

CARACTERIZACIÓN DE EXTRACTIVOS EN ALCOHOL-BENCENO SOLUBLES EN ACETONA DEL BAGAZO DE LA CAÑA DE AZÚCAR MEDIANTE CROMATOGRAFÍA GASEOSA-ESPECTROMETRÍA DE MASAS

CHARACTERIZATION OF BENZENE-ETHANOL EXTRACTIVES SOLUBLE IN ACETONE FROM SUGARCANE BAGASSE BY GAS CHROMATOGRAPHY – MASS SPECTROMETER

Raúl Hernández Sánchez^{1}, Laura Lami Izquierdo², Jorge Pino Alea³
y Yanay Martínez²*

¹ Planta Bioprocesos, CP 33500, Quivicán, Mayabeque. Cuba

² Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA). Vía Blanca 804 Esq. Carretera Central. San Miguel del Padrón. La Habana. Cuba

³ Instituto de Investigaciones Alimenticias (IIA)

Recibido: Mayo 2, 2014; Revisado: Octubre 28, 2014; Aceptado: Noviembre 10, 2014

RESUMEN

Los extractivos separados del bagazo de la caña de azúcar con una mezcla benceno-etanol (1:2) fueron analizados en un GC-17A/MS-QP5050 (Shimadzu). Hernández y otros (2012) realizaron una determinación cualitativa y cuantitativa de los extractivos, con un cauteloso porcentaje de confiabilidad. Esta confiabilidad en los resultados se solucionó calculando el índice de retención kovats, que nos permite corroborar la exactitud de la identificación de una molécula determinada. Las muestras estudiadas corresponden al bagazo integral, desmedulado y prehidrolizado. Entre el 98-99% de los compuestos separados fueron identificados por su tiempo de retención, los fragmentos moleculares de su espectro de masa, y por los índice de retención kovats, todos fueron comparados con los reportados en las diferentes bibliotecas disponibles.

Palabras clave: Bagazo de caña de azúcar, extractivos, CG/EM

Copyright © 2015. Este es un artículo de acceso abierto, lo que permite su uso ilimitado, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada.

* Autor para la correspondencia: Raúl Hernández, Email: raul.hernandez@icidcamy.azcuba.cu

ABSTRACT

The extractives separated from sugarcane bagasse with a mixture of ethanol:benzene (1:2) were analyzed in a GC-17A/MS-QP5050 (Shimadzu). Hernández and others (2012) carried out a qualitative and quantitative determination of such extractives, with a cautious percentage of confidence. This confidence in the results was solved calculating the index of retention kovats that allows us to corroborate the accuracy of the identification of a certain molecule. The studied samples correspond to the integral bagasse, desmedullated and pre-hydrolysed. Among 98-99% of the separate compounds they were identified by their retention time, the molecular fragments of their spectrum of mass, and for the index of retention kovats, all were compared with their data reported in the different available libraries.

Key words: Trash of sugar cane, extractive, CG/EM

1. INTRODUCCIÓN

El bagazo es el residuo del proceso de fabricación de azúcar a partir de la caña, el cual es sometido a un proceso de eliminación de la fracción rica en médula (desmedulado) Atchison (1970) con el objetivo de incrementar el % de fibra útil para ser empleado en la industria de pulpa y papel. De igual forma al tratar de emplear el bagazo para la industria de derivados de celulosa se hace necesario enriquecer la materia prima extrayendo las hemicelulosas mediante un proceso de prehidrólisis, Fernández (1986).

Los extractivos se definen como un amplio rango de compuestos que son separados de los materiales vegetales con disolventes, Browning (1967). Constituyen entre 1-5 % del peso en las maderas duras y el bagazo. Los mismos, presentan propiedades que los hacen indeseables en la producción de pulpa y papel por el aumento en el consumo de reactivos de cocción y blanqueo (Beek et al, 2007), reducción de los niveles de producción, por el aumento de los costos de producción así como por crear serios problemas en la calidad del papel e incrementar las dificultades en los tratamientos de residuales. Sin embargo, en la actualidad la gran diversidad de especies químicas que conforman los extractivos van encontrando interés científico e industrial reportándose su empleo en la medicina (Beek et al, 2007), perfumería, productos dermatológicos, química analítica, etc., (Traber, 1999, Peng, 2012).

Para caracterizar los extractivos se emplea el método de cromatografía gaseosa-espectrometría de masa (CG/EM) donde se identifican los espectros de cada compuesto (Gutiérrez, 1999; Ekeberg, 2006; Fernandez, 2001; Pietarinen, 2006; Lo Ket, 2007; Walford, 2009). En este sentido se reporta la presencia de compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes anticancerígenos y cardioprotectores (Colombo, 2005; Colombo, 2008).

Dado los resultados preliminares obtenidos, ya publicados en la primera parte de este trabajo (Hernández y col., 2014), se pretende corroborar y mejorar ese estudio mediante la identificación de los componentes químicos presentes en los extractivos del bagazo integral, desmedulado y prehidrolizado, de una forma más estricta y confiable.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materiales

Se ensayaron diferentes muestras de bagazo: (B-1) bagazo integral, recolectado durante la zafra 2010-2011 del CAI Manuel Fajardo, (B-2) el bagazo desmedulado en suspensión (Lois, J. 1982) y (B-3) el bagazo prehidrolizado (Temp. 100-180 °C; tiempo 30-120 min; presión 5-10 atm). Las muestras fueron molidas y tamizadas aceptándose para las extracciones la fracción 40-60 mesh.

Los solventes utilizados fueron grado analítico suministrados por la firma QUIMIPUR (España).

2.2. Métodos

Análisis por CG/EM

Los extractos obtenidos fueron analizados en un cromatógrafo gaseoso CG-17A acoplado a un espectrómetro de masa QP5050 marca Shimadzu. Todas bajo las mismas condiciones de una Columna Rxi^R-5ms con una rampa de temperatura 60-260°C; inyector y detector a 250°C; utilizando He como gas portador a la presión de 56.7 KPa y flujo de 51.2 ml/min, con un tiempo programado de 40 a 60 minutos.

La identificación de los compuestos se realizó mediante el empleo de la Biblioteca NIST-MS Search 2.0 que forma parte tanto de los Programas GCMS solution del equipo como del Programa AMDIS.

El índice de retención de Kovats es un método de cuantificación de los tiempos de elución relativa de los diferentes compuestos en cromatografía de gases, de forma que ayuda a identificar positivamente los componentes de una mezcla.

El método aprovecha la relación lineal entre los valores del logaritmo del tiempo de retención, $\log(t_r')$, y el número de átomos de carbono en una molécula. El valor del índice de Kovats suele representarse por I en las expresiones matemáticas. Su aplicación se limita a los compuestos orgánicos.

Para la cromatografía isotérmica, el índice de Kovats viene dada por la ecuación

$$I = 100 \times \left[n + (N - n) \frac{\log(t'_{r(\text{desconocido})}) - \log(t'_{r(n)})}{\log(t'_{r(N)}) - \log(t'_{r(n)})} \right]$$

Donde

I = índice de retención de Kovats

n = número de átomos de carbono más pequeños

N = número de átomos de carbono más grandes

t_r' = tiempo de retención ajustado.

Para una cromatografía de temperatura programada, el índice de Kovats está dado por la ecuación:

$$I = \left[\frac{t_{r(\text{desconocido})} - t_{r(n)}}{t_{r(N)} - t_{r(n)}} \right] * (100 \times z) + (100 \times n)$$

donde

I = índice de retención de Kovats

n = número de átomos de carbono menores

N = número de átomos de carbono mayores

z = diferencia del número de átomos de carbono entre el más pequeño y el mayor

t_r' = tiempo de retención

Las Figs.1, 2 y 3 y las tablas I, II y III muestran, los cromatogramas totales de los componentes solubles en acetona de los extractivos de los bagazos B-1, B-2 y B-3.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

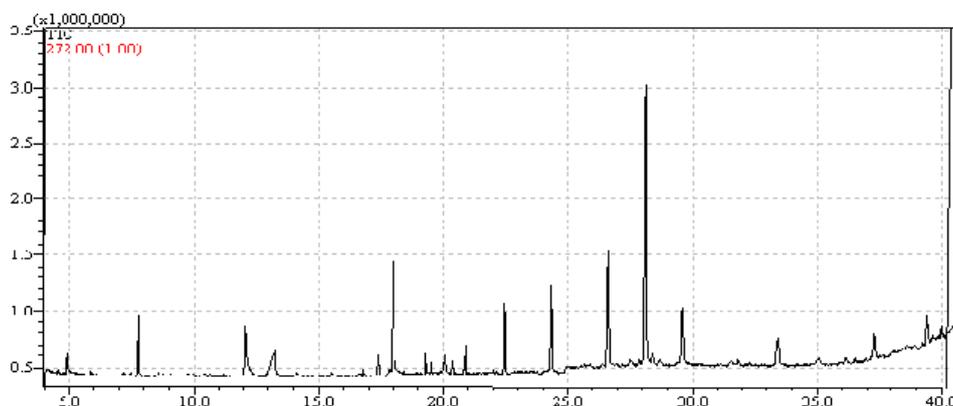


Figura 1. Cromatograma total de los compuestos solubles en acetona del extracto alcohol-benceno de la muestra B-1 realizados por CG/EM.

Tabla 1. Componentes del Bagazo Integral (B1) identificados

| No. | TR (min) | Compuesto | IK Report/Calc. | Certeza (%) | Área% |
|--|----------|---|--------------------|-------------|-------|
| 1. | 4,9 | p-Hidroxibenzaldehído $C_7H_6O_2$ | 1203/1198 | 96 | 2,46 |
| 2. | 7,8 | Di-Tert-Butilfenol $C_{14}H_{22}O$ | 1555/1540 | 90 | 3,93 |
| 3. | 12,1 | p-Hydroxybenzal acetona | 1456/1460 | 80 | 10,15 |
| 4. | 13,3 | Acido p-cumárico | 1631/1620 | 83 | 9,74 |
| 5. | 17,3 | Acido Mirístico | 1739/1750 | 92 | 2,54 |
| 6. | 17,99 | 2-Allyl-1,4-dimethoxy-3-methyl-benzene | | 80 | 14 |
| 7. | 19,3 | 1-Hexadecanol | 1854/1849 | 90 | 1,9 |
| 8. | 19,5 | EICOSAN | 2000/1995 | 83 | 0,58 |
| 9. | 20,1 | OleicAcid cis o trans | 2097/2099 | 75 | 1,12 |
| 10. | 20,4 | Acido Octadecanoico isomero cis o trans | 2113/2110 | 70 | 1,14 |
| 11. | 20,9 | N-Docosano22 | 2200/2197 | 95 | 2,56 |
| 12. | 22,5 | N-Pentacosano25 | 2500/2497 | 92 | 7,1 |
| 13. | 24,3 | N-Hexacosano26 | 2600/2599 | 95 | 9,1 |
| 14. | 26,6 | N-Heptacosano27 | 2700/2699 | 90 | 15,50 |
| 15. | 29,6 | N-Triacontano30 | 3000/2995 | 90 | 9,48 |
| 16. | 33,4 | Hentriacontano | 3100/3098 | 87 | 5,42 |
| 17. | 37,3 | 11-n-Decyldocosane | 3138/3130 | 91 | 3,27 |
| Porcentaje de área de muestra identificado con exactitud | | | | | 99,9 |

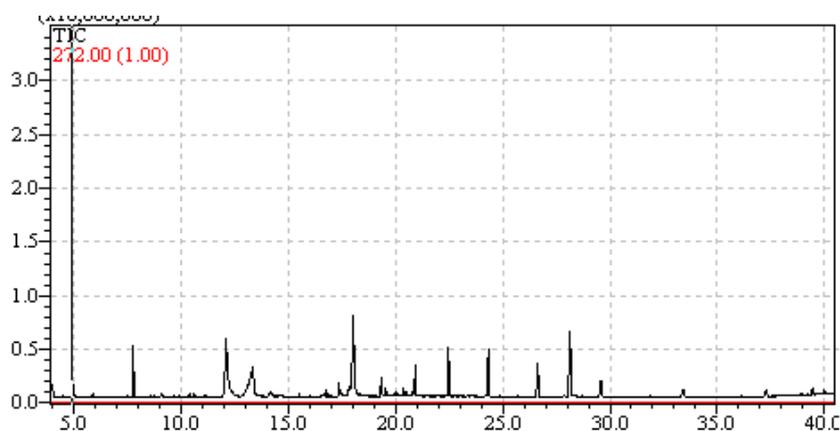


Figura 2. Cromatograma total de los compuestos solubles en acetona del extracto alcohol-benceno de la muestra B-2 realizados por CG/EM

Tabla 2. Componentes del Bagazo Desmedulado identificados

| No. | TR (min) | Compuesto | IK Report/Calc. | Certeza (%) | Área % B2 |
|--|----------|---|--------------------|-------------|-----------|
| 1. | 4,9 | p-Hidroxibenzaldehído | 1203/1198 | 96 | 3,18 |
| 2. | 5,9 | Vainillina | 1349/1340 | 90 | 0,65 |
| 3. | 7,4 | Ácido 4-Hidroxibenzoico | 1371/1360 | 89 | 0,36 |
| 4. | 7,8 | Di-Tert-Butilfenol | 1502/1501 | 90 | 6,15 |
| 5. | 8,6 | Ácido Vainillinico | 1560/1552 | 81 | 0,52 |
| 6. | 8,7 | 2,6-Dimethoxibenzoquinona | 1530/1529 | 90 | |
| 7. | 9,1 | 1-tetradecanol 14 | 1630/1620 | 90 | 0,68 |
| 8. | 10,4 | Siringaldehido | 1670/1665 | 96 | 0,27 |
| 9. | 12,1 | p-Hydroxybenzal acetona | 1456/1460 | 80 | 8,1 |
| 10. | 13,3 | Ácido p-cumárico | 1726/1715 | 83 | 19,5 |
| 11. | 17,3 | Acido Miristico | 1739/1760 | 92 | 2,04 |
| 12. | 17,99 | 2-Allyl-1,4-dimethoxy-3-methyl-benzene | | 87 | 1,1 |
| 13. | 19,3 | 1-Hexadecanol | 1854/1849 | 90 | 20 |
| 14. | 19,5 | EICOSAN | 2000/1995 | 83 | 3,12 |
| 15. | 20,1 | OleicAcid cis o trans | 2097/2099 | 75 | 1,07 |
| 16. | 20,4 | Acido Octadecanoico isomero cis o trans | 2113/2110 | 70 | 1,09 |
| 17. | 20,9 | N-Docosano | 2200/2197 | 95 | 3,36 |
| 18. | 22,5 | N-Pentacosano | 2500/2497 | 92 | 6,65 |
| 19. | 24,3 | N-Hexacosano | 2600/2599 | 95 | 7,5 |
| 20. | 26,6 | N-Heptacosano | 2700/2699 | 90 | 5,9 |
| 21. | 29,6 | N-Triacontano | 3000/2995 | 90 | 4,43 |
| 22. | 33,4 | Hentriacontano | 3100/3098 | | 2,79 |
| 23. | 37,3 | 11-n-Decyldocosane | 3138/3130 | 91 | 1,53 |
| Porcentaje de área de muestra identificado con exactitud | | | | | 99,9 |

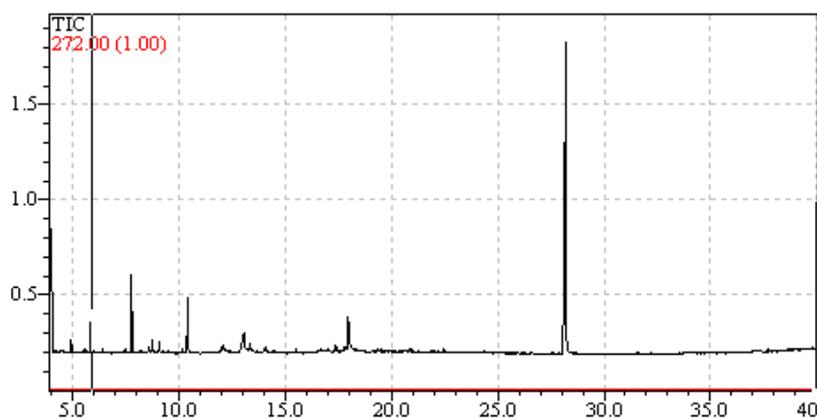


Figura 3. Cromatograma total de los compuestos solubles en acetona del extracto alcohol-benceno de la muestra B-3 realizados por CG/EM

Tabla 3. Componentes del Bagazo Prehidrolizado identificados

| No. | TR (min) | Compuesto | IK report/Calc. | Certeza (%) | Área % B3 |
|---|----------|--|--------------------|----------------|--------------|
| 1 | 4,9 | p-Hidroxibenzaldehído C ₇ H ₆ O ₂ | 1203/1198 | 96 | 5,84 |
| 2 | 5,9 | Vainillina C ₈ H ₈ O ₃ | 1349/1340 | 90 | 14,11 |
| 3 | 7,4 | Ácido 4-Hidroxibenzoico | 1371/1360 | 89 | 1,55 |
| 4 | 7,8 | Di-Tert-Butilfenol C ₁₄ H ₂₂ O | 1502/1501 | 90 | 28,18 |
| 5 | 8,6 | Ácido Vainillinico | 1560/1552 | 81 | 1,68 |
| 6 | 8,7 | 2,6-Dimethoxibenzoquinona | 1530/1529 | 90 | 1,53 |
| 7 | 9,1 | 1-Tetradecanol 14 | 1630/1620 | 90 | 2,76 |
| 8 | 10,4 | Siringaldehido | 1670/1665 | 96 | 16,99 |
| 9 | 13,0 | Acido p-cumárico | 1726/1715 | 83 | 6,85 |
| 10 | 13,3 | 1-Hexadeceno | 1631/1620 | 83 | 2,34 |
| 11 | 17,3 | Acido Miristico | 1739/1745 | 92 | 1,33 |
| 13 | 17,99 | 2-Allyl-1,4-dimethoxy-3-methyl-benzene | | 84 | 14,24 |
| 14 | 22,5 | N-Pentacosano25 | 2500/2497 | 92 | 1,37 |
| Porcentaje de área de muestra identificado con exactitud | | | | | 98,77 |

En las tablas se reportan los compuestos identificados en la fracción soluble en acetona de los extractivos en alcohol-benceno, de los bagazos: integral (B-1), desmedulado (B-2) y pre-hidrolizado (B-3) respectivamente. Donde se separaron de 14 a 24 componentes que se identificaron adecuadamente en su totalidad.

En la identificación de la muestra B-1 se detectaron un total de 17 componentes que están formados por aldehídos, alcoholes, parafinas de alto peso molecular, sulfona en menor cuantía y ácidos entre los que se encuentran los isómeros *cis* y *trans* del octadecanoico.

En el bagazo desmedulado (B-2) se detectaron un total de 23 componentes de los cuales 17 compuestos también están presentes en la muestra (B-1) y otros 6 se obtienen con muy baja concentración, .Esta diferencia lleva a la idea de que para el caso del bagazo

integral también deben estar presente estos 6 últimos pero no se detectan porque se pierden como trazas debido a las ínfimas cantidades presente. En este caso está el siringaldehído, compuesto no observado en el bagazo integral, pues es un componente fundamental de la lignina de bagazo Sarkanen (1971).

Por otra parte la muestra de bagazo prehidrolizado (B-3) está constituida fundamentalmente por 14 componentes aldehídos y ácidos. En la caracterización de esta se observa que desaparecen la mayoría de las parafinas presente en las muestras anteriores, lo cual se justifica con el hecho de que esta última es sometida a condiciones drásticas de presión y temperatura.

A los 28 min. de tiempo de retención se evidenció en todas las muestras la presencia de una alta concentración de ftalato de diisocilo, compuesto plastificante cuya presencia en los vegetales es producto de la contaminación ambiental (IARC, 2000). En este caso se considera que su presencia es debido al plástico de las tapas de los micro-viales del equipo que tuvieron contacto con las muestras al ser concentradas y homogenizadas mediante agitación en estos. Por esta razón se hicieron tres determinaciones con diferentes disolventes sin agitarlos en los micro-viales y tratados de igual manera que el de las muestras estudiadas. En los resultados obtenidos encontramos que en los disolventes que no se agitaron no aparece el pico correspondiente al ester ftalico. En los disolventes que fueron tratados de igual manera que el de las muestras estudiadas aparece el pico correspondiente al ester antes mencionado. Estos resultados confirman que la presencia del compuesto plastificante en el bagazo analizado es por la contaminación debido a la manipulación en la medición

En la literatura se encuentran reportes de extractos de hojas y bagazo de caña de azúcar, (Colombo et al, 2005), con resultados en correspondencia con los nuestros donde se emplea la cromatografía líquida-espectrometría de masa (CL/EM) como una poderosa herramienta para identificar complejas matrices biológicas como son los extractos bajo estudio. Igualmente (Walford et al, 2009) reporta que en muestras de bagazo similares a las que hemos estudiado el método de extracción empleado resulta ser el de más alta capacidad de extracción encontrándose en ellas presencia de compuestos polifenólicos y flavanoides.

4. CONCLUSIONES

1. Con el empleo de los I. de Kovats se mejoró de forma más estricta y confiable la identificación de los componentes químicos presentes en los extractivos del bagazo integral, desmedulado y prehidrolizado.
2. De los resultados obtenidos se concluye que los tratamientos a los que fue sometido el bagazo no varían apreciablemente la composición química de este; aunque con la prehidrólisis desaparecen algunos componentes encontrados en el bagazo integral
3. Fueron identificados una gran variedad de componentes químicos mayoritariamente alcoholes, hidrocarburos, aldehídos y ácidos grasos.

REFERENCIAS

- Atchison, J.E., Métodos modernos de desmeollamiento de bagazo y su explotación a gran escala para fabricación de pulpa, papel y tableros., Mem. 34 Conf. ATAC, 1970.
- Browning, B.L., Methods of Wood Chemistry., Vol. 1 Interscience Publishers, 1967.
- Beek, T. A., Kuster, B., Claassen, F.W., Fungal bio-treatment of spruce wood with trametes versicolor for pith control. Influence on extractive contents, pulping process parameters, paper quality and effluent toxicity., Biores. Technol., Vol. 98, 2007, pp. 302-311.
- Colombo, R., Yariwake, J., Queiroz, E.F., Ndjoko, K., Hostettmann, K., On-line identification of sugarcane (*Saccharum officinarum* L), methoxyflavones by liquid chromatography-UV detection using post column derivatization and liquid chromatography-mass spectrometry., J. Chromat A, No. 1082, 2005, pp. 51-59.
- Colombo, R., Yariwake, J.H., McCullagh, M., Study of C- and O- glycosylflavones in sugarcane extracts using liquid chromatography-exact mass measurement mass spectrometry., J Brazil Chem Soc, No.19, 2008, pp. 483-490.
- Ekeberg, D., Flæte, O., Eikenes, M., Qualitative and quantitative determination of extractives in heartwood of Scots pine (*Pinussylvestris* L.) by gas chromatography., J. Chromatogr A, No. 1109, 2006, pp. 267-272.
- Fernandez, M.P., Watsonb, P.A., Breuila, C., Gas chromatography-mass spectrometry method for the simultaneous determination of wood extractive compounds in quaking aspen., J. Chromatogr A, No. 922, 2001, pp. 225-233.
- Fernández, N., Producción de pulpa para disolver a partir del bagazo., En: Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar, Manual La Industria de los Derivados de la Caña de Azúcar 1ra. Ed. La Habana, 1986, pp. 213.
- Gutiérrez, A., del Río F., González-Vila F., Chemical Composition of Lipophilic Extractives from *Eucalyptus globulus* Labill., Wood Holzforschung, No. 53, pp. 481-484.
- Traber, M G., Modern Nutrition in Health and Disease [J]. Baltimore, No. 10, 1999, pp. 347-362.
- Hernández- R., Lami-L., Pino J., Identificación básica de extractivos en alcohol-benceno del bagazo de la caña de azúcar mediante CG- EM, Revista ICIDCA, Vol. 48, 2014, pp. 16.
- Lo Ket, S., Liew Kang, Ch., Influence of Different Extraction Solvents on Lipophilic Extractives of Acacia Hybrid in Different Wood Portions., Asian J Appl. Sci., No. 5, 2007, pp. 107-116.
- Lois, J., Sistemas y equipos de desmedulado en la industria del bagazo de la caña de azúcar., Editorial Científico Técnica, Ciudad de la Habana, 1982, pp. 15-17.
- Peng, W.X., Wu, Y.Q., Determination of Functional Components of Benzene/Ethanol Extractives of Chinese-fir Wood GC/MS., www.iofbluemountain.com/search/detail.php 28.08.12
- Peng, Wan-Xi, Wu, Yiqiang., Py - GC/MS Analysis on Benzene/Ethanol Extractives of *Eucalyptus camaldulensis* Wood Meal in Pulping Wastewater from South China www.seiofbluemountain.com/search/detail.php 28.08.12

- Pietarinen, S., Willför, S., Vikström, F.A., Holmbom, B.R., Aspen Knots, a Rich Source of Flavonoids., *J Wood Chem Technol.* Vol. 26, No. 3, 2006, pp. 245-248.
- Sarkanen, K.V., *Lignins Wiley-Interscience.*, 1971, pp. 69-74.
- Walford, S., Egli, S., Martincingh, B., Separation, identification and characterization of extractives from sugarcane (*Saccharum officinarum*) leaf *Proc. Afr. Sug. Technol.Ass.*, Vol. 82, 2009, pp. 342–345.
- Consulta personal con especialistas de productos naturales y plásticos, (2013).
- IARC Monograph, Vol. 77, 2000, pp. 45.