Claudia Crestini
Dipartimento di Scienze
e Tecnologie Chimiche
Università di Roma
"Tor Vergata"
crestini@STC.UNIROMA2.IT

ITALIC 4. IL LEGNO, CENT'ANNI DI STUDI STRUTTURALI

Nonostante la prima caratterizzazione strutturale della lignina risalga al 1908 molto è ancora ignoto circa la struttura dei materiali lignocellulosici.

Italic 4 ha dedicato una sessione agli avanzamenti nel settore, focalizzata principalmente sull'identificazione e caratterizzazione di interazioni supramolecolari in biopolimeri vegetali.

Nel 1838 Anselme Payen scoprì che trattando del legno dapprima con acido nitrico e successivamente con una soluzione alcalina si poteva ottenere in rese maggiori un residuo insolubile, che chiamò cellulosa, ed un secondo polimero dissolto nella soluzione a cui venne successivamente attribuito da Schulze il nome di lignina. Circa trent'anni dopo venne brevettato il primo metodo per separare la lignina dalla cellulosa e quindi si aprì la strada per la produzione della carta a partire dalle fibre lignocellulosiche. Da allora sono state prodotte oltre 12.000 pubblicazioni scientifiche su questi due polimeri ed il numero dei brevetti è in continuo aumento. All'inizio degli anni 2000, sulla spinta di alcuni gruppi di ricerca delle Università di Roma Tor Vergata e Milano Bicocca, attivi da anni in questo settore anche in Italia, si è deciso di istituzionalizzare un congresso sulla chimica dei materiali lignocellulosici, con cadenza biennale. In questa atmosfera ricca di aspettative, è nata l'idea di "*Italic*", un appuntamento ormai di levatura internazionale a cui partecipano i maggiori esperti del settore.

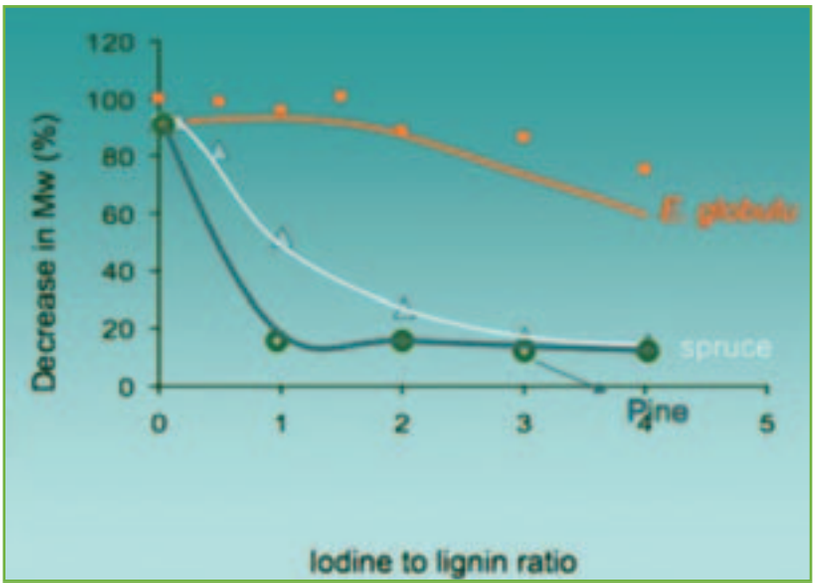

Fig. 1 - Andamento del peso molecolare di differenti lignine al diminuire delle interazioni intermolecolari

Quando nel 1908 Klason propose la struttura della lignina certo non poteva immaginare di stare avviandõ una delle ricerche più complesse, ed ancora oggi solo in parte risolte, sulla struttura dei polimeri naturali. Infatti mentre la struttura della cellulosa può oramai considerarsi chiarita, molti problemi devono ancora trovare una risposta nel caso degli altri due componenti più abbondanti del legno, la lignina e le emicellulose.

Diversi interventi dell'Italic 4 sono stati focalizzati su questo importante argomento, riportando nuove idee ed acquisizioni sulla struttura di questi polimeri.

D.S. Argyropoulos (North Carolina State University, USA) e C. Crestini (Università di Tor Vergata, Roma) hanno relazionato sulla presenza ed importanza di associazioni non covalenti tra singole catene polimeriche nella determinazione delle proprietà chimico-fisiche della lignina. Infatti, nonostante ci sia un generale consenso circa la possibilità di strutture supramolecolari non covalenti per la lignina, che possono formarsi sia in acqua che in solventi organici, la natura e l'intensità delle forze operanti in tali processi è ancora materia di discussione [1]. La conoscenza e quindi il controllo di tali interazioni potrebbe permettere la modulazione delle proprietà generali della lignina aprendo nuove e sin qui impensate opportunità applicative. In particolare, è stata analizzata l'aggregazione in tetraidrofurano di lignine EMALs (Enzymatic Mild Acidolysis Lignin) isolate da diverse qualità di legni di tipo softwood ed hardwood, tra cui l'abete nero e l'eucaliptus, e da piante annuali come la paglia di grano [2]. I campioni di lignina erano sottoposti a derivatizzazione tramite acetobromurazione e successivamente sospesi in THF ed analizzati tramite cromatografia per esclusione e light scattering. Gli autori hanno evidenziato il differente comportamento di aggregazione della lignina EMAL a seconda della sua provenienza, con le lignine da softwood che presentano una propensione ad associare e dissociare maggiore rispetto a lignine di hardwood e di piante erbacee. Inoltre i processi di associazione/dissociazione sembrano dipendenti dal tempo d'invecchiamento dei campioni, indicando la tendenza dei sistemi a formare strutture supramolecolari più stabili in funzione del tempo di interazione. Favorendo condizioni di dissociazione in presenza di LiCl, gli autori hanno anche evidenziato un valore del peso molecolare medio per le singole catene di lignina molto basso rispetto a quanto riportato in precedenza, suggerendo un nuovo scenario per questo polimero, in cui una popolazione di oligomeri relativamente piccoli aggregano fortemente per costituire una struttura supramolecolare particolarmente stabile. Il tema del peso molecolare dei biopolimeri componenti il legno è stato affrontato anche nell'interessante relazione di M. Strlic (Università di Lubiana, Slovenia), centrata sulla comparazione tra i risultati di analisi di campioni di cellulosa mediante cromatografia di esclusione ottenuti con impiego di diverse tecniche di campionamento. La cellulosa è un materiale polidisperso parzialmente amorfo e parzialmente cristallino. Inoltre le fibre vegetali contengono polisaccaridi non cellullosici: le emicellulose. Considerando il ruolo estremamente rilevante della cellulosa, e poiché il suo utilizzo dipende dalle caratteristiche chimiche e strutturali, la conoscenza della distribuzione del peso molecolare è di interesse primario sia nell'ottimizzazione delle sue utilizzazioni sia in studi di base. Sebbene la cellulosa sia un omopolimero lineare, la determinazione del suo peso molecolare è ancora soggetto di controversie. Ciò è dovuto al fatto che gli standard non sono disponibili e le procedure di dissoluzione implicano stadi durante i quali il campione può essere soggetto a degradazione: riscaldamento, derivatizzazione, etc.

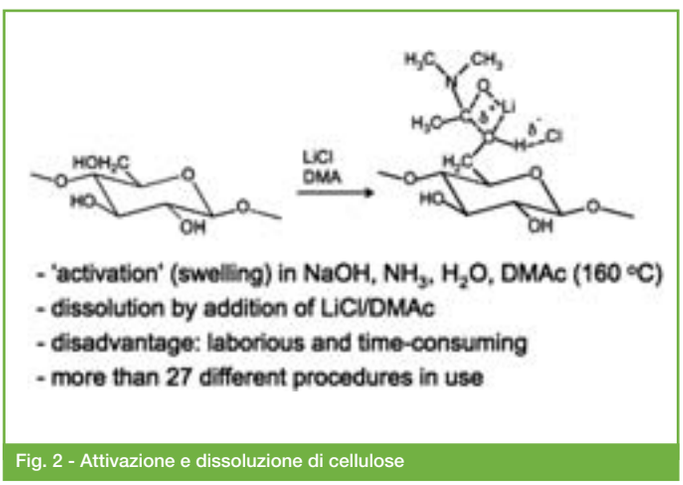

Fig. 2 - Attivazione e dissoluzione di cellulose

La determinazione del peso molecolare della cellulosa è basata su due tecniche routinarie, la viscosimetria e la cromatografia per esclusione.
Nonostante la viscosimetria sia la tecnica tradizionale standardizzata per determinazioni di routine questa può rivelare solo la media viscosimetrica del peso molecolare. Nella viscosimetria, la degradazione del campione può avvenire a causa di un elevato pH del solvente dello standard, che puo essere negativo per campioni parzialmente ossidati. Le tecniche cromatografiche di esclusione per la caratterizzazione della cellulosa forniscono dati dettagliati sul valore medio, ma anche sulla distribuzione del peso molecolare.
Per ottenere le analisi cromatografiche la cellulosa deve essere solubilizzata e la derivatizzazione della cellulosa per ottenere prodotti più solubili è una tecnica molto utilizzata. Nonostante i derivati della cellulosa mostrino un'elevata solubilità in solventi convenzionali per SEC, come il tetraidrofurano, il grado di derivatizzazione può non essere uniforme ed il processo stesso di derivatizzazione può causare la parziale degradazione del polimero. La dissoluzione in LiCl/*N,N*-dimetilacetammide procede mediante scissione di legami idrogeno intermolecolari per interazione delle molecole del solvente con i gruppi ossidrilici della cellulosa. La dissoluzione è più rapida se la cellulosa è "attivata" prima dell'addizione di LiCl mediante riscaldamento convenzionale o per microonde. Questo e l'uso di approcci non convenzionali, come la dissoluzione nel liquido ionico 1-butil-3-metil-imidazolio cloruro, sono stati esaminati nella presentazione [3].
La derivatizzazione usando etil o fenil isocianato sta acquisendo

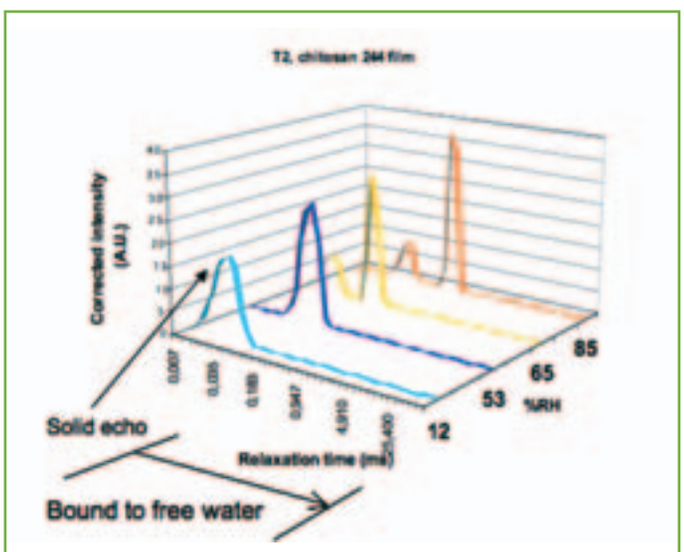

Fig. 4 - Spettri di rilassamento T2 di film di chitosano a differenti RHi

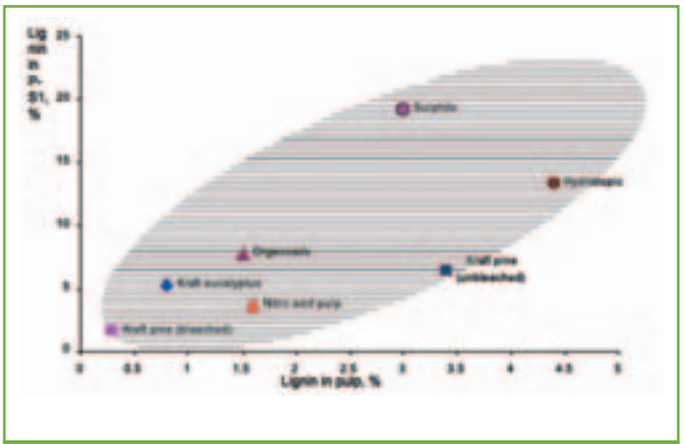

Fig. 3 - Relazione tra il contenuto in lignina negli strati superficiali P-S1 delle fibre di pasta di cellulosa e negli strati interni

maggior diffusione. Questa procedura riveste un interesse particolare in quanto può essere usata con un limitato consumo di campione e può essere utilizzata per la determinazione del peso molecolare di campioni contenenti lignina.
Anche in questo caso è stato possibile comprendere come i risultati ottenibili tramite cromatografia per esclusione possano essere significativamente influenzati dalla dinamica dei processi di aggregazione ed associazione delle molecole del polimero.
Lo stato di aggregazione dei biopolimeri componenti il legno non solo può influenzare le proprietà meccaniche dei materiali, ma, come descritto da A. Treimanis (Istituto di Chimica del Legno, Riga), può anche influire sull'efficienza di specifici trattamenti chimici, come ad esempio i trattamenti ossidativi di sbianca delle paste di cellulosa nei processi di fabbricazione della carta.
Nel caso specifico, innovative tecniche di "peeling" chimico e termomeccanico [4] sono state utilizzate per separare gli strati superficiali della parete P-S1 e S2-S3 delle fibre di pasta di cellulosa ottenute mediante trattamenti kraft ed organosolv al fine di poterli sottoporre separatamente ad una sequenza di sbianca comprendente trattamento con perossido d'idrogeno, xilanasi, estrazione alcalina e nuova ossidazione chimica.
Misure UV-visibile per la determinazione dell'efficacia del trattamento tramite verifica della "brightness" delle paste hanno chiaramente indicato una diversa resistenza del materiale trattato a seconda dello strato superficiale di appartenenza, che risulta maggiore per le fibre più in superficie e minore per quelle localizzate nella zona più centrale. Questi risultati sono stati interpretati considerando la presenza di quantità maggiori di lignina proprio in corrispondenza degli strati superficiali.
Un'ampia parte della sessione è stata quindi dedicata a nuove tecniche strumentali per la caratterizzazione del legno e dei suoi derivati, un argomento centrale del recente progetto europeo

COST E 41, la cui riunione si è tenuta in congiunzione con l'Italic 4 a Roma. In quest'ambito N. Bordenave (Università di Bordeaux, Francia) ha descritto l'applicazione di tecniche di rilassometria NMR (T2 e T1p) [5] per la determinazione degli stati energetici dell'acqua assorbita in materiali cartacei ricoperti con uno strato di chitosano. Misure FT-IR e di microscopia a scansione elettronica (SEM) indicano una forte interazione e penetrazione in profondità del chitosano nella cellulosa in grado di garantire un'elevata impermeabilizzazione al materiale, garantendo elevate prestazioni per l'industria dell'imballaggio.

Numerose le presentazioni di interesse in ambito strumentale. C. D'Andrea (Politecnico di Milano) ha descritto i risultati di caratterizzazione di campioni di legno softwood ed hardwood con tecniche di spettroscopia ottica nella regione del vicino infrarosso [6] nello stato secco, umido, dopo trattamenti con ozono. Con entrambi i tipi di legno le misure hanno potuto evidenziare mutamenti nella struttura e composizione chimica proporzionali all'estensione dei trattamenti subiti dai campioni, suggerendo la possibilità di impiego di questa tecnica non distruttiva per il monitoraggio dei processi di stagionatura ed invecchiamento del legno.

Con un approccio simile e maggiormente integrato F. Modugno (Università di Pisa) ha descritto e comparato l'impiego di diverse tecniche di analisi tra cui ^{1}H-, ^{13}C- e ^{31}P-NMR, e pirolisi/GC-MS per la caratterizzazione di lignine estratte da campioni di legno archeologici, delle analisi utili per poter progettare interventi di conservazione e consolidamento dei manufatti. Altre tecniche analitiche descritte in specifiche applicazioni per la caratterizzazione di materiali lignocellulosici sono state la calorimetria differenziale associata all'FT-IR per la caratterizzazione di lignine da gusci di nocciola (C. Peña, Università Politecnica San Sebastian, Spagna), e nuove tecniche di analisi 2D NMR per la determinazione del contenuto di gruppi metossilici nelle lignine (R.P. Wolboldt, Kompetenzzentrum Holz Gmbh, Lenzing, Austria).

Bibliografia

[1] B. Cathala *et al., J. Chromatography A*, 2003, **1020**, 229.
[2] A. Guerra *et al., J. Agric. Food Chem.*, 2006, **54**, 5939.
[3] M. Strlic, J. Kolar, *J. Biochem. Biophis. Meth.*, 2003, **56**, 265.
[4] M. Leite *et al., Acta Biotechnol*. 1995, **15**, 199.
[5] D. Capitani *et al., Macromolecules*, 2001, **34**, 4136.
[6] V. Bauer, *Meas. Sci. Technol.*, 2003, **14**, R91.

ABSTRACT

Italic 4. Wood, one Hundred Years of Structural Studies

Despite the study of lignin structures dates back to 1908, the structure of lignocellulosic materials is to date not clearly understood. Italic 4, devoted a session to the advances in lignocellulosic materials characterisation. It was focused mainly on the identification and characterisation of supramolecular interactions occurring in vegetal biopolymers.