

# Nuevas tecnologías aplicadas al análisis de la biodegradación de madera muerta

Díaz Zirpolo, J.<sup>1</sup> y A. M. Gimenez<sup>1</sup>

## 1. Introducción

La madera muerta (MM), se refiere a toda la biomasa leñosa muerta que no forma parte de la hojarasca, ya sea en pie, que yace en la superficie, las raíces muertas y los tocones de un diámetro igual o superior a 10 cm., o cualquier otro diámetro utilizado por el país. Cada país puede utilizar otro valor límite, que no sea de 10 cm., pero en ese caso, el valor límite utilizado debe ser documentado (FAO, 2005).

A su vez representa un componente básico en la estructura y funcionamiento de los ecosistemas forestales, ya que forma parte de numerosos procesos biológicos, físicos y químicos (Harmon *et al.*, 1986). El diámetro y el grado de descomposición (clase de deterioro) se han utilizado para precisar aún más las categorías de MM presente en un bosque (Harmon *et al.*, 1986).

El deterioro de la MM es un proceso esencial en el ambiente, puesto que recicla la materia orgánica compleja y constituye un componente integral de la vida.

El biodeterioro es esencialmente el resultado de la progresiva digestión de la madera por hongos o insectos, causando una continuidad de cambios en su apariencia y en sus propiedades químicas, físicas y mecánicas, condición que la hace poco atractiva para ciertos usos. En ambientes naturales, la madera es frecuentemente colonizada en forma rápida por microorganismos e insectos comenzando un proceso de descomposición o biodegradación (Zabel y Morrell, 1992), que pueden culminar en la pérdida total de la pieza de madera.

Según Swift *et al.*, (1979), la descomposición de la MM se encuentra regulada por tres factores que interactúan entre sí, el ambiente físico-químico, la calidad del recurso y los organismos presentes (Figura 1).

---

<sup>1</sup> Laboratorio de Anatomía de Madera, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Nacional de Santiago del Estero. E-mail: diazzirpolo@gmail.com

Sin embargo, los factores causales que rigen la descomposición de la madera son aún poco conocidos (Cornwell *et al.*, 2009).



**Figura 1.** Factores interactuantes que regulan la descomposición de madera muerta.

Según Oliveira *et al.*, (1986), una madera es degradada biológicamente, porque algunos organismos utilizan los polímeros naturales de sus paredes celulares como fuente de alimento o poseen sistemas enzimáticos específicos capaces de metabolizarlos en unidades digeribles. La albura es la parte de la madera que representa material nutritivo susceptible al ataque de agentes biológicos como las reservas alimenticias en las células del parénquima. El duramen normalmente presenta mayor durabilidad natural, la cual se atribuye a la presencia de sustancias tóxicas en cantidades considerables que previenen o minimizan el ataque de los organismos que causan el deterioro. En tanto que la madera de albura no tiene suficiente cantidad de extractivos, o son de baja toxicidad para inhibir el crecimiento de los organismos (Velásquez *et al.*, 2004). Bajo las mismas condiciones el grado de deterioro la albura puede ser un 40 % más rápido que en la del duramen (Honorato *et al.*, 1998).

La madera se compone de tres tipos de polímeros: celulosa, hemicelulosas y lignina que están fuertemente entrelazadas y unidas químicamente por fuerzas no covalentes y por enlaces cruzados covalentes. Una gran variedad de hongos y bacterias pueden fragmentar estas macromoléculas mediante el uso de un complejo de enzimas hidrolíticas u oxidativas (Pérez *et al.*, 2002). Los principales componentes de las paredes celulares leñosas son degradados por diversos grupos de organismos en diferentes grados.

Teniendo en cuenta que el sector forestal cumple un rol importante en la economía del país, resulta necesario el desarrollo de nuevas tecnologías, así como el perfeccionamiento de técnicas ya conocidas para utilizar de forma racional el potencial de MM que tienen a disposición los países de América Latina.

Las propiedades de los materiales pueden ser estudiadas por las características de sus microestructuras. La Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) es una herramienta ampliamente utilizada para ello. El MEB generalmente se utiliza con muestras densas, es decir, básicamente no transparentes a los electrones, de alta resolución, brindando imágenes con aspecto tridimensional (Bolzón, 2014).

Por otro lado, se ha demostrado que los métodos de investigación térmicos constituyen herramientas adecuadas para el estudio de las propiedades físicas de la MM, puesto que proporcionan información sobre la interacción entre la celulosa, lignina y hemicelulosa, sustancias extractivas, agua, etc., como así también, para comprender la descomposición de los diversos materiales de la biomasa (Grønli *et al.*, 1999; Franceschi *et al.*, 2008; Hou *et al.*, 2008).

En este contexto, el objetivo del trabajo fue evaluar los grados de deterioro de la MM en bosques del Chaco Semiárido, mediante nuevas tecnologías.

### **Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)**

El uso del MEB permite la observación de las características xilológicas con una mínima preparación de las muestras constituyendo un elemento de juicio indiscutible cuando se trata de identificación y evaluación de maderas (González, s.f.).

Una de las aplicaciones de técnicas de MEB en las ciencias forestales, es la determinación de los atributos de calidad de la madera, como el espesor de anillos y la densidad de la madera, el porcentaje de madera juvenil y la morfología de la rama (Bolzón, 2014).

### **Termogravimetría / Termogravimetría derivada (TG / DTG)**

Las técnicas de análisis térmicos miden variaciones de un determinado parámetro en función de la temperatura (calefacción o enfriamiento) o como una función del tiempo a una temperatura constante. Proporcionan resultados en forma de las curvas, las cuales tienen las informaciones acerca de la variación del parámetro medido.

El análisis térmico es una técnica que se ha utilizado ampliamente para caracterización de productos de madera (polímeros, compuestos). Mide los cambios de entalpía asociadas al calentamiento, recocado, cristalización, y otros efectos por el tratamiento térmico de los polímeros, incluida la polimerización, degradación y cambios químicos.

La definición de las técnicas para el análisis térmico fue originalmente propuesta por el Comité de Nomenclatura de la Confederación Internacional de Análisis Térmicos (ICTA), fue adoptada por la Sociedad Americana de Pruebas de Materiales (ASTM) y se define como: Grupo de técnicas en las que las propiedades físicas o químicas de una sustancia se miden en función de la temperatura mientras la sustancia está sujeta a un programa de temperatura controlado y bajo una atmósfera.

Las técnicas termoanalíticas utilizadas con mayor frecuencia en la caracterización son: a) termogravimetría (TG), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y el análisis térmico-dinámico-mecánico (DMTA o DMA).

En tiempos recientes, la rápida evolución de los productos de madera, polímeros y los plásticos son impulsados por el desarrollo de las técnicas e instrumentos. Las técnicas de análisis térmico han recibido mucha aceptación por ser medidas precisas, rápidas y sintetizadas para estudiar fenómenos de fusión, transición vítrea, cristalización, además de acompañar procesos de curación, degradación y oxidación.

La termogravimetría (TG) mide la variación masiva de un material sometido al agua de calefacción. Es una técnica en la cual el peso de una muestra se mide continuamente en función del tiempo a temperatura constante, mientras que la muestra está sometida a un programa controlado de calefacción o enfriamiento. Se utiliza una termobalanza que registra la ganancia o pérdida de masa que presenta la muestra. En la curva TG la ordenada se representa la pérdida de masa (%) en función de la temperatura, proporcionando así una fácil comparación entre varias curvas sobre una base normalizada.

La variación de peso puede ser representada en miligramos o en porcentaje de la muestra original. Otra forma de representar los datos en termogravimetría es por medio de la llamada termogravimetría Derivada (DTG) que es un recurso matemático que proporciona la primera derivada de la curva de peso, en función de temperatura o tiempo. El registro es la curva termogravimétrica derivada o curva DTG. El área de los picos bajo la curva DTG es proporcional a la pérdida de masa en aquel evento térmico.

Con la curva TG es posible obtener información sobre la estequiometría, estabilidad térmica de la muestra, composición y estabilidad de los compuestos intermedarios, curvas de adsorción y desorción, determinación de humedad, volatilidad, composición de cenizas, estudios de deshidratación e higroscopicidad, corrosión de materiales en varias atmósferas, degradación térmica oxidativa de sustancias poliméricas, así como la composición del producto final (Bolzón, 2014).

## 2. Área de estudio

El estudio se realizó en la Localidad de La Fragua, Departamento Pellegrini, Santiago del Estero, Argentina (Figura 2). El área de estudio pertenece al Distrito Chaqueño Occidental (Cabrera, 1976), y su posición geográfica corresponde a la latitud Sur  $26^{\circ}05'40,4''$  y longitud Oeste  $64^{\circ}20'23,8''$ . Se utilizaron imágenes satelitales LANDSAT TM 5 de febrero del 2003, georreferenciadas al sistema Posgar de 1998, 4° faja.

El clima es semiárido, con precipitaciones escasas y estivales alternando con sequías en períodos bien delimitados (Minetti y Acuña, 1994). La precipitación media anual es de 600 mm (varía entre 500 - 700).



Figura 2. Localización del área de estudio

Sobre la base de un inventario forestal, se adaptó un dispositivo para el estudio de MM, mediante parcelas rectangulares de  $10 \times 100$  m y muestreo por líneas de intersección (Díaz Zirpolo, 2014; Díaz Zirpolo y Giménez, 2013), evaluándose el grado de deterioro en base a 5 estados definidos a partir de características observables *in situ*, y posterior corroboración en laboratorio.

## 3. Evaluación del grado de deterioro de MM:

**3.1. En campo:** En base a 5 estados definidos a partir de características observables *in situ*, adaptando la clasificación propuesta por Pyle y Brown (1998), según (Tabla 1). Se determinó la humedad de cada muestra mediante xilohigrómetro y dataloggers (Figura 3).

**Tabla 1.** Clasificación del grado de deterioro

Grados de Deterioro	
I	La corteza no se desprende
II	La corteza se desprende pero se conserva el 50% de la misma
III	Se conserva menos del 50% de la corteza
IV	Sin corteza, el tronco se rompe fácilmente
V	La mayor parte del tronco es aserrín

Fuente: Adaptado de Pyle y Brown (1998).



**Figura 3.** Grados de deterioro de MM evaluados.

**3.2. Análisis de la biodegradación en laboratorio:** Con la finalidad de corroborar la clasificación visual (Tabla 1) utilizada a campo, se realizó una evaluación de los grados de deterioro de las dos especies leñosas más representativas del sitio de estudio (*Ruprechtia apetala* y *Prosopis nigra*) (Díaz Zirpolo, 2017), dichas especies concuerdan con lo relevado por Hernández, (2014) en bosques de serranía del Cerro El Remate del Departamento Pellegrini.

Dicha evaluación se llevó a cabo mediante dos etapas, utilizando las técnicas de Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y Termogravimetría / Termogravimetría Derivada (TGA / DTG).

#### a) 1º etapa: Microscopía electrónica de barrido (MEB)

En esta etapa fueron analizadas las muestras en sus diferentes grados de deterioro con MEB, obteniéndose imágenes de los diferentes elementos constitutivos de la madera, con ayuda de un equipo HITACHI modelo TM-1000, directamente del material macizo. Para la preparación de las muestras, se obtuvo bloques de madera (<5 mm), de cada una de las dos especies leñosas y de cada uno de los cinco grados de deterioro definidos (Tabla 1).

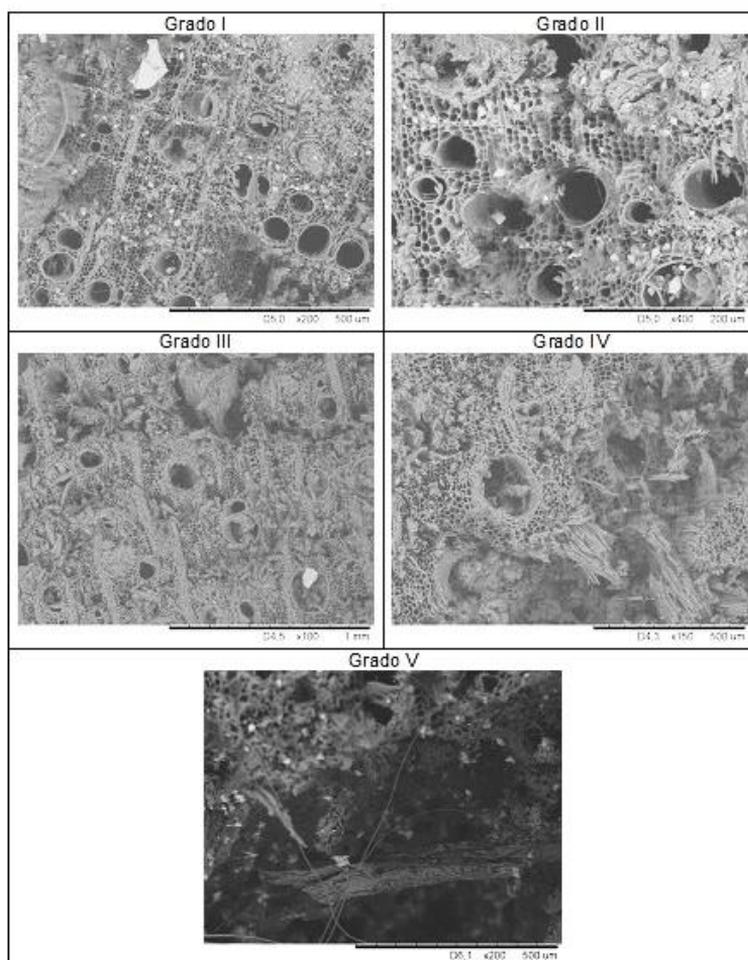
Los bloques en sus tres planos de corte fueron colocados sobre un disco de grafito, y posteriormente en el equipo, para realizar el análisis de los diferentes estados de degradación (Figura 4).



**Figura 4.** Secuencia para análisis con MEB.

Mediante el análisis se obtuvo para cada especie las correspondientes electromicrografías por cada grado de deterioro.

En la figura 5 se muestra un ejemplo de la ocurrencia del proceso de deterioro en la madera de *Prosopis nigra*.



**Figura 5.** MEB en *Prosopis nigra*.

Los grados I al II no presentan microscópicamente evidencia de deterioro de la pared celular. A partir del III estadio se comienza a notar los cambios estructurales y el adelgazamiento de las paredes, lo que generó una estructura más esponjosa y una degradación de los radios parenquimáticos.

El análisis permitió corroborar diferentes cambios como pérdidas de densidad y resistencia, debido al efecto de los productos químicos (enzimas) generados por hifas de hongos que disuelven los nutrientes de la MM al alimentarse.

Los grados IV y V manifiestan ruptura de la pared celular y pérdida de la estructura celular.

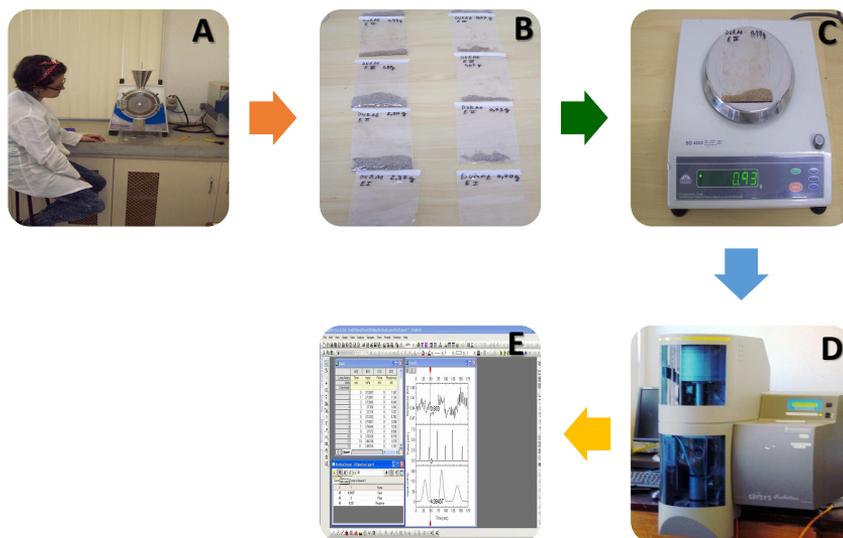
A partir del Grado IV, se produce una degradación intensa de todos los componentes de la pared celular, principalmente lignina, generándose la separación de las fibras y destrucción de lámina media.

También se observó hifas dentro de los vasos, las cuales ocupan el tejido xilemático y a la vez disgregan la unión celular desde la lámina media (Grado V).

Resultados similares fueron obtenidos por Anagnost (1998) al estudiar diferentes tipos de pudriciones en abedul y pino con MEB.

#### **b) 2º etapa: Termogravimetría/Termogravimetría Derivada (TGA / DTG)**

Esto permitió evaluar la degradación térmica de los polímeros de la MM. La preparación, fraccionamiento y trituración de las muestras fue realizada en el Centro de Investigaciones en Biomasa y Secuestro de Carbono (BIOFIX), de la Universidad Federal de Paraná (UFPR), Brasil. Para ello se utilizó un molino de seis cuchillas con tamices metálicos. Las muestras fueron pesadas individualmente, obteniéndose el peso verde de cada componente. Se realizó la medición del valor calorífico y se lo caracterizó por la degradación térmica, mediante un equipo *Setaram Setsys Evolution* (TGA-DTA/DSC 1500) (Figura 6). El análisis de TGA se llevó a cabo bajo una atmósfera de nitrógeno dinámico (flujo de gas de 20 ml min<sup>-1</sup>) y en el intervalo de temperatura de 25 - 600 °C con una calificación de calor de 10° C min<sup>-1</sup>. Las muestras pesaron entre 5 a 8 mg, con un tamaño de partícula inferior a 60 mallas. El crisol utilizado fue la alúmina. Los datos de pérdida de masa (termograma) fueron adquiridos durante la etapa de análisis térmico a un flujo de argón de 20 ml/min. Para el análisis estadístico de los datos estandarizados del TGA, se utilizó el software estadístico Origin Versión 8.6

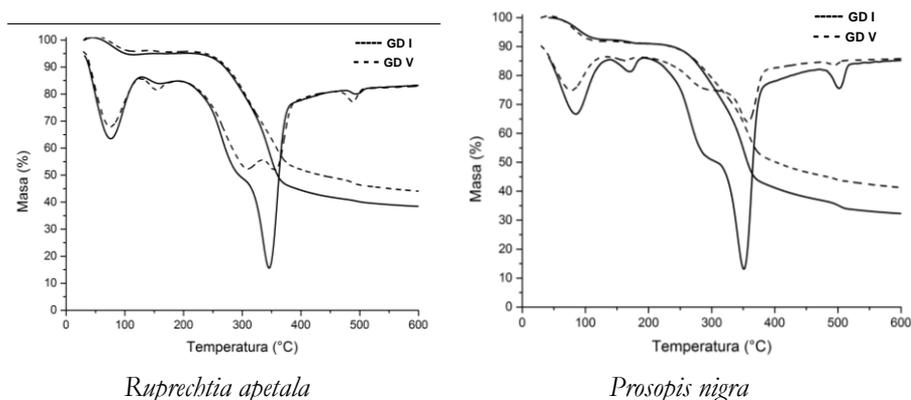


**Figura 6.** Ciclo para análisis de TGA. A - B. Trituración y fraccionamiento de muestras. C. Pesaje. D. Equipo *Setaram Setsys Evolution*. E. Termogramas.

El análisis TGA registró de manera continua la pérdida masa de los grados de deterioro I y V de las dos especies evaluadas, bajo una atmósfera controlada en función de la temperatura. Conjuntamente se determinó mediante termogravimetría derivada (DTG) el gradiente en la variación de masa a temperatura constante.

Mediante el software estadístico Origin Versión 8.6 se obtuvieron los termogramas (gráficas) para cada especie, siendo representados en líneas continuas el grado de deterioro I y en líneas discontinuas el grado V (Figura 7).

En los diferentes termogramas, pudo corroborarse mediante un análisis cualitativo un comportamiento semejante entre las especies evaluadas, con picos bien marcados que correspondieron a la pérdida de diferentes componentes; a los 50-100 °C se produjo la evaporación del agua; a los 250-300 °C se generó la degradación térmica de los azúcares de la madera (hemicelulosas); a los 360 °C se formó el mayor pico correspondiente a la degradación de la celulosa cristalina, dando lugar a una fase abrupta de pérdida de masa; mientras que a los 500 °C se reflejó la degradación térmica de la lignina.



**Figura 7.** Análisis de TGA y DTG de grados de deterioro en especies evaluadas.

\* Líneas continuas corresponden al grado I y líneas discontinuas representan al grado V. Conjunto de líneas descendentes indican las pérdidas de masas en función de la temperatura (TGA). Conjunto de líneas con picos indican sus correspondientes derivadas matemáticas (DTG).

Según Yang *et al.* (2007) la degradación de la lignina es lenta y se produce desde los 100-900 °C, sin embargo en el ensayo de temperatura final (600 °C) se observó una masa de residuo insignificante.

En general, se confirmó que los picos del grado de deterioro V fueron menores, puesto que la degradación fue considerable.

Las curvas de pérdida de masa de la MM, obtenidas a lentas velocidades de calentamiento, mostraron varias zonas de reacción asociados con la descomposición de sus componentes, que alcanzaron tasas máximas a diferentes temperaturas (Antal y Varhegyi, 1995).

#### 4. Consideraciones finales

Numerosos autores han demostrado que los métodos de investigación térmica constituyen herramientas adecuadas para el estudio de las propiedades físicas de la madera (Grønli *et al.*, 1999; Franceschi *et al.*, 2008; Hou *et al.*, 2008).

Las bajas velocidades de calentamiento TGA, las propiedades específicas de la celulosa y los diferentes sistemas de medición (Grønli *et al.*, 1999) entre otros factores, han demostrado que ejercen una influencia significativa en los parámetros cinéticos.

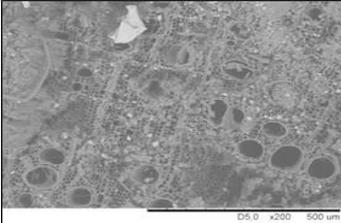
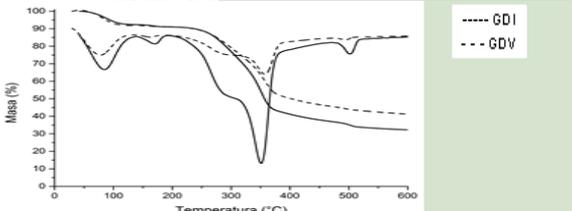
Grønli (1996) sostiene que para una lenta tasa de calentamiento, la degradación primaria de la madera comienza aproximadamente a los 500 K (226 °C), sin

embargo, a un ritmo rápido, la degradación se alcanza aproximadamente a 573 K (300 °C), siendo prácticamente el proceso encima de los 700 K (426 °C) (Pyle y Zaror, 1984).

Según Severian (2008) la primera etapa de pérdida de masa está asociada con la descomposición de las cadenas ramificadas, mientras que la segunda etapa corresponde a la ruptura de las principales cadenas del xilano.

Las técnicas MEB y TGA, son eficientes para confirmar la clasificación visual observada a campo (Tabla 2).

**Tabla 2.** Comparación de técnicas evaluadas

Técnica	Grado I	Grado V
<b>Clasificación Visual</b>		
<b>MEB</b>		
<b>TGA</b>		

Dichas tecnologías de investigación constituyen herramientas adecuadas para el estudio de las propiedades físicas, permitiendo comprender las transformaciones que producen durante la descomposición.

## Referencias Bibliográficas

- Anagnost, S. 1998. Light Microscopic Diagnosis of Wood Decay. *IAWA Journal* 19(2): 141-167.
- Antal, M. J. and G. Varhegyi. 1995. Cellulose pyrolysis kinetics: The current state of knowledge. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 34: 703-717.
- Bolzón, G. I. (2014). *Novas Tecnologías Aplicadas ao Setor Florestal*. En. A. M. Giménez y G. Bolzón (Eds.), *Educación e Investigación Forestal para un Equilibrio Vital*. Parte 2. Cap. 9. (pp. 247-280). ISBN: 978-987-192-5-261.
- Cabrera, A. L. 1976. Regiones fitogeográficas argentinas. *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. Tomo II Fs. 1. Editorial ACME. Bs. As. Argentina. 1-85 p.
- Cornwell, W. K.; Cornelissen, J. H.; Allison, S. D.; Bauhus, J.; Eggleton, P.; Preston, C.; Scarff, F.; Weedon, J. T.; C. Wirth, and A. E. Zanne. 2009. Plant traits and wood fates across the globe: rotted, burned, or consumed?. *Global Change Biology* 15(10): 2431-2449.
- Díaz Zirpolo, J. y Giménez A. M. (2013). Cuantificación y calificación de madera muerta en un bosque del Chaco Semiárido. *Quebracho*. Vol. 21(1,2):103-114.
- Díaz Zirpolo, J. A. (2014). *Madera Muerta en los Bosques del Chaco Semiárido, Argentina; Cuantificación, Caracterización y Evaluación*. En. A. M. Giménez y G. Bolzón (Eds.), *Educación e Investigación Forestal para un Equilibrio Vital*. Parte 3. Cap. 6. (pp. 359-364). ISBN: 978-987-192-5-261.
- Díaz Zirpolo, J. A. 2017. *Madera muerta como factor para la gestión de los recursos forestales en bosques del Chaco Semiárido, Argentina*. Tesis Doctoral. Programa de Doctorado de la Facultad de Ciencias Forestales. Universidad Nacional de Santiago del Estero, Argentina. 141 p.
- FAO. 2005. *Evaluación de los Recursos Forestales Mundiales*.
- Franceschi, E.; I. Cascone and D. Nole. 2008. Study of artificially degraded woods simulating natural ageing of archaeological findings. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 92(1): 319-322.
- González, M. A. s.f. *El Uso del MEB en la Identificación de las Maderas Argentinas*. [Disponible en: <http://www.revistacyt.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/tecnologicas/t-057.pdf>; consultado 14 de marzo de 2018].
- Grønli, M. G. 1996. *A theoretical and experimental study of the thermal degradation of biomass*. Ph.D. thesis, NTNU, Trondheim, Norway.
- Grønli, M.; M. J. Antal and G. Varhegyi. 1999. A round-Robin study of cellulose pyrolysis kinetics by thermogravimetry. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 38: 2238-2244.
- Harmon, M. E.; Franklin, J. F.; Swanson, F. J.; Sollins, P.; Gregory, S. V.; Lattin, J. D.; Anderson, N. H.; Cline, S. P.; Aumen, N. G.; Sedell, J. R.; Lienkaemper, G. W.; Cromack, K. JR.; Cummins, K. W. (1986). Ecology of coarse woody debris in temperate ecosystems. *Adv. Ecol. Res.* 15, 133-302.
- Hernández, P. del C. 2014. *Diversidad estructural y composición de un bosque serrano de la provincia de Santiago del Estero, Argentina*. Tesis Doctoral. Programa de Doctorado de la Facultad de Ciencias Forestales. Universidad Nacional de Santiago del Estero, Argentina. 166 p.
- Honorato, S; Jaspe, A; Hernández, P. 1998. Determinación de los componentes químicos de la Madera de cinco especies de encinos del estado de Puebla. *Madera y Bosque* 4 (2): 79-83.

- Hou, A., Wang, X., and Wu, L. 2008. Effect of microwave irradiation on the physical properties and morphological structures of cotton cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 74, 934–937.
- Minetti, J. y L. Acuña. 1994. Régimen de variabilidad interanual de las precipitaciones anuales en el centro-este de la Provincia de Santiago del Estero. INTA. Centro Regional Tucumán, Santiago del Estero.
- Oliveira, A; Silva, T. y Caballera, A. 1986. Agentes detruidores da madeira. Manual de presevacao de madeiras. Sao Paulo.
- Pérez, J., Munoz-Dorado, J., de la Rubia, T., and Martinez, J. 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicelluloses and lignin: An overview. *International Microbiology*, 5, 53–63.
- Pyle, D. L., and Zaror, C. A. (1984). Heat transfer and kinetics in the low temperature pyrolysis of solids. *Chemical engineering science*, 39(1), 147-158.
- Pyle, C. and Brown, M. M. (1998). A rapid system of decay classification of hardwood logs of the eastern deciduous forest floor. *J. Torrey Bot. Soc.* 125: 237-245.
- Severian, D. (2008). *Polysaccharides: structural diversity and functional versatility*. Marcel Dekker, New York.
- Swift, M. J.; W. O. Heal and J. M. Anderson. 1979. *Decomposition in terrestrial ecosystems. Studies in Ecology. Vol 5*. University of California Press. Berkeley, California, USA. 372 p.
- Velásquez, D.; Encinas, O. y Mora, N. 2004. Durabilidad natural e inducida de las maderas Guácimo y *Leucaena* provenientes de plantaciones forestales. IV Congreso Forestal Venezolano. Barinas.
- Zabel, R. y Morrell, J. 1992. *Wood microbiology. Decay and its prevention*. Academic press. San Diego. 476 p.
- Yang, H.; R. Yan; H. Chen; D. H. Lee and C. Zheng. 2007. Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel* 86: 1781-1788.