

DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES EN DERIVADOS
LÍGNICOS OBTENIDOS DEL “LICOR NEGRO” COMO
ALTERNATIVA DE PRODUCCIÓN

*María José López Villalobos
*** Yakelin Abou Masoud

** Irama Isabel Piña Sáenz
**** Fredy José Ysambertt

Recibido: 18/04/2015 Aprobado: 06/11/2015

Resumen

La lignina es un subproducto del licor negro obtenido del proceso de despulpado en algunas plantas de Venezuela, siendo un desecho industrial que carece de valor en la fabricación de papel. En este estudio se utilizó el licor negro obtenido de los procesos de pulpado Kraft y Sulfito para extraer la lignina mediante precipitaciones ácidas y cuantificar la cantidad de fenoles totales en dichos productos liginicos. Para llevar a cabo este estudio se utilizaron las técnicas de Espectrofotometría de Absorción Molecular en la región UV-Visible y la Espectroscopia de Infrarrojo (FTIR). Los productos obtenidos en el estudio presentaron señales similares que la lignina comercial (LA), además la lignina extraída con HCl presentó poca degradación, corroborado por los espectros infrarrojos. Asimismo, se cuantificó la cantidad de fenoles totales en los derivados liginicos obtenidos empleando el método de Folin-Ciocalteu. En el proceso de Sulfito el derivado liginico extraído con ácido acético contiene mayor cantidad de fenoles, y en el proceso de Kraft, el derivado liginico extraído con ácido nítrico presentó menor cantidad. La cantidad de fenoles totales presentes en estos derivados es buena, pudiendo aprovecharse en la elaboración de antisépticos, detergentes, nylon, resina y múltiples productos industriales.

Palabras clave: Lignina, desecho, precipitación, fenoles, antioxidantes.

* *Mediwork Servicios C.A., Maracaibo, Venezuela, Licenciada en Bioanálisis, mariajoselopez_90@hotmail.com*

** *Universidad del Zulia, Facultad de Ingeniería, Maracaibo, Venezuela, Doctora en Química, ipina@fing.luz.edu.ve*

*** *Laboratorio Clínico Bonaiuto, Maracaibo, Venezuela, Licenciada en Bioanálisis, yake_7_9@hotmail.com*

**** *Universidad del Zulia, Facultad Experimental de Ciencias, Maracaibo, Venezuela, Doctor en Química, ysambertt@gmail.com*

**DETERMINATION OF TOTAL PHENOL DERIVATIVES
OBTAINED FROM LIGNIN “BLACK LIQUOR” AS
ALTERNATIVE TO PRODUCTION**

Abstract

Lignin is an industrial waste being worthless in papermaking by product of black liquor obtained from the pulping process in some Venezuelan plants. The black liquor is obtained from the Kraft pulping process to extract lignin sulphite by acid precipitation and quantify the amount of total phenols in such lignin products used in this study. Molecular absorption spectrophotometry in the UV-Visible and Infrared Spectroscopy (FTIR) region were used to carry out these study techniques. The products obtained in the study had the same signs than commercial lignin (LA), along with the extracted lignin present little degradation HCl, confirmed by infrared spectra. Also, the amount of total phenols was quantified in derivative lignin obtained using the Folin-Ciocalteu. In the sulphite process extracted lignin with acetic acid derivative contains more phenols, and in the Kraft process, the derivative lignin extracted with fewer nitric acid present. The amount of total phenolics present in these derivatives are good for making antiseptics, detergents, nylon, resin and many industrial products.

Keywords: Lignin, waste, precipitation, phenols, antioxidants.

Introducción

La lignina, según Casey (1990), Kirk y Obst (1988), Chakar y Raguaskas (2004), Grabber (2005), Hatfield y Fukusima (2005) y González (2007), es un polímero tridimensional amorfo constituido por unidades de fenilpropano, que se unen entre sí por enlaces tipo alquil-aril-éter o carbono-carbono; su estructura estereoirregular hace de ella una molécula muy particular y difícil de degradar (Figura 1); al mismo tiempo Ysambertt et al. (2009), señalan que esta macromolécula se encuentra solubilizada dentro del licor negro, el cual es el principal subproducto de la digestión de material lignocelulósico y un efluente del proceso de Kraft y Sulfito. Es importante destacar que dichos procesos son empleados a nivel mundial en la manufactura del papel, según Casey (1990) y Chakar y Raguaskas (2004).

Httermann et al. (2001) y Toledano et al. (2010) afirman que la lignina representa entre un 20 % y hasta un 35 % de la masa de la madera, según el tipo de ésta. Además que industrialmente para ha-

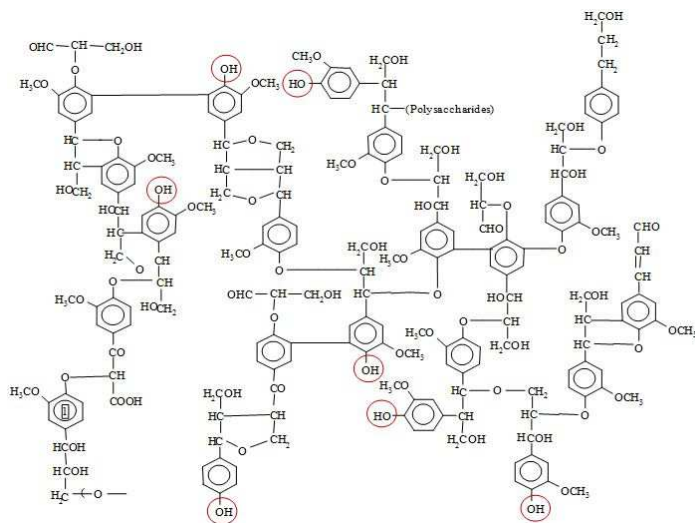


Figura 1: Estructura modelo de la lignina en madera suave (Softwood).

cer el papel u otros productos derivados es necesario retirar la lignina de la madera. Las diferentes productoras de pulpa, papel y cartón en Venezuela derivan anualmente abundantes volúmenes de licor negro el cual contiene la lignina. Nagarathnamma y Bajpai (1999) afirman que a finales de la década de los noventa, una planta de pulpa podía generar cerca de $175m^3$ de licor negro por tonelada de papel producido, lo cual ha ocasionado un potencial problema de contaminación ambiental, esto ha afectado enormemente a grandes países productores de pulpa como Canadá (Peck y Daley, 1994). Sin embargo, Chakar y Raguaskas (2004) señalan que en los últimos años se han realizado enormes esfuerzos para minimizar la contaminación, en vista que la visión de las plantas papeleras modernas es emplear los subproductos como combustible para abastecer el proceso y recuperar los químicos de cocción. Ellos aseguran que esta implementación tecnológica convertirá en muy pocos años a las plantas de pulpa y papel en las biorefinerías del futuro. Por el momento, en Venezuela persiste la necesidad de desarrollar métodos de degradación y modificación estructural de esta biomasa línica que permitan su aprovechamiento

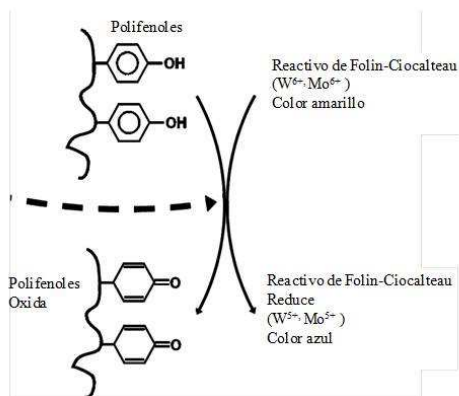


Figura 2: Reacción del polifenol con el reactivo de Folin-Ciocalteu, según Rossi et al. (2008).

para procesos industriales de interés nacional.

Por lo anterior, en este estudio se determina la cantidad de grupos fenoles totales en las estructuras lignicas, con la finalidad de conocer su capacidad antioxidante. Para ello se utilizó el método del reactivo de Folin-Ciocalteu, el cual se basa en una mezcla de ácido fosfotúngstico y ácido fosfomolíbldico ($3H_2O - P_2O_5 - 13WO_3 - 5MoO_3 - 10H_2O$ y $3H_2O - P_2O_5 - 14WO_3 - 4MoO_3 - 10H_2O$), empleado para la *determinación de antioxidantes fenólicos* y polifenólicos, generando una reacción óxido-reducción con los mismos (Figura 2). La oxidación de los fenoles presentes en la muestra causa la aparición de una coloración azul que presenta un máximo de absorción alrededor de 760 nm (Ikawa et al., 2003; Vinson et al., 2005; Padilla y Rincón, 2008; Rossi et al., 2008)

Las aplicaciones más importantes de los fenoles, están en el área médica (García, 2015):

- Hexilresorcinol: Funciona como anestésico bucofaríngeo, antiséptico de superficie y antiséptico derivado del fenol con eficacia contra bacterias involucradas en procesos inflamatorios de la cavidad bucofaríngea.
- O-Fenilfenol: Se utiliza como desinfectante de carácter preven-

tivo en la industria de recolección de la fruta ya que tiene capacidad como antioxidante y baja toxicidad.

- **Ácido salicílico:** Este es materia prima para la obtención del ácido acetilsalicílico (Aspirina) la cual se puede preparar a través de la esterificación del grupo hidroxil-fenólico del ácido salicílico. También funciona como aditivo clave en muchos productos para el cuidado de la piel diseñados para tratar acné, psoriasis, callosidades, restituye el ácido protector de las mucosas ejerciendo un efecto antiséptico actuando en las mucosas afectadas de la boca y labios y es absorbido parcialmente por los mismos.
- **Salicilato de metilo:** Este producto es un éster del ácido salicílico y el metanol, y es usado en cremas ya que tiene un olor agradable y estimula el flujo sanguíneo de los capilares, agente saborizante en la goma y dulce porque tiene un sabor similar a la menta.
- **O-cloroxilenol:** posee un amplio espectro contra bacterias Gram positivas aunque es menos eficaz sobre bacterias Gram negativas su efecto antimicrobiano se debe a que actúa en la membrana celular como todos los compuestos fenólicos.

Entre los derivados fenólicos, biológicamente destacados, se puede mencionar a los neurotransmisores de catecol: Tirosina que sirve como precursor de la Dopamina convirtiéndose en la sustancia intermediaria L-Dopa, Norepinefrina y la Epinefrina, estos son producidos por las células neuroendocrinas que se encuentran en la médula adrenal y en las fibras postganglionares del sistema nervioso simpático. Su estructura está compuesta por un grupo aromático o 3,4-hidroxifenilo unido a una cadena lateral etilamino (Lorenzo et al., 2008). Es importante destacar que la noradrenalina y la dopamina actúan como neurotransmisores en el sistema nervioso central y como hormonas en el torrente sanguíneo (Redolar et al., 2008).

En la enfermedad de Parkinson los neurotransmisores de catecol tienen una importante función, en vista que en esta enfermedad hay un deterioro de la sustancia negra, que es donde se encuentran las neuronas productoras de dopamina, por lo tanto los niveles de este

neurotransmisor bajan ocasionando la enfermedad y es allí donde estos fenoles pueden actuar. El L-DOPA (L-3,4 dihidroxifenilalanina) es un precursor para la formación de la dopamina, este precursor es un fármaco que recetan los médicos para el tratamiento de dicha enfermedad (Micheli, 2006).

Por su parte, los fenoles son bactericidas muy efectivos a bajas concentraciones pudiendo ocasionar daños a las membranas de las bacterias con pérdida de sus constituyentes citoplasmáticos, inactivación irreversible de oxidasas y deshidrogenasas de membrana y desnaturalización de proteínas; además, tienen baja solubilidad en agua, por lo que se emplean en fórmulas que incluyen agentes emulsificadores (jabones) que aumentan su actividad.

Actualmente hay fenoles que pueden ser usados como adhesivos como lo son las resinas de fenol-formaldehído, las cuales son resoles en donde el fenol y el formaldehído se mezclan en exceso de este último, en presencia de un álcali fuerte, tal como el hidróxido de sodio o el hidróxido amónico (Liesa y Bilurbina, 1990). La resina fenólica posee dureza, resistencia a los disolventes y productos químicos (Calvo, 2014), un ejemplo de estos son las bolas de billar, que también están hechas de resina de fenol-formaldehído “Baquelita”. Otras importantes aplicaciones industriales de las resinas fenólicas son: fabricación de materiales de fricción, materiales abrasivos (rígidos y flexibles), materiales refractarios, aislamientos acústicos y térmicos, y filtros para automoción (Peck y Daley, 1994).

Por todo lo antes expuesto, en este trabajo de investigación se tiene como objetivo determinar la cantidad de fenoles totales en los derivados obtenidos a partir del licor negro como alternativa de producción y así aprovechar los productos lúgnicos en lugar de ser desechados, además de que se minimizaría el impacto ambiental que pudiera causar y se disminuirían los costos de tratamiento para su correcta disposición final.

Desarrollo y Metodología

Reactivos, solventes y muestras

Los reactivos empleados fueron grado analítico tales como: ácido clorhídrico (Riedel-de Haen, 37 %), ácido sulfurico (Riedel-de Haen, 98 %), ácido fosfórico (Contact-Hazard, 85 %), ácido nítrico (Riedel-de Haen, 95 %) y ácido acético (Fischer Sci., 99 %). Los solventes empleados fueron de grado HPLC, como el éter (Fischer Sci., 99 %), cloroformo (Fischer Sci., 99 %), diclorometano (Fischer Sci., 99 %), etanol (Riedel-de Haen, 98 %), dimetilsulfosino (Fischer Sci., 99 %), benceno (Riedel-de Haen, 98 %) e ciclo hexano (Riedel-de Haen, 98 %).

La lignina utilizada fue obtenida a través del licor negro proveniente de la industria maderera Kraft y Sulfito de la planta en Venezuela. El licor negro colectado presentó las siguientes características fisicoquímicas: 10 % de sólidos suspendidos, pH=11,34 y densidad 1,1724 g/mL a 25°C. Se empleó la lignina Aldrich (LA) como material de referencia.

Los análisis por espectroscopia UV-Vis se llevaron a cabo en solución de hidróxido de sodio 0,1 M (Riedel-de Haen, 99 %). Los espectros FTIR se tomaron en estado sólido preparando pastillas con bromuro de potasio (KBr) (Riedel-de Haen, 98 %).

Aislamiento e identificación de los derivados liginicos.

Se colocaron en un recipiente de 100 mL licor negro (Kraft o Sulfito), éste fue diluido en agua destilada 1:1 con agitación constante a temperatura ambiente y luego se ajustó a un pH entre 2 y 3 utilizando diferentes ácidos concentrados (HCl ; H_2SO_4 ; CH_3COOH ; HNO_3 ; H_2PO_4) para los procesos Kraft y Sulfito. Al ajustar el pH la lignina precipitó, luego se procedió a centrifugar la disolución a 5000 RPM por 15 min para separar el precipitado obtenido. Los sólidos precipitados fueron lavados y se llevaron a secar en la estufa a 45°C por 24 horas (Piña, Ysambertt, Arias, Chirinos y Castillo, 2011). Los derivados liginicos obtenidos en los dos procesos se codificaron de la manera siguiente:

- LK1= Lignina Kraft precipitada HCl
- LS1= Lignina Sulfito precipitada HCl
- LK2= Lignina Kraft precipitada H_2SO_4
- LS2= Lignina Sulfito precipitada H_2SO_4
- LK3= Lignina Kraft precipitada CH_3COOH
- LS3= Lignina Sulfito precipitada CH_3COOH
- LK4= Lignina Kraft precipitada HNO_3
- LS4= Lignina Sulfito precipitada HNO_3
- LK5= Lignina Kraft precipitada H_2PO_4
- LS5= Lignina Sulfito precipitada H_2PO_4

Posteriormente se realizaron pruebas de solubilidad con diferentes solventes acuosos y orgánicos (NaOH a 0,1 %; HCL a 0,1 %; Agua; Benceno; Etanol; ter; Cloroformo; Diclorometano; Dimetilsulfoxido y Ciclohexano). Los derivados liginicos obtenidos fueron identificados por Espectrometría de Absorción Molecular UV-Vis y FTIR comparando el espectro obtenido con la lignina Aldrich comercial (LA). Los análisis UV-Vis se realizaron en solución de hidróxido de sodio 0,1M a una concentración de 10 mg/L (Piña et al., 2011), empleando un equipo Espectrómetro UV-Vis, marca Agilent modelo 8453. Los espectros FTIR fueron adquiridos empleando 2 mg de cada muestra en 150 mg de KBr seco (Piña et al., 2011). Las pastillas fueron preparadas con 100 mg de cada mezcla y se utilizó un Espectrómetro FTIR Marca Shimadzu modelo 8400 para el análisis.

Determinación por el método colorimétrico Folin-Ciocalteu, la cantidad de fenoles totales en los derivados liginicos obtenidos

Se utilizó 1 ml de muestra liginica en una dilución de 1:100 en NaOH 0,1 N, se adicionaron 0,5 ml del reactivo de Folin-Ciocalteu a 1 N, se dejó en reposo por 5 min y se añadieron 2,5 ml de una solución de Na_2CO_3 al 20 % m/v, dejándose reposar por 10 min a temperatura ambiente. Se determinó la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro UV-Vis. La concentración de fenoles se determinó a partir de una curva de calibración usando como estándar el naftol a 100 mg/l, y realizando disolución a un intervalo de concentraciones de: 2,

Cuadro 1: Prueba de solubilidad de los derivados liginicos obtenidos en el proceso Kraft y Sulfito.

Solventes	Derivados Liginicos del Proceso Kraft					Derivados Liginicos del Proceso Sulfito				
	LK1	LK2	LK3	LK4	LK5	LS1	LS2	LS3	LS4	LS5
NaOH (0,1%)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
HCL(0,1%)	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Benceno	I	I	I	PS	I	I	I	I	I	I
Etanol	I	PS	PS	I	PS	PS	PS	PS	I	PS
Éter	I	I	I	PS	PS	PS	I	I	I	I
Cloroformo	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Agua	I	I	PS	I	I	I	I	I	I	I
Diclorometano	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Dimetilsulfoxido	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Ciclohexano	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I

LK= Lignina Kraft; LS= Lignina Sulfito; 1= HCl; 2= H_2SO_4 ; 3= CH_3COOH ; 4= HNO_3 ; 5= H_2PO_4 ; S=Soluble; I=Insoluble; PS=Parcialmente Soluble.

4, 6, 8 y 10 mg/l (Piña et al., 2011).

Resultados y discusión

Aislamiento e identificación de los derivados liginicos.

En el Cuadro 1 se muestran los resultados de las pruebas de solubilidad de los derivados liginicos obtenidos a partir del licor negro en los proceso Kraft y Sulfito. Se observa total solubilidad con el dimetilsulfoxido (DMSO) y la solución de NaOH a 0,1%*m/v*, esto se puede deber a su similitud estructural con la lignina y a su polaridad.

En la Figura 3 se muestran los espectros de absorción UV-Vis de los derivados liginicos obtenidos. Se puede apreciar la similitud espectral entre las muestras obtenidas y éstas a su vez con la muestra de Lignina Aldrich (LA) empleada como material de referencia.

En estos espectros se observan las bandas características de un compuesto fenólico típico con la banda etilénica cerca de los 220nm

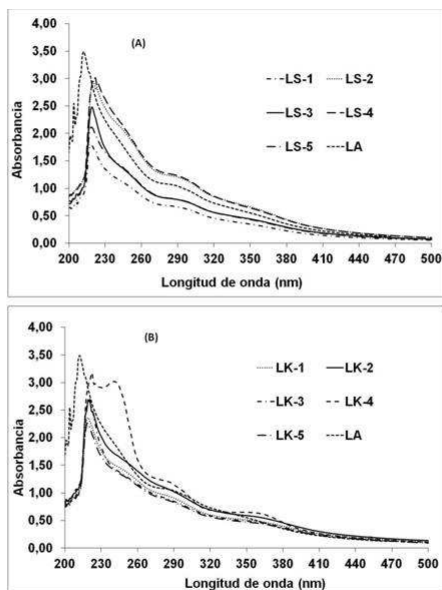


Figura 3: Espectro de absorción UV-VIS del material línico obtenido del licor negro extraído con diferentes ácidos. (A) Proceso Sulfito. (B) Proceso Kraft.

(transición $\pi \leftarrow \pi^*$) y la bencenoide ubicada alrededor de 280nm (transición $n \leftarrow \pi^*$) (Changqing y et al., 2006; Piña et al., 2011). La diferencia de intensidad de las bandas etilénica y bencenoide de los productos línicos obtenidos con respecto a la comercial se debe a que los enlaces etilénicos se hayan perdidos al momento de la precipitación de la lignina, al igual que existe menos conjugación en los anillos aromáticos, por ello se observa la disminución de absorción de dichas bandas.

Por su parte, es importante resaltar que la técnica por FTIR (Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier) nos permite identificar todos los grupos funcionales de la lignina tratada y no tratada (i.e. alcohol, fenol, grupos carbonilo, éter), principalmente en la región espectral entre 4000 y 600 cm^{-1} . Esta técnica es versátil y rápida para el análisis de productos de degradación oxidativa y materiales lignocelulósicos en general (Yang y Ragauskas, 2002; Morrison

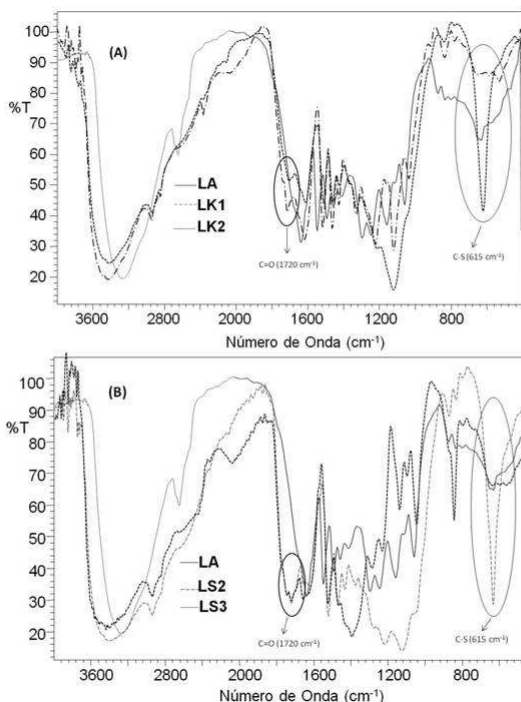


Figura 4: Espectros FTIR de los derivados liginicos aislados del licor negro en el Proceso Kraft (A) y el Proceso Sulfito (B).

et al., 2003; Pouteau et al., 2005; Changqing et al., 2006;). En la Figura 4 se muestran los espectros de absorción molecular por FTIR de los derivados que presentaron algunas diferencias con respecto a la lignina comercial (LA). Asimismo, se menciona que los demás derivados obtenidos (LK3, LK4, LK5, LS1, LS4 y LS5) presentaron la mismas señales características a LA.

Dichos espectros infrarrojos (IR) muestran que los productos liginicos obtenidos presentan algunas señales que la lignina comercial (LA). Estas señales corresponden a la vibración de estiramiento de: $O - H$ (enlace de hidrógeno) a $3440 - 3430\text{cm}^{-1}$, $C - H$ alifática (grupos CH y CH_2) en $2940 - 2930\text{cm}^{-1}$, enlaces $C=C$ aromática ($1610 - 1690\text{cm}^{-1}$), enlaces $C - H$ alifática (grupos CH ó CH_2) a 1458cm^{-1} , señal carbonílica en 1720cm^{-1} (enlace $C = O$), enlaces

Concentración (ppm)	Curvas de Calibrado (Absorbancia)					
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	X	DS	% DER
2,0	0,106	0,112	0,104	0,1073	0,0042	3,88
4,0	0,228	0,226	0,218	0,2240	0,0053	2,36
8,0	0,446	0,448	0,439	0,4443	0,0047	1,06
10,0	0,552	0,552	0,559	0,5543	0,0040	0,73

$n = 3$; X = promedio; DS = desviación estándar; DER = Desviación estándar relativa (%).

Cuadro 2: Datos estadísticos de las curvas de calibrado del naftol.

de $C - O$ (anillo guaiacil) a $1210\text{cm} - 1$ y enlaces de alcoholes secundarios a $1170\text{cm} - 1(C - O)$. Asimismo, se observa que los productos $LK - 2$ y $LS - 2$ presentan en el espectro IR una banda a $615\text{cm} - 1$ que corresponde a la señal $C - S$, lo cual indica que existe presencia de azufre en la estructura lignica, así como también lo señalan Yang y Ragauskas (2002) y Piña et al. (2011).

Determinación por el método colorimétrico FolinCiocalteu de la cantidad de fenoles totales en los derivados lignicos obtenidos

En el Cuadro 2 se muestran resultados estadísticos de las curvas de calibrado del naftol para la determinación de fenoles totales en las muestras lignicas obtenidas. Se muestra que existe una baja dispersión en los datos, lo cual indica que existe una buena repetitividad, ya que la DER es menor al 5 %, estos resultados son aceptables en el desarrollo de un método analítico.

En la Figura 5 se muestra la curva de calibración del naftol utilizada para la determinación de fenoles totales en los derivados obtenidos en las reacciones, analizadas a una longitud de onda de 760nm , la cual se representan en concentración de fenol (mg/mL).

En la curva de calibración mostrada en la Figura 5 se muestra que existe linealidad, representada en un coeficiente lineal de 0,9999. Con la ecuación de la recta ($A = 0,0557X + 0,0018$) se determinó la cantidad de fenoles presentes en las muestras problemas. En el Cuadro 3 se muestran los resultados obtenidos en la determinación de fenoles

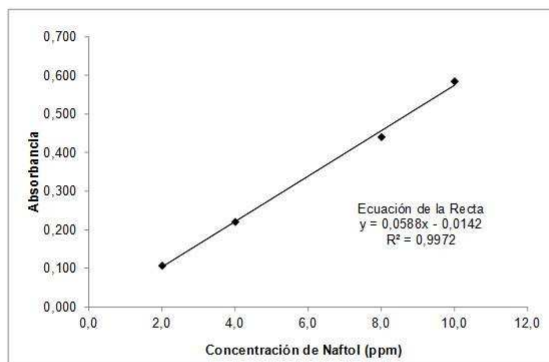


Figura 5: Curva de calibración del Naftol.

totales para los derivados liginicos.

Se observa que el derivado liginico extraído con ácido nítrico (*LS4*) y ácido fosfórico (*LS5*) en el proceso de Sulfito contiene la mayor cantidad de grupos *OH*, en comparación a los derivados obtenidos para el proceso de Kraft que presentaron un menor %*OH*. Asimismo, se tiene que el orden decreciente del porcentaje de fenol en los productos liginicos son: *LS4* > *LS5* > *LK3* > *LK2* > *LS2* > *LK4* > *LS1* > *LK1* > *LK5* > *LS3*. Por todo lo antes analizado, se puede afirmar que los productos *LS4* y *LS5* pueden tener mayor capacidad antioxidante, debido a que contienen mayor cantidad de grupos fenoles en su estructura molecular, tal como se evidenció en el cuadro 3.

Conclusiones

La obtención de los derivados liginicos a partir del licor negro en el proceso Kraft y el proceso Sulfito de la industria papelera, fue lograda con éxito con los diferentes ácidos utilizados en el análisis. Estos derivados fueron identificados por las técnicas de absorción molecular en la región UV-Vis e Infrarrojo, donde se corroboró su similar estructura a la lignina comercial. Asimismo, los derivados liginicos *LS4* y *LS5* presentaron mayor cantidad de grupos fenoles en su estructura, por lo que se asume que tiene capacidad antioxidante, en comparación a los demás derivados obtenidos.

Muestra	Absorbancia	Concentración (ppm)	%OH*
LS1	0,128	2,42	49,15
LS2	0,136	2,55	52,22
LS3	0,107	2,06	41,09
LS4	0,237	4,27	91,01
LS5	0,212	3,85	81,41
LK1	0,122	2,32	46,85
LK2	0,139	2,61	53,37
LK3	0,142	2,66	54,53
LK4	0,129	2,44	49,53
LK5	0,120	2,28	46,08

*Asumiendo que la Lignina comercial representa el 100%OH.

Cuadro 3: Resultados obtenidos en la determinación de fenoles para las muestras lógicas

Referencias

- Calvo, J. (2014). Pinturas y barnices: Tecnología básica. Madrid. Díaz de Santos. Pp.133.
- Casey, J. (1990). Pulpa y papel. México, D. F.: Editorial Limusa. Vol. 1, pp. 71-150, 358-602.
- Chakar, F. y Raguaskas, S. (2004). Review of current and future softwood kraft lignin process chemistry. Industrial Crops and Products. Vol. 20, pp. 131-141.
- Changqing, J., Christensen, P., Egerton, T., Lawson, E. y White, J. (2006). Rapid measurement of polymer photo-degradation by FTIR spectrometry of evolved carbon dioxide. Polymer Degradation and Stability. Vol. 91, pp. 1086-1096.
- García, C. (2015). Control de Calidad del ácido Salicílico en un polvo farmacéutico. Universidad Técnica de Machala, Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud, pp. 6.
- González, A. (2007). Caracterización de Fracciones de Lignina Extraídas del Licor Negro con Solventes Orgánicos. Revista Forestal Latinoamericana. N 42, pp. 51-64.
- Grabber, J. (2005). How do lignin composition, structure and cross-

- linking affect degradability? A review of cell wall model studies. *Crop Science*. Vol. 45, pp. 820-831.
- Hatfield, R. y Fukusima, R. (2005). Can Lignin Be Accurately Measured?. *Crop Science*. Vol. 45, pp. 832-839.
- Httermann, A., Mai, C. y Kharazipour, A. (2001). Modification of lignin for the production of new compounded materials. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 55, Nro 4, pp. 387-394.
- Ikawa, M., Schaper, T., Dollard, C. y Sasner, J. (2003). Utilization of Folin-Ciocalteu phenol reagent for the detection of certain nitrogen compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 51, Nro 7, pp 1811-1815.
- Kirk, K. y Obst, J. (1988). Lignin Determination. *Methods in Enzymology*. Academic Press, Inc. Vol. 161, pp. 87-101.
- Liesa, F. y Bilurbina, L. (1990). *Adhesivos industriales*. Barcelona, Editorial Marcombo. Vol. 39, pp. 42.
- Lorenzo, P., Moreno, A., Lizasoain, I., Leza, J., Moro, A. y Portolés, A. (2008). Velázquez. *Farmacología básica y clínica*. Décimo octava edición, Buenos Aires, Médica Panamericana. Pp. 145.
- Micheli, F. (2006). *Enfermedad de Parkinson y trastornos relacionados*. Segunda edición. Buenos Aires, Médica Panamericana. pp. 214.
- Morrison, W., Himmelsbach, D., Akin, D. y Evans J. (2003). Chemical and Spectroscopic Analysis of Lignin in Isolated Flax Fibers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 51, Nro 9, pp. 2565-2668.
- Nagarathnamma, R. y Bajpai, P. (1999). Studies on decolourization, degradation and detoxification of chlorinated lignin compounds in kraftbleaching effluents by *Ceriporiopsis subvermispora*. *Process Biochem*. Vol. 34, Nro 9, pp. 939-948.
- Padilla, A. y Rincón, L. (2008). Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. *rgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición*. Vol. 58, Nro 3, pp. 303-308.
- Peck, V. y Daley, R. (1994). Toward a "Greener" Pulp and Paper Industry. The Search for Mill Effluent Contaminants and Pollution Prevention Technology. *Environmental Science & Technology*. Vol. 28, Nro 12, pp. 524-527.

- Piña, I., Ysambertt, F., Arias, M., Chirinos, J. y Castillo, M. (2011). Capacidad antioxidante de la lignina extraída del licor negro en polietileno de baja densidad. *Revista iberoamericana de polímeros*. Vol. 12, Nro 4, pp. 216-226.
- Pouteau, C., Dolea, P., Cathalaa, B., Kurek, B. y Monties, B. (2005). Structural modification of Kraft lignin after acid treatment: Characterization of the apolar extracts and influences on the antioxidant properties in polypropylene. *Industrial Crops and Products*. Vol. 21, pp. 101-108.
- Redolar, D., Moreno, A., Robles, N., Soriano, C., Torras, M. y Vale, A. (2010). *Fundamentos de Psicobiología*. Primera edición en lengua castellana, Barcelona, UOC. Pp. 239- 240.
- Rossi, C., Pereyra, A., González, G., De León, M. y Chagra, P. (2008). Composición química, contenido de polifenoles totales y valor nutritivo en especies de ramoneo del sistema silvopastoril del Chaco árido argentino. *Zootecnia Tropical*. Vol. 26, Nro 2, pp. 105-115.
- Toledano, A., Serrano, L., Garcia, A., Mondragon, J. y Labidi, I. (2010). Comparative study of lignin fractionation by ultrafiltration and selective precipitation, *Chemical Engineering Journal*. Vol. 157, Nro 1, pp. 157, 93-99.
- Vinson, J., Zubik, L., Bose, P., Samman, N. y Proch, J. (2005). Dried fruits: excellent in vitro and in vivo antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*. Vol. 24, pp. 44-50.
- Yang, R. y Ragauskas, A. (2002). Oxygen Degradation and Spectroscopic Characterization of Hardwood Kraft Lignin. *Journal of Industrial & Engineering Chemistry*. Vol. 41, Nro 24, pp. 5941-5948.
- Ysambertt, F., González, T., Delgado, N., Bravo, B., Chávez, G., Cáceres, A., Márquez, N. y Bullón, J. (2009). Propiedades tensioactivas de la lignina extraída del licor negro modificada por reacciones asistidas por microondas. *Revista Cubana de Química*. Vol. 21, Nro 3, pp. 66.