes durante su fabricación (**Vick, 1996**).

Los parámetros que definen el problema a resolver cuando se quiere preparar adhesivos basados en la lignina o donde la lignina es el componente mayoritario para los tableros de partículas y contra-chapados son:

- (i) El adhesivo debe presentar una gran rigidez, por lo tanto una alta densidad de entrecruzamiento en su estado curado.
- (ii) El adhesivo debe tener la propiedad de un curado rápido, así puede tolerar los tiempos rápidos de prensado equivalentes a los tiempos industrialmente usados.
- (iii) El adhesivo formulado debe poderse utilizar en los procesos existentes o con poca modificaciones de los mismos.

Las mencionadas problemáticas son estudiadas generalmente con la búsqueda del mejor par adhesivo-preservante disponible, sin embargo son escasos los estudios fundamentados en la composición química de la madera.

2.7 Biodegradación de la madera por ataque de hongos.

Los microorganismos más importantes que deterioran la madera forman parte de un grupo primitivo de microorganismos: los hongos, los cuales tienen la capacidad de secretar enzimas especializadas a través de estructuras conocidas como hifas, las cuales degradan la materia orgánica, modificándola químicamente para así ser utilizadas como fuente de carbono y alimento (**Higuchi, 1985**). Antes de que el hongo pueda colonizar la madera, requiere de cuatro condiciones:

- Suministro de oxígeno.
- Temperatura adecuada.
- Suministro de humedad.
- Sustrato como fuente de alimento.

La eliminación de algunos de estos requerimientos puede prevenir el ataque **(Smulski, 1997)**. El deterioro de la madera por efectos de los hongos, está referido a una cantidad de términos que incluyen: pudrición marrón, pudrición blanca, pudrición blanda.

2.7.1 Ciclo biológico de los hongos xilófagos.

Las hifas se originan por la germinación de las esporas que se hallan en el aire a la espera de condiciones favorables para su desarrollo. Las esporas son trasladadas por el viento, los animales, el agua, etc. **(Capuz, 2005)**. Al entrar en contacto con la madera susceptible pueden germinar **(Hunt, 1952)**. Las hifas se introducen en la madera a través de los elementos leñosos, vasos y traqueidades, alimentándose de las sustancias de reserva o segregando enzimas que producen la descomposición de la pared celular.

La pudrición puede extenderse también sin la formación de esporas, por crecimiento directo del micelio desde la madera infectada (o suelo) hasta la madera sana en contacto con ella. Cuando hay suficiente humedad en el aire, el micelio puede desarrollarse en la superficie de la madera y extenderse creciendo sobre sustancias inertes para atacar madera sana **(Hunt, 1952)**.

Una vez que la pudrición ha rebasado el periodo incipiente, el aspecto exterior de la madera se altera de manera cada vez más perceptible. Las paredes de la célula se desintegran definitivamente, y la madera experimenta grandes cambios en el color, textura, continuidad y resistencia mecánica **(Hunt, 1952)**.

2.7.2 Tipos de pudriciones.

En su estado natural, la combinación de celulosa y lignina, no es adecuada para que los hongos puedan emplearla. Pero las hifas, que segregan sustancias químicas llamadas fermentos o enzimas, desintegran las paredes celulares y las

convierten en compuestos nutritivos más simples, que son solubles y que pueden ser fácilmente asimilados por los hongos (**Hunt, 1952**).

Los tres tipos básicos de pudrición son: blanca, marrón y pudrición blanda. Estos tipos de pudrición constituyen formas de ataque enzimático en la madera.

Pudrición marrón:

Es producida por hongos basidiomicetos, éstos son los más abundantes en las coníferas, pero pueden ser encontrados en otros tipos de ambientes tales como varios suelos. Estos hongos pueden atacar madera sin tratar y madera preservada, pero tiene preferencias por maderas que no han sido tratadas. Uno de los hechos característicos del ataque de la pudrición marrón es que la celulosa es rápidamente despolimerizada, aún en las etapas más tempranas de la pudrición y así la pérdida de la resistencia puede ser muy grande (**Singh y Kim, 1997**).

Durante la pudrición los carbohidratos son extensivamente despolimerizados y removidos. Además, la lignina también puede ser modificada, aunque residuos de la lignina permanecen. La degradación de la madera aparece marrón debido a la gran presencia de lignina (**Singh y Kim, 1997**).

Pudrición blanca:

Los hongos que producen este tipo de pudrición también pertenecen a los basidiomicetos. Son particularmente activos en los ecosistemas forestales produciendo una extensiva pudrición en los árboles caídos dentro del bosque. Las especies latifoliadas son más susceptibles que las coníferas y las maderas no tratadas son más fácilmente atacadas que las maderas preservadas.

Los hongos de pudrición blanca pueden degradar todos los componentes de la pared celular, incluyendo la lignina y algunas especies están especializadas en la degradación primaria de la lignina con una amplia falta de ataque a la celulosa. Además, pueden originar posteriormente la oxidación de los azúcares

formados. Estos hongos causan "blanqueamiento de la madera". La formación de canales de erosión dentro de la pared celular es el hecho morfológico característico de este tipo de ataque **(Singh y Kim, 1997)**.

Pudrición blanda:

A este grupo pertenecen ciertos miembros de los Ascomicetes y Deuteromicetes, los cuales son particularmente activos bajo condiciones en las que la pudrición marrón y blanca no lo son (madera preservada, elevados contenidos de humedad). El ataque en las coníferas resulta en la formación de cavidades en la pared secundaria, la cual se observa al microscopio óptico como perforaciones en un corte transversal a las fibras: en la sección longitudinal estas cavidades se observan orientadas paralelas a las microfibrillas de la celulosa; en las latifoliadas se observa como erosión de la pared celular **(Sing y Kim, 1997)**.

2.8 Formulaciones adhesivas para madera a base de resinas sintéticas.

Durante el Siglo XX, los adhesivos de madera pasaron de naturales a polímeros sintéticos orgánicos. Un polímero es una molécula grande construida de muchas pequeñas unidades repetidas. Los polímeros naturales de polisacáridos y proteínas en la sangre, piel, caseína, soya, almidón, dextrina, y otros tipos de biomasa han sido utilizados como adhesivos durante siglos. Estos polímeros se encuentran todavía en uso hoy en día, a pesar de que han sido remplazados por los sistemas de petroquímica y sistemas basados en gas natural. Los primeros adhesivos a base de polímeros sintéticos fueron producidos comercialmente en la década de 1930 **(Pizzi, 1994)**.

Los polímeros sintéticos se pueden hacer más fuertes, más rígidos y más durables que la madera, y por lo general tienen mucha resistencia al agua que los adhesivos tradicionales de polímeros naturales. Sin embargo, los recientes avances en la biomasa de adhesivos se han hecho más competitivos con los

combustibles fósiles basados en adhesivos que son los tradicionales (**Green et al., 1991**).

Si un adhesivo sintético es termoplástico o termoestable tiene una gran influencia en su desempeño en el servicio. Los termoplásticos son polímeros de cadena larga que suavizan y el flujo de calor y luego se endurecen al enfriarse de nuevo. Por lo general, tienen más resistencia al calor, la humedad y largo plazo la carga estática que los polímeros termoestables. Común adhesivos termoplásticos para la madera incluyen poli (acetato de vinilo) emulsiones, elastómeros, los contactos y de fusión en caliente (**River et al. 1991**).

Polímeros termoestables son excelentes adhesivos estructurales, ya que experimentan un cambio químico-irreversible una vez curada, y el recalentamiento, que no se ablandan y fluyen de nuevo. Forman polímeros entrecruzados que pueden tener una alta resistencia, resistente a la humedad y otros productos químicos, y son lo suficientemente rígidas para soportar altas temperaturas (**Pizzi y Mittal, 1994**).

2.9 Ataque por hongos a materiales de madera.

2.9.1 Hongos lignolíticos.

Estos hongos denominados hongos de la pudrición blanca de la madera, comprenden un grupo de organismos cuya característica es su capacidad para mineralizar eficientemente la lignina. Probablemente esta degradación selectiva les permite tener acceso a la celulosa y/o hemicelulosa, las cuales finalmente representan su fuente de energía y carbono (**Usnayo, 2007**).

Estos organismos, en su mayoría, se desarrollan formando un micelio macroscópico, constituido por hifas tabicadas, cuyas paredes están constituidas, principalmente por quitina y hemicelulosa (glucanas y mananas) (**Herrera, 1998**).

A su vez, pertenecen al grupo de los Basidiomicetos, los cuales en alguna fase de su ciclo biológico, forman esporas sexuales llamadas basidiosporas (figura 3).

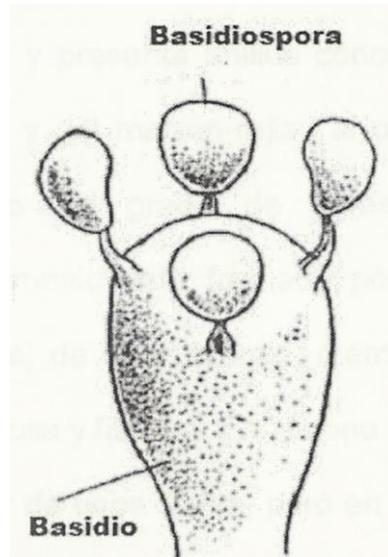


Figura 3.- Basidiosporas (Laura y col. 1997).

Las basidiosporas son esporas de origen sexual. Se producen a partir de la unión de dos hifas de sexo diferente. En determinado momentos los núcleos de sexo opuesto se fusionan dentro de una célula llamada basidio, los núcleos migran hacia estructuras externas especializadas llamadas esterigmas y se convierten en basidiosporas (Laura y col. 1997).

Los hongos ligninolíticos han desarrollado un sistema enzimático único. El mecanismo del sistema degradador de la lignina está basado en la pudrición de radicales libres. Se han identificado dos familias de enzimas extracelulares ligninolíticas, las peroxidasas y las lacasas (Usnayo, 2007).

2.9.2 *Trametes versicolor*

El hongo de pudrición blanca llamado *Trametes versicolor* es uno de los más agresivos para la madera de latifoliadas, razón por lo que la norma

internacional Anual Book of Standar (ASTM, 1986) lo recomienda para los ensayos de durabilidad.

Este hongo desarrolla cuerpos fructíferos o setas (basidiomas) con sombreros de 3 a 6 cm, delgados de borde ondulado, carece de pie, crecen de forma imbricada (sobrepuestos unos de otros). La cara superior es aterciopelada, satinada y presenta anillos concéntricos de varios colores, del pardo al blanco y del marrón al ocre, a veces con iridiscencias (**figura 4**), dependiendo del grado de humedad presente en el medio ambiente (**Menéndez,2006**). Las esporas son cilíndricas ligeramente curvas de 5.5-7x2 micras. Posee un sabor agridulce y olor agradable, crece sobre madera muerta generalmente de árboles caducifolios. Este hongo tiene la capacidad de degradar lignina por lo que es un hongo ligninolítico (**Tien y Kirk, 1984**).



Figura 4.- Cuerpo fructífero de *Trametes versicolor*(**Menéndez, 2006**).

2.9.3 Enzima lacasa.

El hongo *Trametes versicolor* posee una de las enzimas más efectivas para degradar lignina, la enzima Lacasa (**Glenn y col. 1983**) (**figura 5**). Esta enzima es una fenol oxidasa que debe su nombre al origen de su descubrimiento, hace

más de un siglo, en el árbol japonés de la laca: *Rhus vernicifera* (Yoshida, 1883). Se encuentra ampliamente distribuida en plantas superiores, diversas clases de hongos y algunas bacterias (Gianfreda y Bollag, 1999), siendo los hongos ligninolíticos los mejores productores de esta enzima (Leonowicz y col. 2001).

Las lacasas son glicoproteínas extracelulares (Reinhamar, 1984) con pesos moleculares entre 60 y 80 kDa, y del 15 al 20% de su peso molecular está dado por carbohidratos (Shah y Nerud, 2002). Además son capaces de catalizar la reducción del oxígeno a agua, sustrayendo 4 electrones y análogamente oxidar una variedad de sustratos.

Contiene cuatro tipos de cobre, uno llamado “azul” o tipo I (T_1), que absorbe a 600nm y un acoplamiento con un cobre tipo II (T_2) o cobre “normal”, indetectable por absorción óptica y un par tipo III (T_3) o acoplamiento “antiferromagnético” que tiene una banda de absorción a 330 nm, acoplados binuclearmente a través de un puente hidróxido (Santagostin y col 2004). Este enzima se encuentra constituida por tres dominios (figura 6). El cobre T_1 mononuclear, se encuentra localizado en el dominio 3 quelado por dos histidinas y una cisteína. Los otros tres cobres están acoplados trinuclearmente junto con 8 residuos de histidina pertenecientes a los dominios 2 y 3. Comúnmente en las estructuras cristalográficas el cobre T_2 se encuentra ligado a dos histidinas y una molécula de agua o grupo dioxígeno, en cambio el sitio binuclear cobre T_3 contiene 3 histidinas ligadas al cada cobre.

Un promedio de las estructuras cristalográficas para la lacasa muestra que los cobres (cobre II y cobre III) del acoplamiento trinuclear se encuentran ligados entre sí con una distancia de aproximadamente 4 Å y que el cobre I se encuentra a 13 Å del sitio trinucleado (Solomon y col 1996).

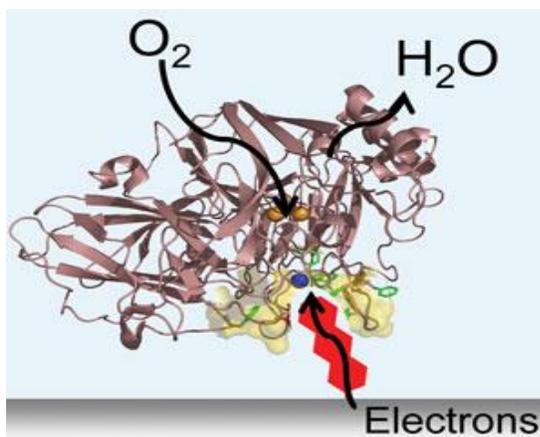


Figura 5.- Estructura de Lacasa
(Blanford y col 2007)

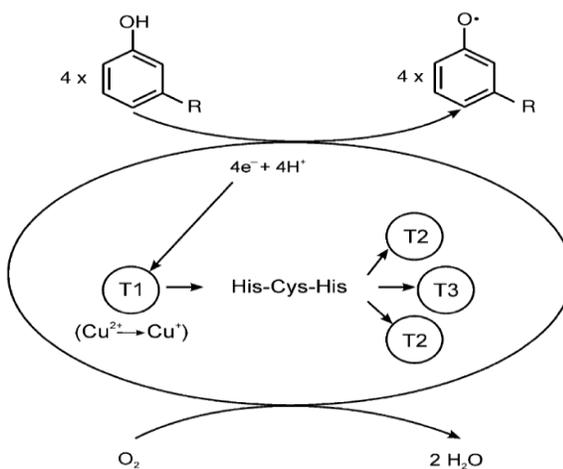


Figura 6.- Ciclo catalítico de la enzima lacasa: Oxidación monoeléctronica de una molécula de sustrato (fenoles, aminas aromáticas ó alifáticas) al radical reactivo correspondiente. La base catalítica de la enzima está formada por el agrupamiento de cuatro átomos de cobre.

2.10 Formulaciones adhesivas a base de lignina.

2.10.1 La lignina.

Después de la celulosa, la lignina se considera como el material orgánico más abundante en el planeta. El porcentaje en masa y las características de la

lignina dependen fundamentalmente de la especie vegetal por lo que en la madera, su contenido varía entre 19 y 35% **(Dence y Lin, 1992)**.

La mayor parte de la lignina se encuentra dentro de las paredes celulares, entremezcladas con las hemicelulosas y formando una matriz que rodea las microfibrillas de celulosa. Este compuesto provee de rigidez a las plantas superiores ya que actúa como agente cementante entre las fibras de celulosa formando la lámina media **(Kirk y Farrell, 1987)**.

La lignina se define como un material polifenólico, amorfo generado por la copolimerización de tres monómeros fenilpropanoicos, donde este biopolímero contiene alrededor de 10-20% de grupos hidroxilo fenólicos que le confieren rigidez a la pared celular de las plantas y además las protege del ataque de organismos patógenos **(Dence y Lin, 1992)**. Biosintéticamente, la lignina proviene de tres alcoholes precursores: el alcohol p-hidroxicinámico o cumarol, el alcohol 4-hidroxi-3-metoxicinámico o coniferol y el alcohol 3,5-dimetoxi-4-hidroxicinámico o sinapol **(Brown, 1985)**.

El monómero que sintetiza la planta para la conformación de la lignina es el coniferol. A medida que por procesos bioquímicos se va formando el resto de la molécula estos monómeros se modifican, agregando un grupo metoxilo en la posición 5, formando el alcohol sinapol, o por eliminación del grupo metoxilo del coniferol de la posición 3, dando el alcohol p-hidroxibencílico o cumarol, **(figura 7)**.

La proporción de los tres monómeros varía dependiendo del lugar de la planta y por especies. Sin embargo, la diferencia principal está entre coníferas, latifoliadas **(Higuchi, 1985)**.

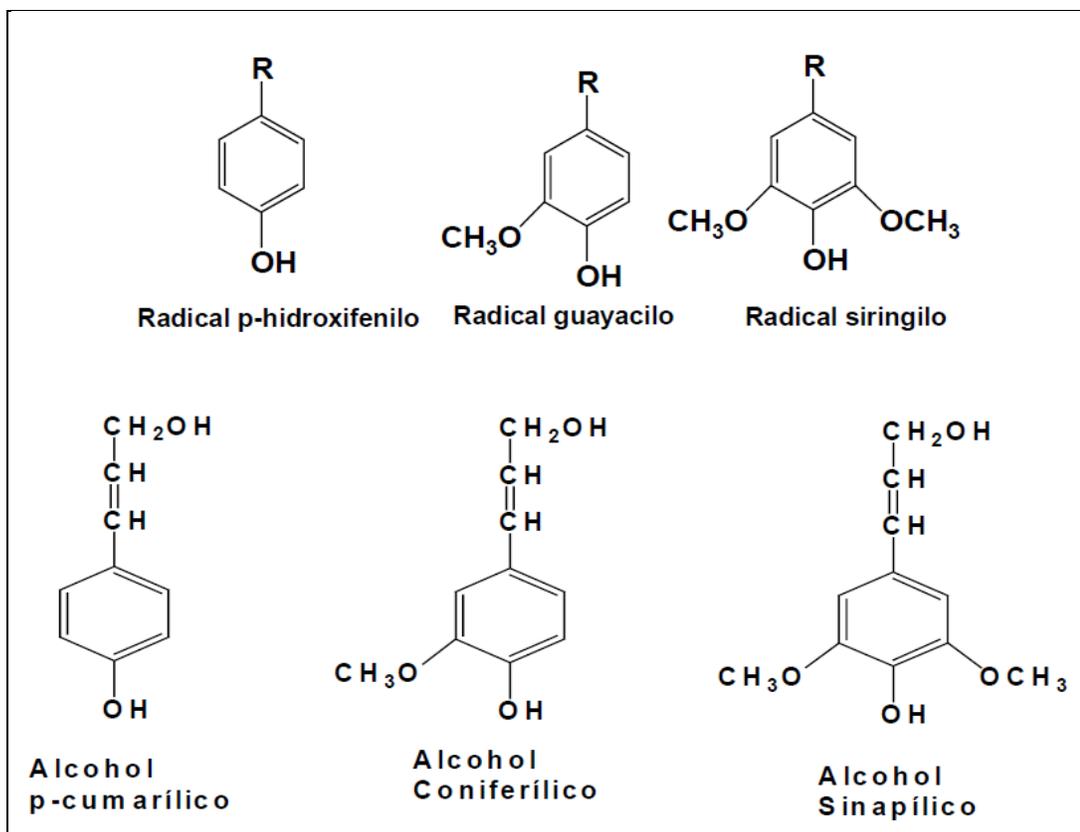


Figura 7.- Unidades y monómeros básicos de la lignina (García y Col., 2003)

La copolimerización por radicales libres de estos alcoholes, iniciada por peroxidasa vegetales, da lugar al polímero de lignina (Kirk y Farrell, 1987). Químicamente este polímero es heterogéneo, amorfo, ópticamente inactivo y altamente ramificado (Fritsche y Hofrichter, 1999), donde no existe ninguna unidad repetida, las ligninas se clasifican en ligninas de coníferas y lignina de madera de latifoliadas (Carballo, 1990).

En el 2001 Ralph y colaboradores obtienen estructura parcial de lignina mediante análisis de resonancia Magnética Nuclear (figura 8).

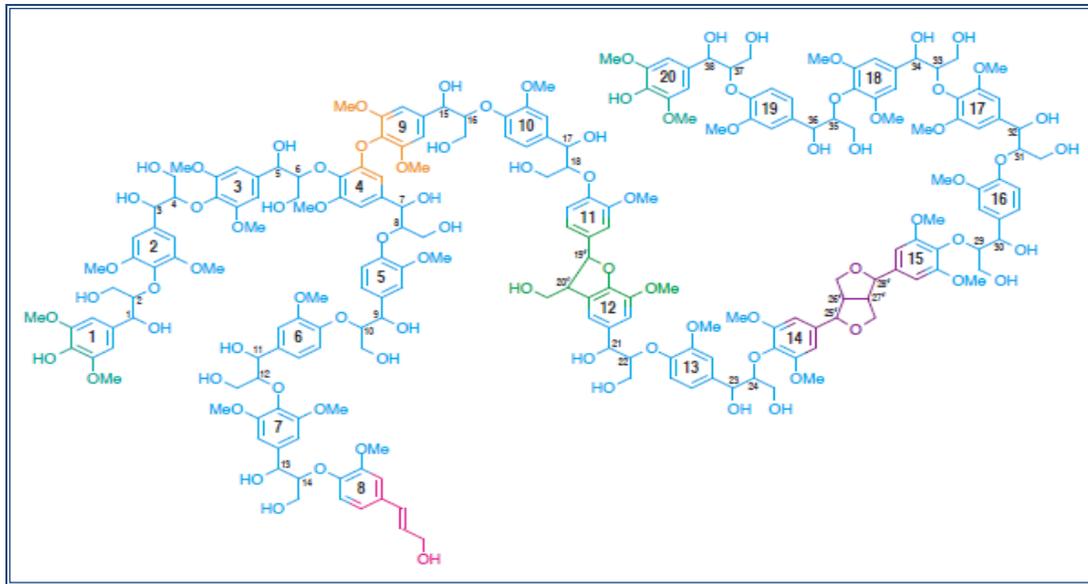


Figura 8.- Modelo experimental lignina, obtenido por RMN (Ralph y col. 2001).

La lignina posee propiedades aglutinantes que conforman la consistencia fibrosa de las maderas (revistiendo las células del xilema), donde realizan la función mecánica de sostén. Su composición depende de muchos factores: el método utilizado para aislarla, la especie que se estudie, la edad, parte del árbol y las condiciones ambientales en que se ha desarrollado el árbol (**Browning, 1967; Carballo, 1989**).

Esta sustancia amorfa es parte de la lámina media y también en la pared secundaria de las células de madera. Durante el desarrollo de la célula, la lignina es incorporada como último componente de la pared celular penetrando las fibrillas y fortaleciendo la pared celular (**Fengel y Wegener, 1984**).

Definiendo a una molécula de lignina con un peso molecular de entre 600-1000 kDa, es evidente que su tamaño le impide poder ser degradada intracelularmente (**Kirk y Farrell, 1987**). Además, por el tipo de enlaces covalentes que presenta (aril-éter, aril-aril y carbono-carbono) y su heterogeneidad, no puede ser degradado por mecanismos típicos de hidrólisis (**Fengel y Wegener, 1984**). Por lo tanto, cualquier enzima o grupo de enzimas

capaces de atacar inicialmente la lignina, deben ser además de extracelulares, no hidrolíticas y bastante inespecíficas (**Kirk y Farrell, 1987**)

2.10.2 Lignina como adhesivo.

Se estima que la biosfera contiene 3×10^{11} toneladas de lignina y produce anualmente 2×10^{10} de toneladas (**Biermann, 1996**). La producción de lignina disuelta proviene de los procesos de fabricación de pasta para papel alrededor de 50 millones de toneladas anuales, esta lignina es utilizada como combustible para generar energía al mismo proceso (**Hunt, 1964**).

Las ligninas se consideran productos de deshecho en la industria de celulosa y papel, sobre todo en los procesos de blanqueo donde la eliminación de la lignina es el principal objetivo (**Casey, 1985**). El principal uso de la lignina residual o licor negro en la industria de celulosa y papel es como combustible ya que por su alto poder calorífico se generan la energía necesaria para abastecer el mismo proceso, lo cual limita el potencial natural de la lignina como materia prima para producir productos de mayor valor agregado.

Trabajos recientes han formulado adhesivos a partir de lignina y/o mezclas de la misma con el fin de desplazar los agentes tóxicos en las formulaciones actuales. Por ejemplo se han hecho estudios tratando a la lignina en un medio alcalino y haciéndola reaccionar con un aldehído no tóxico y no volátil como es el glioxal para remplazar el formaldehído (**Mansouri, 2007**). Los tableros fabricados bajo esta metodología cubren perfectamente las normas y estándares internacionales para las especificaciones de paneles exteriores (**Pizzi, 2005**).

Realmente, la lignina existe como materia menos tóxica y de menor precio comparado con el fenol. Así, su uso para reemplazar fenol en las resinas fenol-formaldehído o en mezclas de adhesivos cuyos precios dependen de las fluctuaciones del precio del petróleo y una oferta menor a la demanda, considerándose de tal forma como una alternativa atractiva desde el punto de vista

económico y ambiental. Además, este polímero es un recurso renovable, y tiene estructura química semejante a la de resinas fenol-formaldehído **(Nimz, 1983)**.

Todas las ligninas tienen relativamente baja dispersidad, lo cual indica que tienen una alta fracción de bajo peso molecular **(Gilarránz y col. 2000)**. Estas ligninas con altas fracciones de moléculas de bajo peso molecular son deseables en las reacciones de condensaciones en resinas fenol formaldehído por ser más reactivos comparados con ligninas de alto pesomolecular **(Pizzi, 1994)**.

Debido a lo anterior se tiene que los centros activos (posiciones C-3 y C-5 no sustituidos en el anillo aromático de la unidad C9) en la lignina son importantes para la preparación de materiales basados en el uso de lignina (adhesivos, resinas quelatentes, resinas de intercambio iónico, etc.) bajo condiciones alcalinas. Por ejemplo, el potencial de uso de lignina en la formulación de adhesivos está estrictamente relacionado con el número de los centros activos en los fragmentos de lignina que reaccionan con el formaldehído **(Pizzi y col. 1989)**.

La lignina nativa o protolignina pudiera ser utilizada como adhesivo por su estructura similar al fenol, sin embargo ya que la lignina sufre degradación, aun muy ligera, por el método de extracción (lignina kraft, lignina organosolv, etc.) tienen que recibir un tratamiento posterior para poder llegar a la estructura fenólica con capacidad adhesiva. Una vez que se tiene este tratamiento, ya sea por reacción de condensación en la lignina por calor ó ácidos minerales, la lignina no llega a ser tan eficaz como las resinas sintéticas **(Pizzi, 1994)**, aunque existen formulaciones lignina-fenol en la fabricación de tableros de partículas, en tableros de fibras y en tableros de madera contrachapada.

Para hacer la descripción físico-química de la adhesión entre el adhesivo y el adherente, es necesario determinar los enlaces formados por grupos covalentes, fuerzas de Vander Waals, puentes de hidrogeno, interacciones electrostáticas y de grupos no covalentes. Es conocido que las resinas derivadas de fenol-formaldehído (PF), actúan de manera covalente con la celulosa para formar los enlaces con el

tejido leñoso (**Drumm, 1972**). Actualmente las resinas de PF son producidos en gran escala como adhesivos y como recubrimientos para madera.

Para aumentar la capacidad adhesiva de la lignina residual proveniente de los procesos de pasta y papel, actualmente se siguen estudiando modificaciones moleculares, en base a:

1. La sustitución de fragmentos de lignina con un fenol, que aumenta su reactividad.
2. La activación del anillo aromático de la lignina como en el caso del fenol formaldehído

Estudios químico-cuánticos y experimentales (**Hatfield, 1987**) muestran la capacidad adhesiva de resinas de PF debido a la facilidad de rotación del grupo metileno y del hidroxilo para la formación de puentes de hidrógeno. En la actualidad se han logrado estudios sobre la interacción de modelos de lignina sobre modelos de celulosa cristalina (**López y col. 2010**), así como de la reactividad intrínseca de los precursores de las ligninas (**López y col. 2008**), en los que se describe a nivel molecular los acoplamientos y tipos de enlace que favorecen la capacidad cementante de formulaciones adhesivas a base de ligninas despolimerizadas.

2.11 Desarrollo de adhesivos con capacidad preservante.

La creciente preocupación del uso de sustancias preservantes para madera y compositos de madera, en base a compuestos químicamente agresivos a la salud humana y los ecosistemas, habría motivado una tendencia a desarrollar adhesivos en base a resinas naturales que integraran compuestos biocidas, estáticos o dinámicos en su formulación. Hasta donde alcanza nuestro conocimiento, no se han reportado investigaciones con este tema.

Considerando la necesidad de desarrollar productos madereros eco-amigables, durables y con exacerbada capacidad al biodeterioro, los antecedentes descritos abren una ventana de oportunidades en la generación del conocimiento y fundamentación en la innovación de formulaciones adhesivas con capacidad cementante.

2.12 Durabilidad natural de la madera.

La durabilidad natural de la madera se define como la capacidad que esta presenta para resistir la acción del intemperismo y el ataque de organismos biológicos que la deterioran, tales como hongos, insectos, etc. (**Honorato y col. 2001**). La durabilidad natural se clasifica en 5 clases (**tabla 1**).

Tabla 1.- Clasificación de la durabilidad natural de la Madera (**Cruz, 2006**).

Clase de Durabilidad	Clasificación	Duración (años)
1	Muy durable	>25
2	Durable	15-25
3	Moderadamente durable	10-15
4	No durable	5-10
5	Muy susceptible	<5

Muchas de las especies latifoliadas que presentan una transición abrupta albura-duramen, poseen una particular resistencia o mejor aún una biorresistencia al deterioro por la acción de hongos, bacterias e insectos. Esta resistencia se encuentra generalmente a la presencia, en las paredes celulares de la madera, de

sustancias químicas activas que juegan un rol importante en la durabilidad natural (Velásquez y col. 2006).

2.12.1 Biopreservantes de maderas basados en extractos naturales.

En la actualidad, el alto consumo de madera y sus productos derivados hacen que este material sea valioso, hecho significativo para el campo de la preservación de estos productos, pues deben ser tratados cuidadosamente para prolongar su periodo de servicio o vida útil. La durabilidad natural de la madera puede ser efectivamente incrementada por la protección química. Sin embargo, los químicos contaminan el ambiente y perjudican al ser humano, por esto, y hasta donde sea posible, el uso de fungicidas e insecticidas químicos debiera ser minimizado y debiera buscarse otras formas de protección de la madera (Weissenfeld, 1988).

De acuerdo con esto, la preservación química de la madera podría ser minimizada y aplicada solamente cuando sea necesario.

Esto es muy pertinente, fundamentalmente cuando restricciones ambientales recientes limitan el uso de una gran cantidad de biosidas para la preservación de la madera y cuando los estándares son más exigentes, cambiando dramáticamente el espacio donde actúa la preservación de la madera, fenómeno más notorio en los países desarrollados (Willeitner, 1991). En estos países surgen otros problemas relacionados: el incremento de los problemas de deposición de la madera tratada y que se encuentra fuera de servicio, como en el desarrollo de nuevos métodos, ambientalmente más amigables para el control de hongos e insectos xilófagos, sin contar con el periodo de "re- educación" para asimilar y asumir estos cambios.

Este enfoque ecológico implica el desarrollo de la llamada "protección natural" con preservantes menos dañinos al ambiente y al ser humano y que sean

selectivos solamente a organismos que destruyan la madera. Estos preservantes deberán ser biológicamente degradables (**Willeitner, 1991**).

Así, los preservantes de madera basados en flavonoides y extractos fenólicos, fundamentalmente taninos, han despertado interés y están siendo desarrollados (**Lakes y Mc Kaig, 1988; Dirol 1994; Pizzi y Baecker, 1996**), debido a su habilidad de formar quelatos insolubles con varios iones metálicos, incluyendo cobre (McDonald y col, 1996). Este tipo de preservantes son muy ventajosos por generar un bajo impacto ambiental tanto en su preparación como durante su aplicación. Además, por la posibilidad de brindar una gran seguridad a los usuarios y finalmente por los potenciales beneficios sociales y económicos de estos productos como sustitutos de los derivados del petróleo (**González y Pizzi, 1996**).

También las propiedades insecticidas de los extractos han sido probadas, en este caso contra termitas de madera seca *Incisitermen marginipennis* (**Raya, 2008**) los que han resultado bastante efectivos. Sin embargo, se debe pensar en diversificar los métodos de control a las formas de tóxicos, repelentes, atrayentes, baños tóxicos, tratamientos en las barreras de suelo y tratamiento tópicos de la madera (**Hutchins, 1997**).

Es muy importante mantener en mente que el descubrimiento de los extraíbles responsables de la actividad antifúngica en maderas de alta durabilidad natural, es el punto de partida para el desarrollo de métodos para obtenerlos mediante estrategias de síntesis orgánica (**Gustine, 1987**) o mejor aún, a través del estudio de especies intermediarias que no estén el peligro de extinción (**Lining, 1995**).

III.- JUSTIFICACIÓN.

El potencial de las ligninas está aun en desarrollo ya que son considerados productos de deshecho en la industria de celulosa y papel. La mayoría de ellas se incineran para generar energía y reciclar agentes químicos para el propio propósito, sobre todo en los procesos de blanqueo donde la eliminación de la misma es el principal objetivo. Sólo una cantidad limitada ha sido utilizada para diferentes aplicaciones tal como los biomateriales, bioestabilizantes, alimentos de animales, productos sanitarios y cultivos de cosechas, lo cual limita el potencial natural de la misma como materia prima para producir productos de mayor valor agregado.

De modo que trabajos recientes han formulado adhesivos a partir de lignina y/o mezclas de la misma con el fin de desplazar los agentes tóxicos en las formulaciones actuales. Por ejemplo, se han hecho estudios tratando a la lignina en un medio alcalino y haciéndola reaccionar con un aldehído no tóxico y no volátil como es el glioxal para remplazar el formaldehído **(Mansouri, 2007)**. Los tableros fabricados bajo esta metodología cubren perfectamente las normas y estándares internacionales para las especificaciones de paneles exteriores **(Pizzi, 1994)**.

Por lo que tomando en cuenta el uso de sustancias preservantes para madera y compositos de la misma, en base a compuestos químicamente agresivos a la salud humana y los ecosistemas, habría motivado una tendencia a desarrollar adhesivos en base a resinas naturales que integraran compuestos biosidas, estáticos o dinámicos en su formulación.

Considerando la necesidad de desarrollar productos madereros eco-amigables, durables y con exacerbada capacidad al biodeterioro, los antecedentes descritos abren una ventana de oportunidades en la generación del conocimiento y fundamentación en la innovación de formulaciones adhesivas con capacidad cementante.

Uno de los ámbitos donde se espera impacten los resultados del presente trabajo, es el de los productos derivados de la madera. Cuando se quiere preparar adhesivos basados en la lignina o donde la lignina es el componente mayoritario para los tableros de partículas y contra-chapados, los parámetros que definen el problema a resolver son:

- (i) El adhesivo debe presentar una gran rigidez, por lo tanto una alta densidad de entrecruzamiento en su estado curado.
- (ii) El adhesivo debe tener la propiedad de un curado rápido, así puede tolerar los tiempos rápidos de prensado equivalentes a los tiempos industrialmente usados.
- (iii) El adhesivo formulado debe poderse utilizar en los procesos existentes o con poca modificaciones de los mismos.

El escenario de oportunidades para el desarrollo de formulaciones adhesivas antifúngicas para madera, a base de lignina despolimerizada y extraíbles de latifoliadas, hace necesarias investigaciones y trabajos como el presente. Con ello se promueve la innovación de productos eco-amigables que aprovechen integralmente el conocimiento químico de materiales lignocelulósicos.

IV.-HIPOTESIS

A partir de la vinculación entre el desarrollo de formulaciones adhesivas a base de lignina despolimerizada y la incorporación de extraíbles con capacidad antifúngica se generara una postulación adhesiva antifúngica para madera.

V.- OBJETIVOS.

5.1 Objetivo general

Desarrollar formulaciones adhesivas con capacidad antifúngica para maderas a base de ligninas despolimerizadas y extraíbles de latifoliadas, mediante la comparación respecto a formulaciones conocidas.

5.2 Objetivos específicos

- Conocer las técnicas y condiciones en el desarrollo de formulaciones adhesivas para madera en base a ligninas despolimerizadas.
- Obtener y cuantificar lignina a partir de coníferas comerciales por el método Klason.
- Desarrollar formulaciones de adhesivos experimentales adicionados con sustancias antifúngicas.
- Elucidar la fuerza adhesiva y el efecto preservante respecto a formulaciones conocidas.

VI.- MATERIAL Y MÉTODOS.

Para la realización de este trabajo, así como el de alcanzar los objetivos planteados se adoptó una metodología dividida en dos fases. La primera se realizó en la Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera (FITECMA) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) Morelia, Michoacán, en la cual se llevaron a cabo las actividades correspondientes a este trabajo. Parte de las actividades siguientes se llevaron a cabo en la estancia de investigación realizada en la institución **Escuela nacional superior de las industrias de madera (e/n/s/t/i/b) de la Universidad de Nancy 1, Francia**(figura 9).

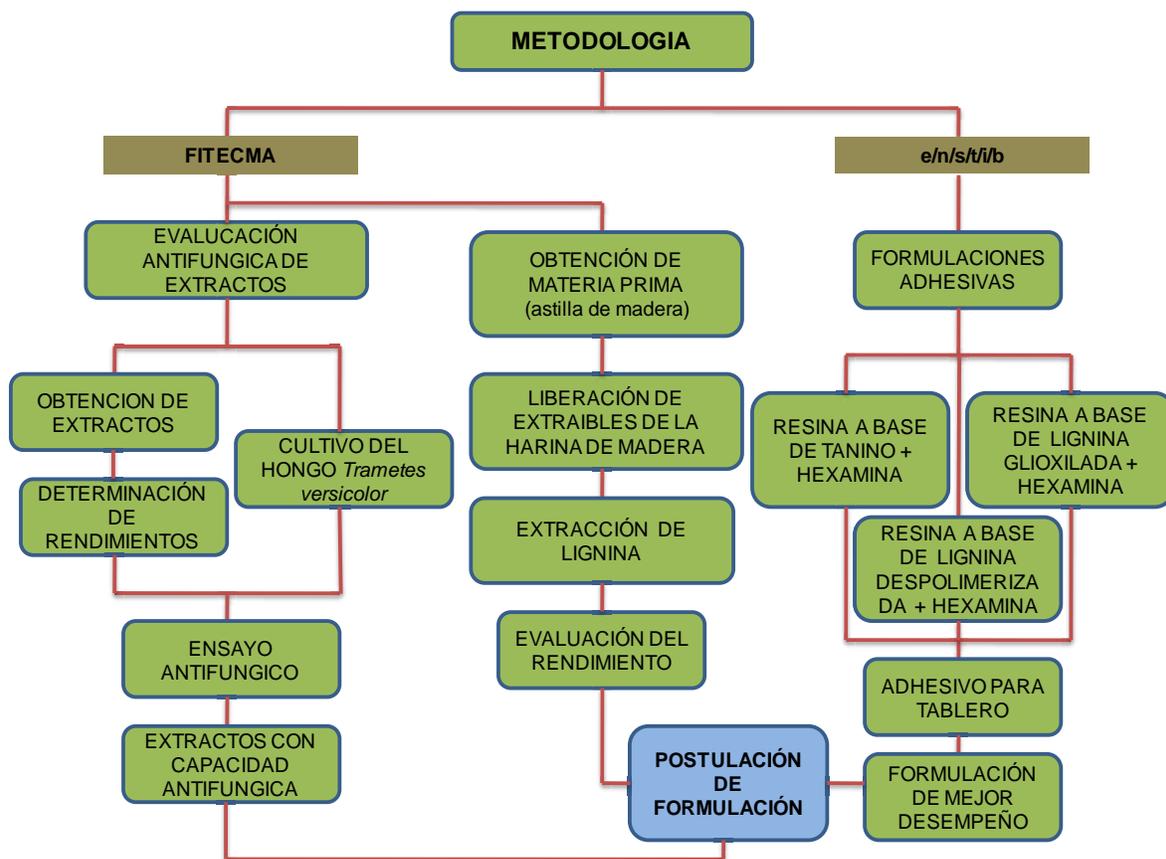


Figura 9.- Diagrama que esquematiza la metodología.

6.1 Fuente de madera para el estudio.

La madera que fungió como fuente de lignina, se obtuvo de árboles seleccionados para pulpeo que serían procesados en Kimberly-Clark de México S.A. de C.V., Cepamisa Mill-BirKner ubicados en el Ejido de Cointzio, 58000 Morelia, Michoacán, siendo estos obtenidos de aserraderos y plantaciones del Estado de Michoacán. Se astillaron hasta obtener partículas con diámetro promedio de 2.5 cm (una pulgada), con grosor promedio de 6.0 mm (1/4 de pulgada). El astillado se realizó en las instalaciones de Kimberly-Clark de México S.A. de C.V., Cepamisa Mill-BirKner, a condiciones controladas donde se condicionó a tener solo astillas de Pino sp para evitar mezcla de diversas maderas.

6.1.1 Preparación del material experimental.

Las astillas de las maderas seleccionadas se secaron al aire libre, para posteriormente separar el material, en corteza y madera, con el fin de llevar a cabo el análisis químico. El material se astilló para obtener partículas con dimensiones adecuadas y posteriormente se llevó a un molino marca Micrón K-20 con capacidad de 20 Kg/h, de acuerdo a la norma T-257 om-85 (TAPPI, 2000) para obtener harina de madera. El resultado de la molienda se dejó expuesto al aire hasta equilibrar su contenido de humedad (9.4 %), la cual posteriormente se cribó en diferentes mallas 20, 40, y 60, seleccionando únicamente la harina que pase por malla 40 y que sea retenida en la malla 60, con una dimensión de 420 μ m, el harina obtenida se almacena en frascos de plástico de 200 ml con tapadera hermética.

6.1.1.1 Preparación del material para la obtención de lignina.

La preparación del material para obtener harina de madera libre de extraíbles, se realizó en apego a la norma T 264 cm-97 (TAPPI, 2000). Para

liberar de extraíbles el harina de madera que será la fuente obtención de lignina, se peso la molienda de madera obtenida y se colocó en un dedal de extracción que se deposito en el equipo Soxhlet. El equipo realizo reflujos durante lapsos de 4 horas, primero con n-hexano y después con acetona.

6.2 Preparación del material experimental de maderas de alta durabilidad.

La muestra del árbol fue proporcionada e identificada por el laboratorio de Anatomía de la Madera perteneciente a la FITECMA; el material se astilló con el fin de obtener partículas con dimensiones adecuadas y posteriormente se llevaron dichas astillas a un molino marca Micrón K-20 con capacidad de 20Kg/h, de acuerdo a la norma T-257 om-85 (TAPPI, 2000) para obtener harina de madera. El resultado de la molienda se dejó expuesto al aire hasta equilibrar su contenido de humedad (9.4 %), la cual posteriormente se cribó en diferentes mallas 20,40, y 60, seleccionando únicamente el harina que paso por malla 40 y que se retuvo en la malla 60, con una dimensión de 420 μm , el harina obtenida se almacenó en frascos de plástico de 200 ml con tapadera hermética.

6.3 Análisis químico.

6.3.1 Determinación de sustancias extraíbles de maderas de alta durabilidad natural.

La determinación de los contenidos de sustancias extraíbles se realizó con diferentes solventes en harina de madera sin extraer, realizándose esta en apego a la norma T 264 cm-97 (2000). Las muestras de duramen fueron astilladas, molidas y tamizadas en malla 40. Para el proceso de extracción se colocaron en dedal de extracción 12 g de harina de madera y se sometieron a extracción

Soxhlet continua de 6 horas por solvente, empleando como solventes de polaridad creciente: hexano, diclorometano, tetrahidrofurano (THF) o éter etílico, acetato de etilo y acetona. Se utilizan solventes aproticos para favorecer la posterior separación y elucidación. Los extractos recuperados se concentraron hasta obtener una sustancia viscosa, la cual se dejó reposar a temperatura ambiente hasta la evaporación de los respectivos solventes y se determinó el porcentaje de rendimiento.

6.3.2 Materia prima para obtención de lignina.

La fuente para la obtención de la lignina Klason, fue la madera molida de *Pinus* sp para su procesamiento. Se recabaron 500 gramos que presentaron las condiciones de uniformidad adecuadas, con una coloración que no indicio posible oxidación o ataque biológico.

6.3.3 Liberación de extraíbles.

En este apartado se realizó la liberación de los extraíbles de la harina de madera, con el uso de dos solventes uno de polaridad baja siendo este (n-hexano) y otro de polaridad alta (acetona). Los dos solventes se emplearon por separado en cada una de las seis muestras de 15.0 gramos de harina de madera colocándolos en un dedal de extracción que se deposita en el equipo Soxhlet, de tal manera que realizando reflujos en un tiempo de 8 horas por muestra se liberó de extraíbles dicha harina.

6.3.3.1 Extracción con n-hexano.

Se instalaron 2 equipos Soxhlet en serie, en los cuales se colocaron 2 dedales que contenían 15 gramos de harina de madera cada uno. Con ayuda de las pinzas se ingresó el dedal al tubo Soxhlet evitando que se tiren partículas de la harina

(figura 10), con la finalidad de evitar pérdidas de material y no generar un tapón en el sifón.



Figura 10.- Equipo Soxhlet para liberación de extraíbles mediante n-hexano.

Se inició la extracción con **n-hexano** por 4 horas, al término de este tiempo se retiró el calentamiento. Una vez frío el solvente, se desmontó el equipo, se retiró el dedal y se dejó secar al aire libre. Después se vuelve a montar el equipo para la extracción con acetato de etilo.

6.3.3.2 Extracción con acetona.

Se inició la extracción con **acetona** con una duración de 4 horas, con la muestra seca de la extracción con n- hexano. Al terminar la extracción se retiraron los dedales de los tubos Soxhlet (figura 11).



Figura 11.- Equipo Soxhlet para liberación de extraíbles mediante acetona.

Posteriormente, se colocó la harina proveniente de los dedales de la extracción en cajas Petri previamente pesadas y se llevaron al horno de secado modelo HS-41 por 24 horas a una temperatura de 60°C (**figura 12**), para liberar la harina del remante del solvente de extracción y determinar el peso seco después de la liberación de extraíbles.



Figura 12.- Secado de harina de madera para liberación de extraíbles en horno de secado modelo HS-41.

6.3.4 Extracción de lignina.

La extracción de lignina, se realizó en harina de madera en apego de la norma internacional D 1106–96 (ASTM, 2001). Donde después de haber liberado la madera de extraíbles mediante dos solventes uno de polaridad baja **n-hexano** y otro de polaridad alta **acetona** para obtener una harina libre de extraíbles (H .L. E.).

De la H .L. E. y a peso constante, se tomó una muestra de 1 gramo (realizando esto por duplicado) en donde dicha harina de madera libre de extraíbles se someterá al ataque ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 72 %.

Al término de los lavados se recupera la lignina para dejarla secar, pesar y cuantificar su rendimiento con la siguiente ecuación:

$$\%lignina = \frac{\text{peso lignina}}{\text{peso seco (H.L.E.)}} \cdot 100$$

(1.6)

6.4 Ensayo antifúngico.

Una vez obtenidos los diferentes extractos se añaden al medio de cultivo (agar dextrosa y papa al 3.9%) a una concentración de 250 y 500 µg/mL, para la preparación de las concentraciones se pesaron los extractos. Los extractos se disolvieron con acetona, el medio de cultivo mezclado con los diferentes extractos se sometió a un proceso de esterilización en autoclave por 20 min a una temperatura de 120 °C y manteniendo una presión constante para posteriormente verter el medio a cajas Petri, realizando 3 repeticiones para cada tratamiento.

Las cajas Petri se inocularon con micelio de *Trametes versicolor* y se incubaron por 7 a 14 días a 28 +/- 2 °C. Se determinó el diámetro de crecimiento del hongo al cabo de los 7 días, determinando así el porcentaje de inhibición de crecimiento del hongo comparándolo con la muestra control (sin tratamiento).

El porcentaje de inhibición se determinó con la siguiente ecuación (Rutiaga, 2001):

$$\%inhibicion = \frac{\text{crecimiento control} - \text{crecimiento tratamiento}}{\text{crecimiento control}} \cdot 100$$

(2.6)

6.5 Formulaciones adhesivas.

6.5.1 Resina a base de tanino/hexamina.

En un recipiente plástico de 800 ml se introdujeron 82 g y 100 g de tanino en forma sólida. Se lleva el pH de esta solución a un valor de 12 añadiendo una solución de NaOH (33% en peso) para facilitar su disolución y lograr un pH adecuado de la mezcla. La disolución del tanino se facilitó agitando la mezcla descrita por medio de una batidora de tres velocidades, durante unos minutos. Se añadió un total de 20 g de NaOH (33%) resultando en un pH final de la mezcla de 12, agregando por último a la mezcla 20 g de hexamina (30% en seco) obteniendo así la resina a base de tanino/hexamina (**figura 13**).



Figura 13.- Mezcla de tanino/hexamina.

6.5.2 Glioxalación de lignina despolimerizada.

En un vaso de 500 ml se introdujeron 132 g de agua y 100 g de lignina despolimerizada la cual fue cedida por la Unidad de Desarrollo Tecnológico (UDT-

EST), Universidad de Concepción-Chile en forma solida. Se lleva el pH de esta solución a un valor entre 12 y 12.5 añadiendo una solución de NaOH (30% en peso) para facilitar su disolución y lograr un pH adecuado de la mezcla para la reacción de glioxalación. La disolución de la lignina se facilitó agitando la mezcla descrita, durante unos minutos. Se añadió un total de 63 g de NaOH (30%) resultando en un pH final de la mezcla de 12.5(**figura 14**).



Figura 14.- Mezcla para la reacción de glioxalación.

Esta disolución se transfirió a un matraz reactor de tres cuellos equipado con un condensador, termómetro y un agitador magnético y manteniendo una temperatura tanto en el exterior como en el interior de 58 a 60 °C (**figura 15**). Añadiendo posteriormente 60 g de glioxal (40% en peso) y la solución resultante se agitó permanentemente manteniendo la temperatura constante durante 8 horas.



Figura 15.- Matraz reactor de tres cuellos equipado con un condensador, termómetro y un agitador magnético.

6.5.2.1 Resina a base de lignina glioxilada/hexamina.

En un vaso de precipitados se introdujeron 82 g de agua y 100 g de lignina glioxilada previamente obtenida en forma semilíquida. Se llevo el pH de esta solución a un valor de 12 añadiendo una solución de NaOH (33% en peso) para facilitar su disolución y lograr un pH adecuado de la mezcla. La disolución de la lignina se facilitó agitando la mezcla descrita mediante agitación magnética, durante unos minutos. Se añadió un total de 20 g de NaOH (33%) resultando en un pH final de la mezcla de 12, agregando por último a dicha mezcla 20 g de hexamina (30% en seco) obteniendo así la resina a base de lignina glioxilada/hexamina (**figura 16**).



Figura 16.- Mezcla de lignina glioxilada/hexamina.

6.5.3 Resina a base de lignina despolimerizada/hexamina.

En un vaso de precipitados se introdujeron 82 g y 100 g de lignina despolimerizada la cual fue cedida por la Unidad de Desarrollo Tecnológico (UDT-EST), Universidad de Concepción-Chile en forma sólida. Se llevo el pH de esta solución a un valor de 12 añadiendo una solución de NaOH (33% en peso) para facilitar su disolución y lograr un pH adecuado de la mezcla. La disolución de la lignina se facilitó agitando la mezcla descrita mediante agitación magnética, durante unos minutos. Se añadió un total de 20 g de NaOH (33%) resultando en un pH final de la mezcla de 12, agregando por último a la mezcla 20 g de hexamina (30% en seco) obteniendo así la resina a base de lignina despolimerizada/hexamina (**figura 17**).

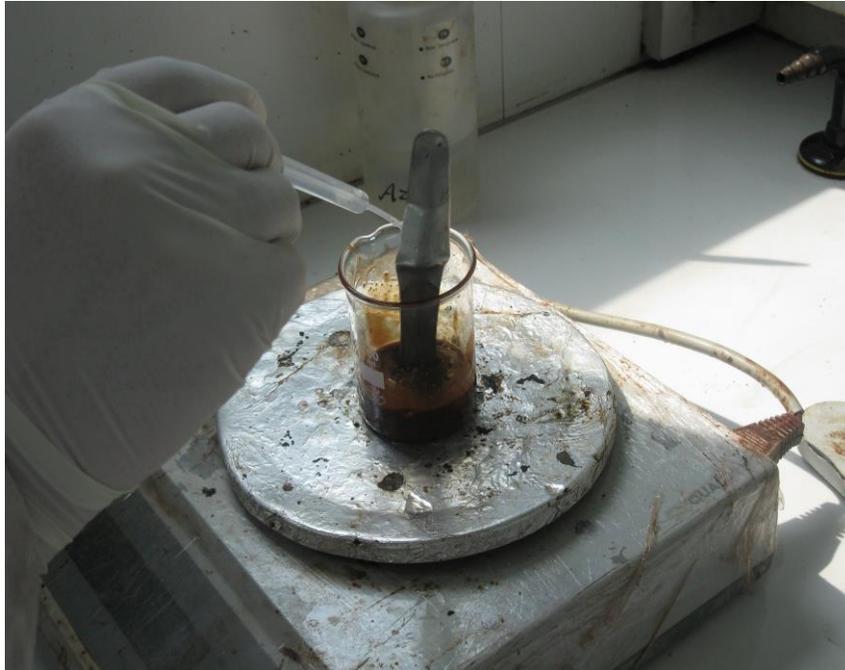


Figura 17.- Mezcla de lignina despolimerizada/hexamina.

6.5.4 Determinación de porcentaje de sólidos en resinas.

El contenido de sólidos de las resinas se determinó por el método de secado en estufa calculando la relación entre el peso seco y el peso húmedo, mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de Sólidos} = \frac{Ph - Ps}{Ph} \times 100$$

(3.6)

Donde:

% de sólidos = Humedad de la resina expresada como un porcentaje de su peso seco.

Ph = Peso de la madera en estado húmedo o peso inicial.

Ps = Peso anhidro.

6.6 Adhesivo para tablero.

En definitiva, la elección del material para elaborar adhesivos se basa en la disponibilidad, precio y sus características estructurales.

Teniendo en cuenta lo anterior se tiene que la relación típica de adhesivo / partículas de madera en el ámbito industrial es del 10% (% en peso). Tomando en cuenta esta base, y desde el punto de vista de coste, el máximo contenido de resina ya sea a base de Tanino, Lignina glioxilada y o Lignina despolimerizada en un tablero no supera 5-6% en peso del tablero. Por tanto en nuestro caso en dichas formulaciones adhesivas el porcentaje de resinas sólido es del 10%.

6.7 Formulación de mejor desempeño.

Al buscar una formulación de mejor desempeño nos referimos a aquella en donde esta cumpla con las especificaciones necesarias para preparar adhesivos basados en el uso de materiales no tóxicos y respetuosos con el medio ambiente.

Siendo así que:

Dentro de los parámetros que definen el problema a resolver cuando se requiere preparar adhesivos basados en la lignina o donde la lignina es el componente mayoritario para los tableros de partículas y contrachapados se destacan los siguientes:

- (i) El adhesivo debe presentar una gran rigidez, por lo tanto una alta densidad de entrecruzamiento en su estado curado.
- (ii) El adhesivo debe tener un curado rápido, así puede tolerar los tiempos rápidos de prensado equivalentes a los tiempos industrialmente usados.
- (iii) El adhesivo formulado se debe poder utilizar en los procesos existentes o con pocas modificaciones.

Por lo tanto, disminuir o eliminar completamente las emisiones de formaldehído en los paneles preparados con adhesivos basados en el uso de formaldehído abre nuevas líneas de investigaciones en el ámbito de adhesivos; teniendo así que en dicho trabajo se logre llegar a despertar el interés a disminuir o eliminar dichas emisiones de tal agente tóxico.

6.8 Postulación de formulación adhesivo-preservante

La legislación que se prevé aplicar en Japón a partir del año 2008 en materia de emisiones respecto al formaldehído ha obligado a los industriales a encontrar alternativas y desarrollar adhesivos no basados en el uso del formaldehído, especialmente en las resinas aminoplásticos (Pizzi, 2004).

Ante la posibilidad de la extensión de esta legislación al resto del mundo especialmente Europa y el continente americano, se tiene que actualmente la situación es muy diferente y existe un gran interés en el uso de materiales no tóxicos y amigables con el medio ambiente, siendo muy probable que en un futuro próximo aparezcan novedades excepcionales en este ámbito para producir adhesivos.

Por lo anterior, este trabajo trata la utilización de ligninas despolimerizadas para producir adhesivos basados en este material no tóxico, así como renovable para desarrollar productos madereros eco-amigables, durables y con exacerbada capacidad al biodeterioro lográndolo tras la postulación de un adhesivo integrado por un material no tóxico y renovable (lignina despolimerizada) más uno que logre dar el efecto deseado biocida siendo este un extracto proveniente del duramen de maderas de alta durabilidad natural, por lo que tal resina tiene que cumplir la relación típica de adhesivo / partículas de madera en el ámbito industrial del 10% (% en peso).

Tomando en cuenta esta base, y desde el punto de vista de coste, el máximo contenido de resina en un tablero no supera 5-6% en peso del tablero. Por

tanto en nuestro caso en estas formulaciones adhesivas el porcentaje de resinas sólido es del 10%.

VII.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

7.1 Obtención y cuantificación de lignina despolimerizada.

7.1.1 Determinación de porcentaje de extraíbles.

Para la determinación del % de extraíbles de la materia prima para obtención de lignina se realizaron tres repeticiones con dos réplicas, teniendo así un total de 90 g de la misma. Donde para cuantificar el % se empleo lasiguiente ecuación:

$$\% \text{ extra bles} = \frac{Ph - Ps}{Ph} \times 100 \quad (4.7)$$

Donde:

Ph = Peso de la madera en estado húmedo o peso inicial.

Ps = Peso anhidro de harina libre de extraíbles.

Teniendo así que él % de extraíbles obtenidos de la materia prima para la obtención de lignina varia de un 7.28 a 7.48 respecto al total de la muestra (**tabla 2**).

Tabla 2.- Porcentaje de extraíbles obtenidos a partir de materia prima para la obtención de lignina.

Harina húmeda (g)	H.L.E. anhidra (g)	Extraíbles totales (%)
13.987	12.94	7.48
13.995	12.95	7.47
13.971	12.93	7.42
13.964	12.95	7.28
13.978	12.94	7.43
13.966	12.94	7.32
	Promedio	7.4
	Desv. Std.	0.48

Una vez obtenida la H .L. E, se procede a la obtención de la lignina.

7.1.2 Determinación del contenido de lignina.

En el proceso para la determinación del contenido de lignina se realizó por duplicado, se calculó el promedio de los valores. Obteniéndose un rendimiento del **23.4%**, este resultado de Lignina Klason se considera como la lignina total presente en la madera (**tabla 3**).

Tabla 3.- Porcentaje de Lignina obtenida a partir de harina de madera libre de extraíbles (H.L.E).

H.L.E anhidra (g)	Lignina (g)	% de Lignina
1	0.231	23.1
1	0.237	23.7
	Promedio	23.4
	Desv. Std.	0.42

7.2 Obtención de extractos de maderas de alta durabilidad.

Por medio de extracción empleando como solventes de polaridad creciente: hexano, diclorometano, THF o éter etílico, acetato de etilo y acetona, se sometió a extracción Soxhlet continua de 6 horas por solvente usando equipo Soxhlet (**figura 18**), colocando en dedal de extracción 12 g de harina de madera previamente tamizada. Se utilizaron solventes aproticos para favorecer la posterior separación y elucidación.

**Figura 18.-** Equipo Soxhlet usando solventes aproticos.

Los extractos recuperados se concentraron hasta obtener una sustancia viscosa(**figura 19**), la cual se dejó reposar a temperatura ambiente hasta la evaporación de los respectivos solventes y se determina el porcentaje de rendimiento.



Figura 19.- Concentración de extractos crudos de maderas de alta durabilidad en rota-evaporador BUCHI B-490.

7.2.1 Determinación de rendimientos de los extractos.

Al obtener los diferentes tipos de extractos crudos del duramen de las maderas de alta durabilidad, se calcularon los rendimientos (**tabla 4,5 y 6**).

Tabla 4.- Rendimiento de los extractos de *Cordia elaeagnoides*(cueramo), mediante extracción Soxhlet. A partir de 12 g de harina de duramen, utilizando 200 ml de cada solvente.

Solvente	Extracto (g)	Rendimiento (%)
n-hexano	1.48	12.34
Diclorometano	0.95	7.91
Tetrahidrofurano (THF)	0.94	7.84
Acetato de etilo	0.05	0.41

Acetona	0.15	1.25
Total		29.75

Tabla 5.- Rendimiento de los extractos de *Dalbergia granadillo* (zangalicua), mediante extracción Soxhlet. A partir de 12 g de harina de duramen, utilizando 200 ml de cada solvente.

Solvente	Extracto (g)	Rendimiento (%)
n-hexano	0.21	1.75
Diclorometano	1.86	15.5
Tetrahidrofurano (THF)	2.27	18.91
Acetato de etilo	0.07	0.58
Acetona	0.01	0.08
Total		36.82

Tabla 6.- Rendimiento de los extractos de *Dalbergia congestiflora* Pittier (campinceran), mediante extracción Soxhlet. A partir de 12 g de harina de duramen, utilizando 200 ml de cada solvente.

Solvente	Extracto (g)	Rendimiento (%)
n-hexano	0.03	0.25
Tetrahidrofurano (THF)	0.72	6
Total		6.25

7.3 Actividad antifúngica.

Se observaron diferentes niveles de actividad antifúngica de los extractos ante el hongo *Trametes versicolor*. Donde los extractos n-hexano y THF de los cultivos

a las concentraciones de 500 $\mu\text{g/mL}$ representados con los incisos **d)**, **f)** y **j)** mostraron el mayor efecto antifúngico, ya que el hongo *Trametes versicolor* fue inhibido al 100% con una fracción de extracto del duramen(**figura 20**).

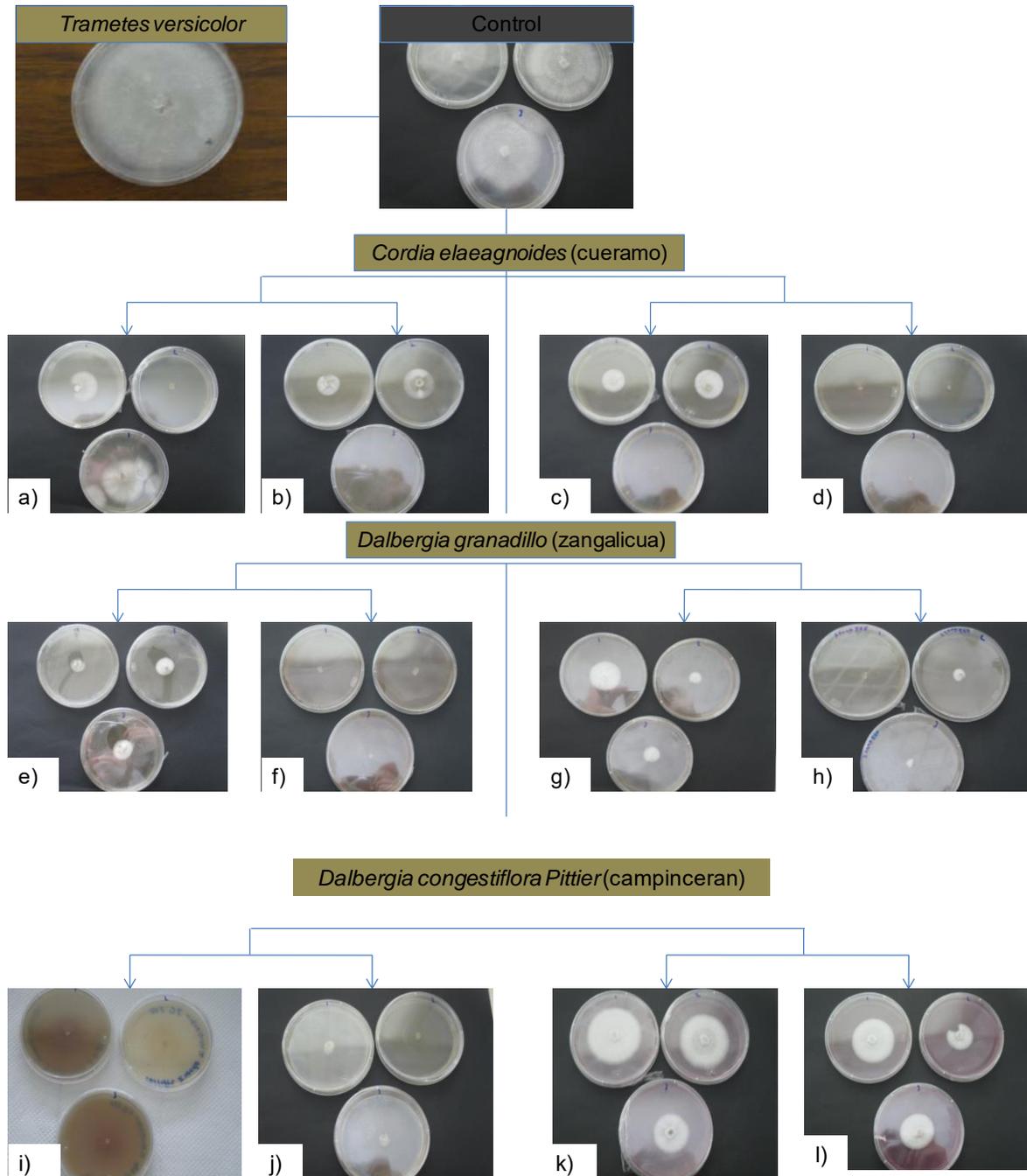


Figura 20.- Actividad biológica de los diferentes extractos ante el hongo *Trametes versicolor*.

1. Los incisos **a)** y **b)** nos representan el cultivo con extracto n-hexano de *Cordia elaeagnoides* (cueraño) a la concentración de 250 y 500 µg/mL, así como **c)** y **d)** cultivo con extracto THF a 250 y 500 µg/mL.
2. Los incisos **e)** y **f)** nos representan el cultivo con extracto n-hexano de *Dalbergia granadillo* (zangalicua) a la concentración de 250 y 500 µg/mL, así como **g)** y **h)** cultivo con extracto THFa 250 y 500 µg/mL.
3. Los incisos **i)** y **j)** nos representan el cultivo con extracto n-hexano *Dalbergia congestiflora* Pittier (campinceran) a la concentración de 250 y 500 µg/mL, así como **k)** y **l)** cultivo con extractoTHFa 250 y 500 µg/mL.

El resto de los medios con los extractos n-hexano y THF mostraron crecimiento, sin embargo este disminuyó al aumentar la concentración de 250 y 500 µg/mL.

7.4 Inhibición de crecimiento fúngico.

Cada uno de los ensayos se realizó por triplicado, se incubaron a 28 +/- 2 °C y se reportaron a los 7 y 14 días de la inoculación de los medios como se muestra en las tablas 7 y 8. Donde el porcentaje de inhibición se determinó según la ecuación (2.6).

Tabla 7.- Porcentaje de inhibición del hongo *Trametes versicolor* a los 7 días de inoculación

		INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO DEL HONGO <i>Trametes versicolor</i> ANTE EXTRACTOS													
		Control negativo	<i>Cordia elaeagnoides</i> (cueramo)				Dalbergia granadillo (zangalicua)				Dalbergia congestiflora Pittier (campinceran)				
Tiempo de incubación 7 días.	Concentración (µg/mL)	0	250	500	250	500	250	500	250	500	250	500	250	500	
	Solventes	-	n-hexano	n-hexano	THF	THF	n-hexano	n-hexano	THF	THF	n-hexano	n-hexano	THF	THF	
	No. de repeticiones por tratamiento y diámetro de crecimiento del hongo (cm).	6	3	2	2	0	1	0	3	0	1	0	5	4	
		6	0	3	3	0	2	0	1	1	0	0	5	2	
		6	4	0	0	0	2	0	1	1	1	0	3	3	
	Promedio	6	3	2	2	0	2	0	1	1	1	0	5	3	
% inhibición	0	50	66.67	66.67	100	66.67	100	83.34	83.34	83.34	100	16.67	50		

Tabla 8.- Porcentaje de inhibición del hongo *Trametes versicolor* a los 14 días de inoculación de los medios.

		INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO DEL HONGO <i>Trametes versicolor</i> ANTE EXTRACTOS													
		Control negativo	<i>Cordia elaeagnoides</i> (cueramo)				Dalbergia granadillo (zangalicua)				Dalbergia congestiflora Pittier (campinceran)				
Tiempo de incubación 14 días.	Concentración (µg/mL)	0	250	500	250	500	250	500	250	500	250	500	250	500	
	Solventes	-	n-hexano	n-hexano	THF	THF	n-hexano	n-hexano	THF	THF	n-hexano	n-hexano	THF	THF	
	No. de repeticiones por tratamiento y diámetro de crecimiento del hongo (cm).	8	8	7	7	0	4	0	8	0	4	0	8	8	
		8	0	7	7	0	4	0	6	4	2	0	8	7	
		8	8	6	0	0	3	0	7	4	4	0	8	7	
	Promedio	8	8	7	7	0	4	0	7	4	4	0	8	7	
% inhibición	0	0	12.5	12.5	100	50	100	12.5	50	50	100	0	12.5		

En cuanto al porcentaje de inhibición de crecimiento fúngico, los extractos con mayor actividad inhibitoria a los 7 días de inoculación de los medios fueron los de n-hexano y THF a las concentraciones de 500 $\mu\text{g/mL}$, sin embargo el resto de los extractos mostraron actividad inhibitoria aunque en menor porcentaje a las concentraciones de 250 a 500 $\mu\text{g/mL}$ (figura 21, 22 y 23).

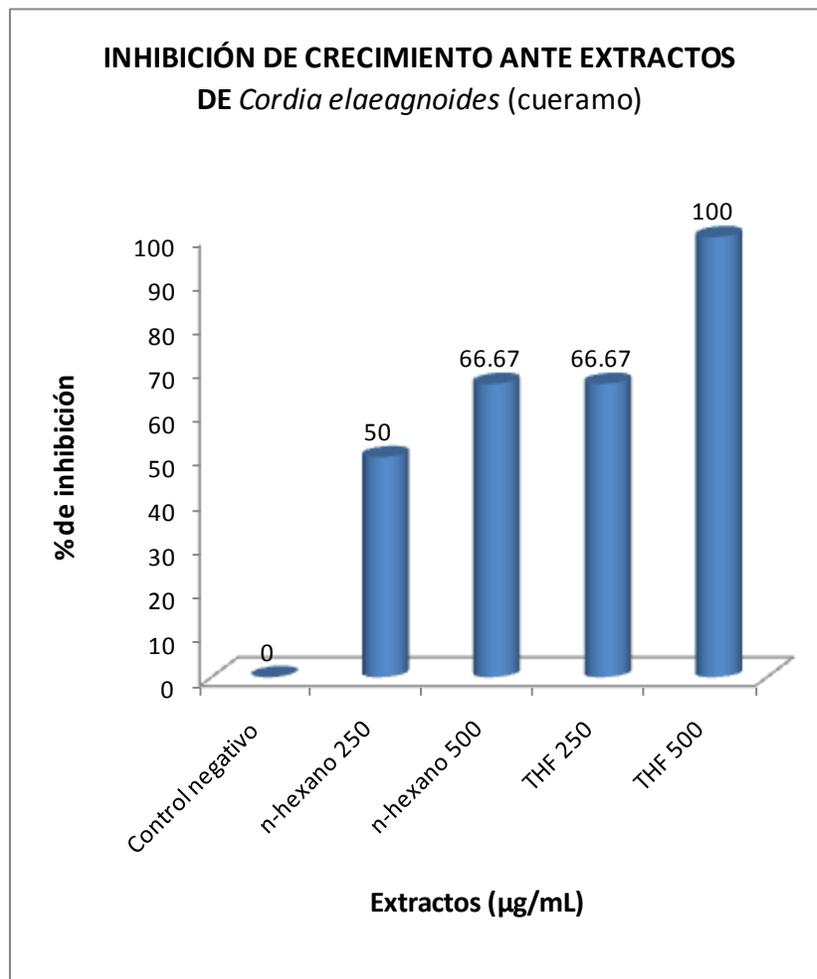


Figura 21.- Porcentaje de inhibición del hongo *Trametes versicolor* ante extractos a los 7 días de inoculación.

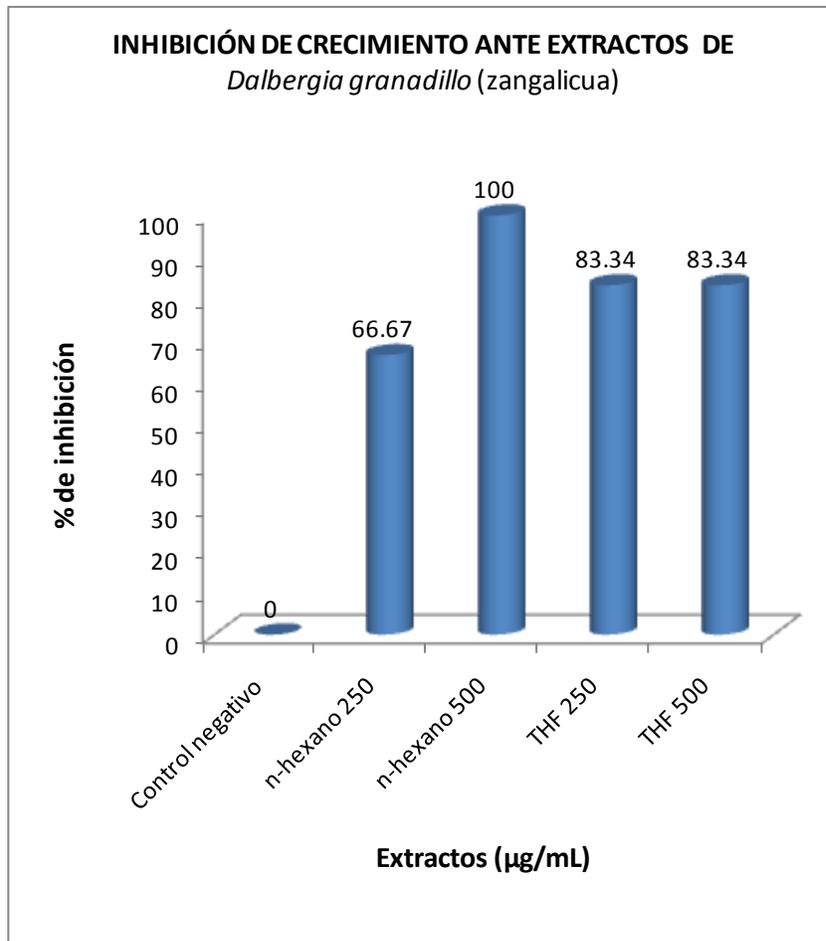


Figura 22.- Porcentaje de inhibición del hongo *Trametes versicolor* ante extractos a los 7 días de inoculación.

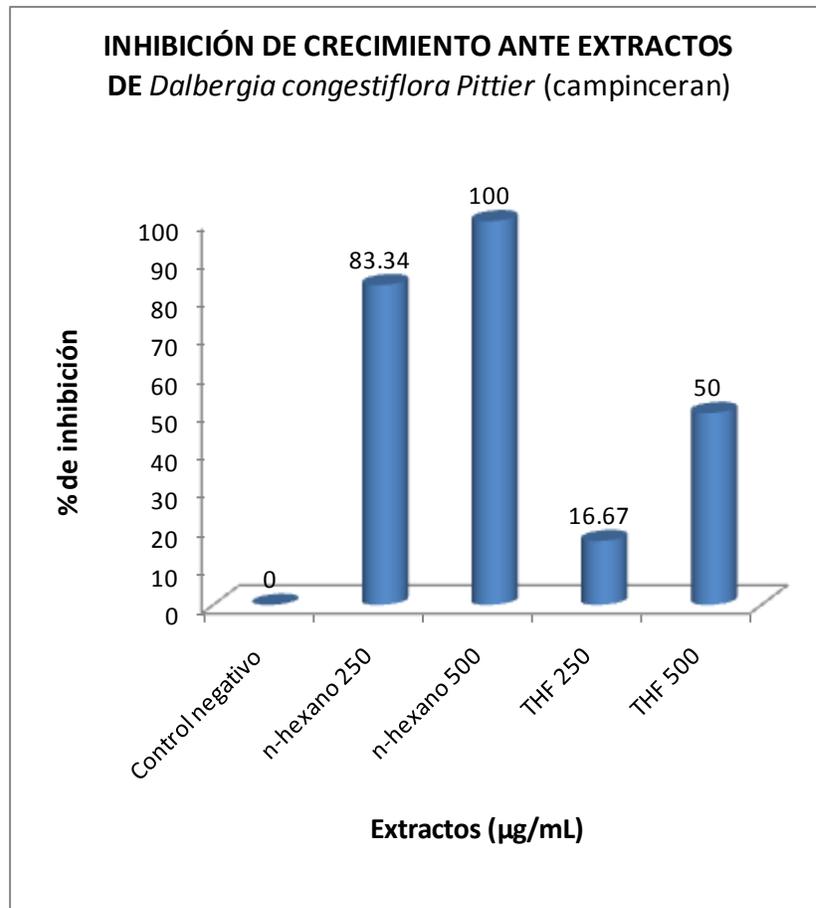


Figura 23.- Porcentaje de inhibición del hongo *Trametes versicolor* ante extractos a los 7 días de inoculación.

Continuando con el porcentaje de inhibición de crecimiento fúngico, los extractos con mayor actividad inhibitoria a los 14 días de inoculación de los medios fueron los de n-hexano y THF a las concentraciones de 500 µg/mL observando que dicha inhibición persistió después de los 7 días de inoculación, el resto de los extractos mostraron actividad inhibitoria aunque en menor porcentaje a las concentraciones de 250 a 500 µg/mL disminuyendo esta y en algunos casos siendo nula después de los 7 días en extractos de n-hexano y THF a la concentración de 250 µg/mL (**figura 24, 25 y 26**).

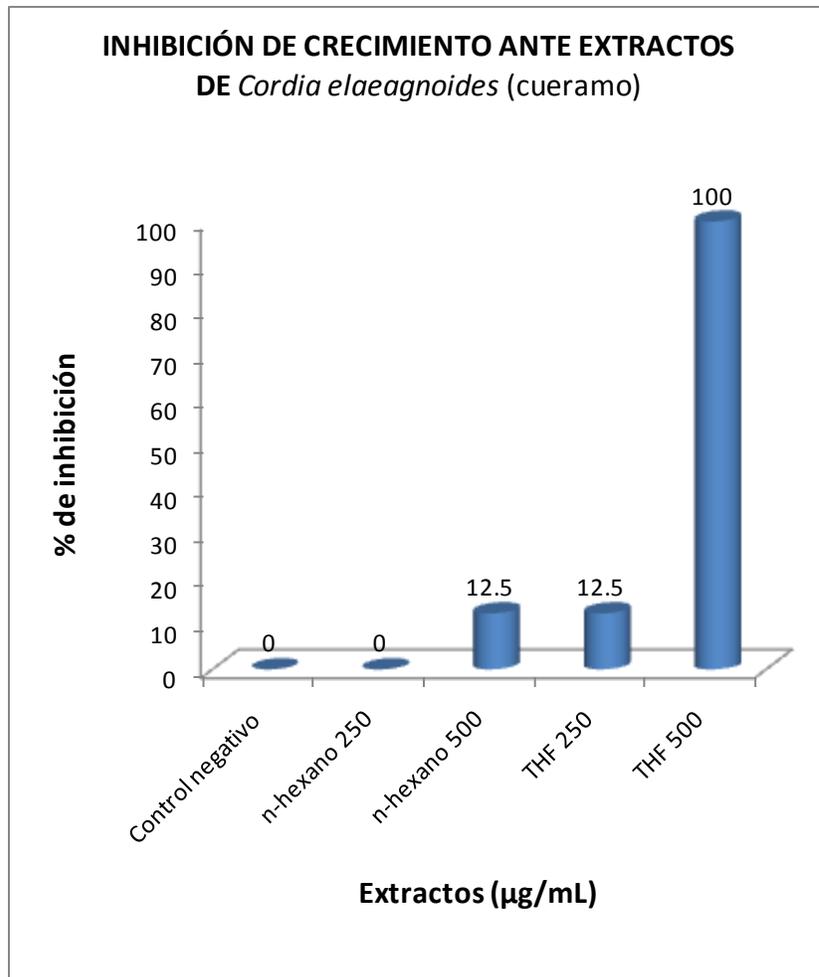


Figura 24.- Porcentaje de inhibición del hongo *Trametes versicolor* ante extractos a los 14 días de inoculación.

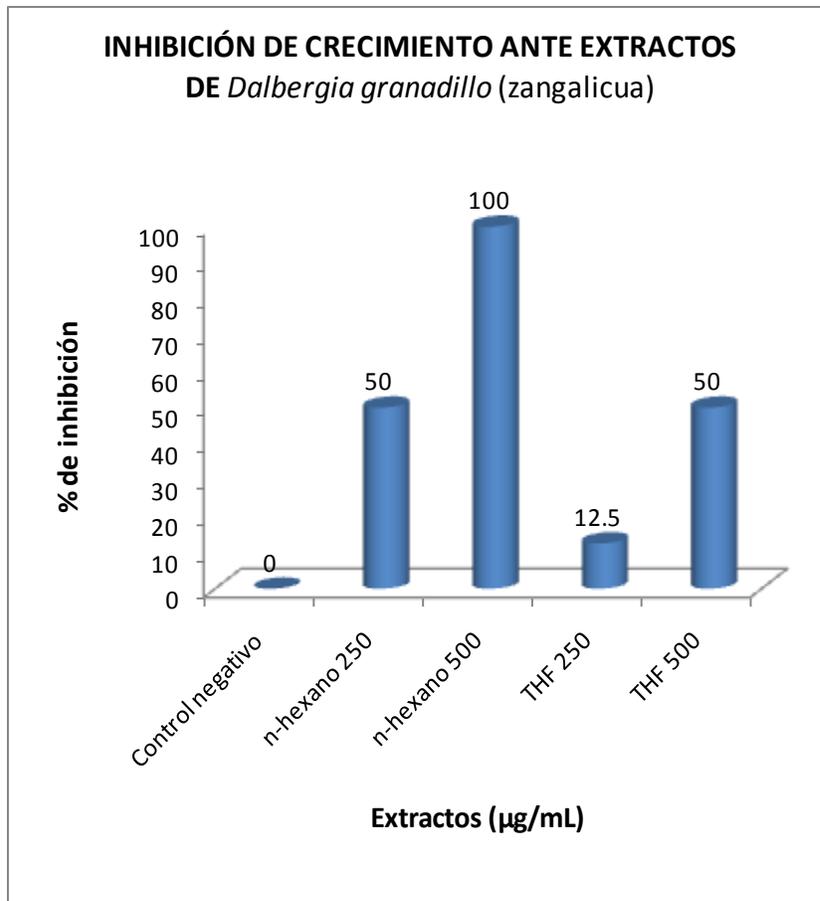


Figura 25.- Porcentaje de inhibición del hongo *Trametes versicolor* ante extractos a los 14 días de inoculación.

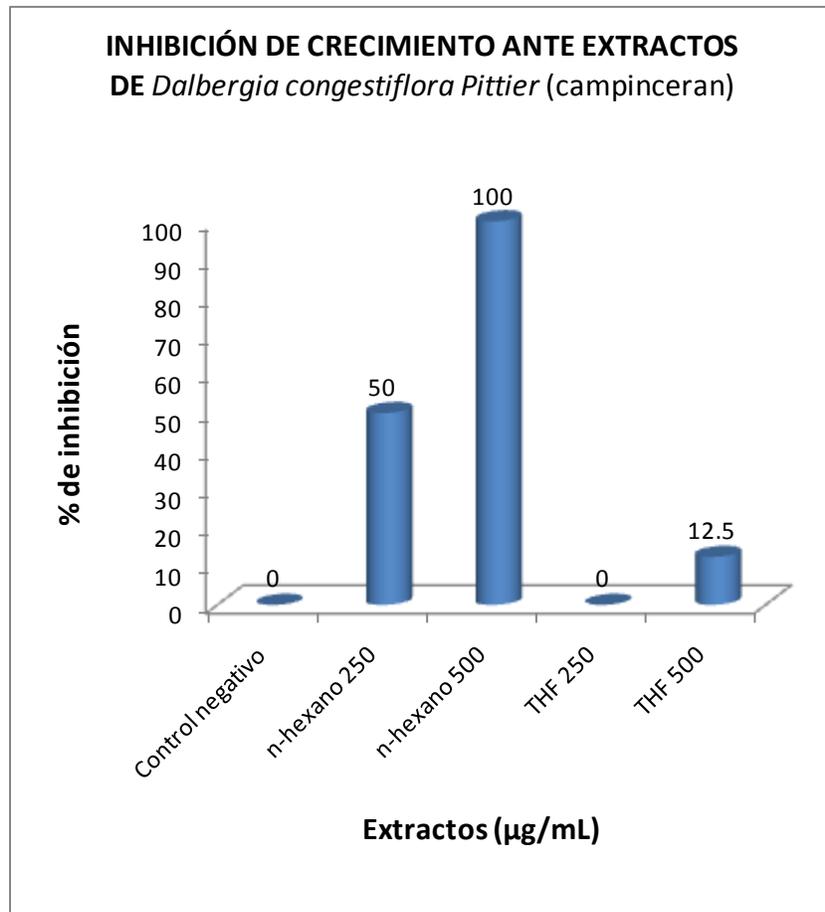


Figura 26.- Porcentaje de inhibición del hongo *Trametes versicolor* ante extractos a los 14 días de inoculación.

7.5 Obtención de resinas a base de materiales no tóxicos y renovables.

Actualmente, existe un gran interés en el uso y producción de adhesivos principalmente basados en materiales renovables y amigables con el medio ambiente siendo muy probable que en un futuro próximo aparezcan novedades excepcionales en este ámbito. Una de ellas es la que se expone en este trabajo.

Este trabajo, trata la utilización de tanino, lignina despolimerizada así como la utilización de lignina despolimerizada, sin formaldehído en su preparación y sustituido con un aldehído no volátil y no tóxico aunque menos reactivo que este denominado glioxal, mediante una reacción de glioxalación obteniendo así una lignina denominada lignina glioxilada (**figura 27**) para producir adhesivos a base de dichos materiales.



Figura 27 Lignina glioxilada obtenida a partir de la reacción de glioxalación.

Obteniendo de esta forma resinas a base de tanino/hexamina, lignina glioxilada/hexamina y lignina despolimerizada/hexamina (**figura 28, 29 y 30**).



Figura 28.- Resina a base de tanino/hexamina.



Figura 29.- Resina a base de lignina glioxilada /hexamina.



Figura 30.- Resina a base delignina despolimerizada/hexamina.

Teniendo en cuenta lo anterior se tiene que la relación típica de adhesivo / partículas de madera en el ámbito industrial es del 10% (% en peso). Por lo que tomando en cuenta esta base, y desde el punto de vista de coste, el máximo contenido de resina en un tablero no supera 5-6% en peso del tablero. Por tanto en nuestro caso en dichas formulaciones adhesivas el porcentaje de resinas sólido es del 10%.

7.6 Porcentaje de sólidos en resinas a base de hexamina.

El contenido de sólidos de las resinas se determinó por el método de secado en estufa calculando la relación entre el peso seco y el peso húmedo, obteniendo así el % de sólido de resinas a base de hexamina (**tabla 9**).

Tabla 9.- Porcentaje de solido de resinas a base de hexamina.

RESINAS A BASE DE HEXAMINA	% DE SOLIDO
Tanino/hexamina	46
Lignina glioxilada/hexamina	31
Lignina despolimerizada/hexamina	38

VIII.-CONCLUSIONES.

Acorde a lo planteado en los objetivos que justificaron el presente trabajo, se logro generar la información fundamental para postular formulaciones adhesivas para madera a base de lignina despolimerizada, con capacidad preservante. La contribución aportada en el desarrollo de formulaciones adhesivas se consolido con los resultados de dichas formulaciones a base ligninas despolimerizadas obtenidas de madera de *Pinus* sp así como de taninos ensayados en el laboratorio del D.C Antonio Pizzi en Francia. La validación de esta parte se basa en las formulaciones logradas, tanto en la Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera (FITECMA) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) y en la **Escuela nacional superior de las industrias de madera (e/n/s/t/i/b) de la Universidad de Nancy 1, Francia**, al determinar las cantidades ideales tanto de lignina despolimerizada como de taninos y del agente endurecedor.

Por otra parte se determinaron los extractos con resistencia hacia el desarrollo del *Trametes versicolor*, los cuales se incorporaron a las formulaciones adhesivas mediante ensayos de solubilidad en mezclas agua-acetona. Con lo anterior se complementa la propuesta al determinar la incorporación de los extractos probados a la formulación adhesiva (que se es posible mezclarlos).

IX. - REFERENCIAS.

- Anual book of standard (1986) Designación D: 2017-81. Standard method of accelerated laboratory test of natural decay resistance of woods.
- Anual book of standard (2001) Designación D: 1106 – 96. Standard Test Method for Acid – insoluble Lignin in Wood. ASTM (American Society for Testing and Materials).
- Blanford Christopher F , Rachel S. Heath and Fraser A. Armstrong (2007) A stable electrode for high-potential, electrocatalytic O₂ reduction based on rational attachment of a blue copper oxidase to a graphite surface, Chem. Commun., 1710 - 1712, DOI:10.1039/b703114a compounded materials.
- Barragan B.E., B.M. Monroy S, J Peralta C. (1994) Obtención y purificación de los colorantes presentes en la madera de campinceran (*Dalbergia congestiflora*) Ciencia y Tecnología de la Madera.
- Barragan Huerta B.E., L. Hernández de Jesús, J. García Castro, E. Escamilla Avilés y M. Herrera Mata (1998). Evaluación de la actividad biológica de los extractos de plantas del genero *Dalbergia*. <http://clave.ucdavis.edu/silcibio98.html> Biorem. J. 3:1-25.
- Biermann, Christopher J. (1996). Handbook of Pulping and Papermaking, Second Edition, Ed. Academic press, EUA.
- Bland, D.E., (1985) "The composition and Analysis of eucalyptus wood" *Appita*, Vol. 38, N°4, p.291-294.
- Brown A. (1985). Review of Lignin in Biomasa. *J. Appl. Biochem*, 7, 371-387.
- Browning, B.L., (1967) *Methods of wood chemistry*, Intersci, Public. N.Y., London, vol. 2, p.800.
- Capuz Lladró R. (2005) *Materiales Orgánicos. Maderas*. Editorial Universidad Politécnica de Valencia.
- Casey J.P. (1985). *Pulpa y papel*. Vol 1. Mexico. Ed Limusa.
- Carballo, L.R., (1989) "The influence of chemical composition and age of caribea pine wood (*Pinus caribea*) on the physical and mechanical properties as well

- as on the yield of sulfite pulp". Report of Candidate Minimum Examination Faculty of wood Techplogy, University College of Forestry and wood Technology. Zvolen. Rep. Eslovaca.
- Carballo, L.R., (1990) "The influence of chemical composition and age of caribea pine wood (*Pinus caribea*) on the physical and mechanical properties as well as on the yield of sulfite pulp". Faculty of wood Technology, University College of Forestry and wood Technology. Dissertation Thesis of the degree of CSc Zvolen. Rep. Eslovaca.
- Chen Z. J., S.C. Kuo, S.C. Chan, F.N. Ko y Ch. M. Teng (1998) Antioxidant properties of butein isolated from *Dalbergia odorifera*. *Biochemica et Biophysica Acta* 1392:291-299
- Cruz J. (2006) Manual para la Conservación y Preservación de Madera Estructural en Edificios Históricos. Ediciones Michoacanas. México.
- Dence, C.W., Lin, S.Y., 1992. General structural features of lignin. In: Lin, S.Y., Dence, C.W. (Eds.), *Methods in Lignin Chemistry*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 3-6.
- Deon, G. (1983) About the relations between the natural durability of some tropical species and their extractives content. The International Research Group on Wood Preservation. Document num. IRG/WP/12018
- Dirol, D. (1994) Literature survey about factors influencing the variability of wood natural durability for their genetic control. Review report presented for the CONCERTED ACTION No. PL 95-253. CTBA. France.
- Drumm, M., LeBlanc, J. (1972). The reactions of formaldehyde with phenols, melamine, aniline and urea, In *Stepm Growth Polymerizations*. Vol.3. New York. Ed: Solomon D.H., Dekker.
- Fengel, D., Wegener, G. (1984) "Wood Chemistry, Ultrastructure Reaction", Walter de Gruyter, Berlin, p.2-220.
- Fueller, G., Mckeon, T.A and Bills, D.D. (1996) Agricultural Materials as Renervable Resources. ACS Symposium, Series 647, p.12-15

- Fritsche, W., Hofrichter, M. (1999) Aerobic degradation by microorganisms. En: Advances in biochemical engineering biotechnology. T. Scheper (Ed.), Springer-Verlag, Vol. 63.
- García Esteban L., Guindeo Casasús A., Peraza Oramas C., De Palacios P. (2003) La Madera y su anatomía. Anomalías y defectos, estructura microscópica de coníferas y frondosas, identificación de maderas, descripción de especies y pared celular. Primera Edición, Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- Gianfreda, L., Xu, F. and Bollag, J.M. (1999). Laccases: A useful group of oxidoreductive enzymes. *Bioremediation J.3*; 1-25
- Gilarranz. M. A., Rodríguez. F., Oliet. M. 2000. Lignin Behavior During the autocatalyzed methanol pulping of Eucalyptus Globulus: Changes in molecular weight and functionality. *Holzforschung*. 54. 373-380.
- Glenn, J. K., Morgan, M. A., Mayfield, M. B., Kuwahara, M., Gold, M. H. (1983) An extracellular HB2BOB2B-requiring enzyme preparation involved in lignin biodegradation by the white-rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 114:1077-1083.
- Goldstein, I. S. 1991. Overview of the chemical composition of wood. In: *Wood Structure and composition*. Lewin, M.; Goldstein I. S. (Eds.). New York: Marcel Dekker, Inc. pp 1-6.
- González J.; Pizzi, A. (1996) Influence of preparation procedure of pine tannin-based cold-set glulam adhesives. *Holz-als-Roh-und-Werkstoff*, 54:6, 389-392
- Groenier, J. (2006) *Preservative-Treated Wood and Alternative Products in the Forest Service*, USDA Forest Service, Missoula, MT.
- Green, D.W., Winandy, J.E., and Kretschmann, D.E. (1999). Mechanical properties of wood. In: *Wood Handbook: Wood as an Engineering Material*. U.S. Department of Agriculture Forest Service, Forest Products Laboratory, Madison, WI, Chap. 4.
- Gundidza M., N. Gaza (1993) Antimicrobial activity of *Dalbergia melanoxylon* extracts, *J. Ethnopharmacolo.* 40(2): 127-130

- Guardiola, J. L. Y Amparo, G. L. (1995) *Fisiología Vegetal, Nutrición y Transporte*, Editora Síntesis, Valencia, España, p.27-63.
- Gustine D, *Plant Physiology* 84:3-6 (1987)
- Gustine D, *Plant Physiology* 84:3-6 (1987).
- Hamburguer M.O, G.A. Cordell, N. Ruangrungrsi tantivatona. (1988) *Candenatone a novel purple Pigment from Dalbergia candenatensis* . *J. of Organic Chemistry* 53 (18):4161-4165
- Hatfield, G. R., Maciel, G.E. (1987) *Macromolecules*, 20, 608-615.
- Herrera T., Ulloa M. (1998) *El Reino de los Hongos, Micología Básica Y Aplicada*. (2ed), FCE, UNAM, MEXICO.
- Higuchi, T. (1985). *Biosynthesis of lignin. Biosynthesis and Biodegradation of wood components*. Orlando (Eds). Academic Press.
- Honorato Salazar J. A., Vázquez Silva L., Zamudios Sánchez F. (2001), "Durabilidad natural de la madera de cinco especies de *Quercus* del estado de Puebla". *Polibotánica*, diciembre, número 01, Instituto Politécnico Nacional, Distrito Federal, México.
- Hutchins, R. A. (1997) *Evaluation of the natural antitermitic properties of Aleuritis fordii (tung tree) extracts*. *Journal of the Mississippi Academy of Sciences*.42: 3, 163-172.
- Hunt G. (1952) *Preservación de la Madera*. Segunda edición, Editorial Salvat, Barcelona, Madrid.
- Hunt J. (1964) *Riegel Química Industrial*. Ediciones Grijalbo, Barcelona.
- Hüttermann, A., Mai, C., Kharazipour, A. (2001) *Modification of lignin for the production of new compounded materials*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 55:387-394.
- Keimel, F.A. (2003). *Historical development of adhesive bonding*. In: Pizzi, A. and Mittal, K.L. (Eds.) *Handbook of Adhesive Technology* (2nded.). Marcel Dekker, New York, chap.1, pp. 1-12.
- Kirk, T. K., Farrell, R. L. (1987) *Enzymatic "combustion": the microbial degradation of lignin*. *Annu. Rev. Microbiol.* 41:465-505.

- Leonowicz, A., Cho, N. S., Luterek, J., Wilkolazka, A., Wojtas-Wasilewska, M., Matuszewska, A., Hofrichter, M., Wesenberg, D., Rogalski, J. (2001) Fungal laccase: properties and activity on lignin. *J basic Microbiol.* 41:185-220.
- Lakes, P.E. & Mc.Kaig, P.A. (1988) Flavonoid biocides: wood preservatives based on Condensed tannins. *Holforschung. Berlin.* V. 42. No. 5. 299-306pp
- Laura M., González A., Basílico J. (1997) *Introducción al estudio de la Micología.* Centro de publicaciones, Universidad Nacional del Litoral, Argentina.
- Lining Guo1 and Nancy L. Paiva, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Volume 320, Issue 2, 10 July 1995, Pages 353-360.
- Mabberley D.J. (1987) *The plant book.* Cambridge University Press. Cambridge. USA
- Mansouri, N.; (2007). Despolimerización de lignina para su aprovechamiento en adhesivos para producir tableros de partículas, *Universitat Rovira i Virgili, España.*
- Marx-Figini, M. (1964) *Papier*, 18, p. 546-549
- Menéndez Valderrey J. (2006) "Trametes versicolor (L.) Pill" *Asturnatura.com*
- Mora, N. y O. Encinas (2001) Evaluación de la durabilidad natural e inducida de *Pterocarpus acapulcensis*, *Tabebuia serratifolia* y *Pinus caribaea*, en condiciones de laboratorio. *Revista Forestal Venezolana* 45(1):23-31
- Nadine Amusant, Olivier Arnould, Antony Pizzi, Aurélien Depres, Reza Hammid Mansouris, Sandrine Bardet and Christine Baudassé, (2008) *European Journal of Wood and Wood Products*, Volume 67, Number 4, 439-447, DOI: 10.1007/s00107-009-0335-z
- Nimz, H, 1983. Lignin-based adhesives, in *wood Adhesives: Chemistry and Technology*, Vol. 1 (A. Pizzi Ed.), Marcel Dekker Inc., New York.
- Pizzi, A., Flora-Ann, C., Van der Klashorst, G. H., 1989. Soda bagasse lignin adhesives for particleboard. Preliminary results. In: *Adhesives from Renewable Resources.* American chemical society, Washington, pp. 82-95.
- Pizzi, A and Mittal. K. L, (Ed). 1994. *Handbook of Adhesives Technology*, Marcel Dekker, New York.

- Pizzi, A., 1994. Advanced wood adhesives Technology. Marcel Dekker, New York, pp, 219- 241.
- Pizza, A. (1994). Lignin-Based Wood adhesives. In: Advanced Wood Adhesives Technology. (Eds.), New York: Marcel Dekker inc.
- Pizzi, A.; Baecker, A. (1996) A new boron fixation mechanism for environment friendly Wood preservatives. *Holzforschung*. 50:6. 507-510pp
- Raya D, et al, *Rev. Cubana Plant Med* v.13 n.3 Ciudad de la Habana jul.-sep. 2008.
- Ralph J, Lapierre C, Marita J, Kim H, Lu F, Hatfield RD, Ralph SA, Chapple C, Franke R, Hemm MR, Van Doorselaere J, Sederoff RR, O'Malley DM, Scott JT, MacKay JJ, Yahiaoui N, Boudet A-M, Pean M, Pilate G, Jouanin L, Boerjan W. (2001) Elucidation of new structures in lignins of CAD- and COMT-deficient plants by NMR. *Phytochem*. 57: 993-1003
- Reinhamar, B. (1984) Laccase. En: Copper proteins and copper enzymes. R. Lontie (Ed.), CRC Press. Boca Raton, pp 1-35.
- River, B.H., Vick, C.B., and Gillespie, R.H. (1991). Wood as an adherend. In: Minford, J.D. (Ed.), *Treatise on Adhesion and Adhesives*. Vol. 7. Marcel Dekker, New York.
- Rowell, R. M.; Pettersen, R.; Han, J. S.; Rowell, J.S.; Tshabalala, M. A. 2005. Cell Wall chemistry. In: *Handbook of chemistry and wood composites*. Rowell R. M. (Ed.). Boca Raton: Taylor & Francis Group. pp 62-63
- Rutiaga Quiñones J. G, E. Windeisen y P. Shumacher. (1995) Antifungal activity of heartwood extracts from *Dalbergia granadillo* and *Enterolobium cyclocarpum*. *Holz als Roh-und Werkstoff*. 53(5):308
- Rutiaga Quiñones J.G. (2001). *Chemische und Biologische Untersuchungen zum Verhalten dauerhafter Holzarten und ihrer Extrakte gegenüber Holzabbauenden Pilzen*. Buchverlag Gräffelfing, München.
- Santagostini L, Gullotti M, De Gioia L, Fantucci P, Franzini E, Marchesini A, Monzani E, Casella L. (2004) Probing the location of the substrate binding site of ascorbate oxidase near type 1 copper: an investigation through

- spectroscopic, inhibition and docking studies. *International journal of biochemistry& cell biology* 36 (5): 881-892.
- Sarkanen, K. V., Ludwig, C. H., (1971) In *Lignins: Occurrence, Formation, Structure and Reactions*; Wiley-Interscience: New York, pp 1-18
- Shah, V., Nerud, F. (2002) Lignin degrading system of white-rot fungi and its exploitation for dye decolorization. *Can. J. Microbiol.* 48:857-870.
- Sing, A.P. & Kim, Y.S., (1997) Biodegradation of wood in wet environments: a review. *The International research Group of Wood Preservation. Document No. IRG/WP 97-10217.*
- Skeist, I. and Miron, J. (1990). Introduction to adhesives. In: Skeist, I. (Ed.), *Handbook of Adhesives*. (3rd) Van Nostrand Reinhold, New York, chap 1.
- Smulski, S. (1997) Controlling indoor moisture sources in wood-frame houses. *Wood-Design-Focus*. 8:4. 19-24 pp.
- Solomon E, Sundaram U, Machonkin T. (1996) Multicopper oxidases and oxygenases. *Chemical reviews* 96 (7): 2563-2605.
- Tien, M., Kirk, T. K. (1984) Lignin degrading enzyme from the hymenomycete *Phanerochaete chrysosporium*. Purification, characterization, and catalytic properties of a unique H₂O₂-requiring oxygenase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:2280-2284.
- Tsoumis G. (1991) *Science and Technology of Wood*. Van Nostrand reinhold. New York. 494 pp.
- Usnayo Gonzales L. 2007, "Optimización de medios de cultivo, para la producción de enzimas ligninolíticas, por cepas fúngicas aisladas del antiplano Boliviano". Tesis para obtener el título de Licenciatura en Bioquímica, Universidad Mayor de San Andrés. La paz, Bolivia.
- Vázquez, G, González, J., Freire, S., Antorrena, G., 1997. Effect of chemical modification of lignin on the glue bond performance of lignin-phenolic resins. *Boiresource Technology*. 60, 191-198.
- Vignote, S., Jiménez, F. J., (2000) *Tecnología de la Madera*, editorial: Ministerio de Agricultura y Pesca, Madrid.
- Vick C, et al, (1996), *Forest products journal* vol. 46, no. 11/12

Walker, J. C. F. 2006. Primary Wood Processing: Principles and Practice. 2nd Ed.
Berlin: Springer. PP. 23-67

Weissenfeld, P. (1998) Holzschutz ohne gift. Okobuch Verlag Staufen bei Freiburg.

Willeitner, H. (1991). Wo stech der holzschutz heute Holz. als. Roh-u. Werkstoff
41-49

Yoshida, H. (1883). Chemistry of lacquer (Urushi). J ChemSoc 43:472-486.