

Revalorización de lignina funcionalizada con potencial aplicación en tratamiento de aguas contaminadas por metales pesados

Correa Villegas Aideé Berenice^{1a}, Huerta Delgado Jaime Juan^{1b}, Monjaraz Ortigoza Sarai Guadalupe^{1c}, Salazar Plascencia Aldo Emmanuel^{1d}, Torres Hernández Ivanna^{1e}, Cano Pedro A.^{1f}

¹Departamento de Ingenierías Civil y Ambiental, División de Ingenierías, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato
ab.correovillegas@ugto.mx ^a, jj.huerta.delgado@ugto.mx ^b, sg.monjarazortigoza@ugto.mx ^c, ae.salazarplascencia@ugto.mx ^d, i.torreshernandez@ugto.mx ^e, pa.cano@ugto.mx ^f.

Resumen

En este trabajo se presenta la optimización de condiciones de reacción para extraer lignina de la biomasa derivada del forraje de maíz. El método descrito se basa en una hidrólisis alcalina mediante ultrasonido para la extracción óptima de la lignina. Esta es un polímero derivado de la biomasa lignocelulósica que actualmente se genera como un subproducto de diversos procesos agroindustriales y se pretende transformarla en un producto de valor agregado con potencial aplicación ambiental en el tratamiento de aguas contaminadas con metales pesados.

Palabras clave: Lignina, biomasa, revalorización, ultrasonido.

Introducción

La biomasa se define como la fracción biodegradable de los productos, desechos o residuos de origen biológico procedentes de actividades agrarias, silvicultura o cualquier actividad antropogénica que esté relacionada a la fracción biodegradable de los residuos municipales e industriales (Rodrigo *et al.*, 2015). En México se considera que una fuente de biomasa es el forraje de maíz pues es el principal residuo relacionado a la agroindustria, generando hasta un 67% del total de residuos derivados de la agricultura nacional. (Hellin *et al.*, 2013) En particular, la zona del bajío en Guanajuato se sitúa dentro de los primeros 10 productores nacionales de maíz, lo que consecuentemente también lo sitúa como un productor de residuos derivados de la agricultura. Aunque una parte del residuo se emplea en el alimento para el ganado de la región, existe una fracción importante que no se procesa, llegando a descomponerse o quemarse *in situ*, generando problemáticas de contaminación de suelos, aguas o de emisiones atmosféricas. En este sentido, una gran parte de la biomasa y sus derivados son considerados como residuos sin valor, una alternativa para disminuir el impacto generado por este residuo es diseñar metodologías novedosas y amigables con el medio ambiente para revalorizar los residuos generados por el campo de la región.



Figura 1: Estructura de la biomasa lignocelulósica (Tomado de Hernández-Beltrán *et al.*, 2019)

Los residuos agroindustriales generalmente están constituidos por biomasa lignocelulósica (*Figura 1*), estructuralmente es un polímero tridimensional compuesto de material sintetizado de forma natural por las plantas, y que a su vez está compuesta de tres polímeros: celulosa, hemicelulosa y lignina. Una característica del material lignocelulósico es que confiere estructura, rigidez y soporte a la pared celular de la planta. Además de su función natural, el ser humano ha desarrollado aplicaciones para la biomasa lignocelulósica, un ejemplo de ello es la producción de energía por combustión directa que se conoce desde la antigüedad. Actualmente ha incrementado el desarrollo de biocombustibles como una alternativa sustentable y eficiente a los combustibles fósiles convencionales, así mismo, la biomasa es empleada en la industria química y para el desarrollo de nuevos materiales con diversas aplicaciones que van desde la industria de la construcción, pasando por la biomedicina hasta aplicaciones de carácter ambiental. Una de las múltiples ventajas de la biomasa residen en su abundancia, disponibilidad y en que es un recurso renovable. (*Hernández-Beltrán et al.*, 2019)

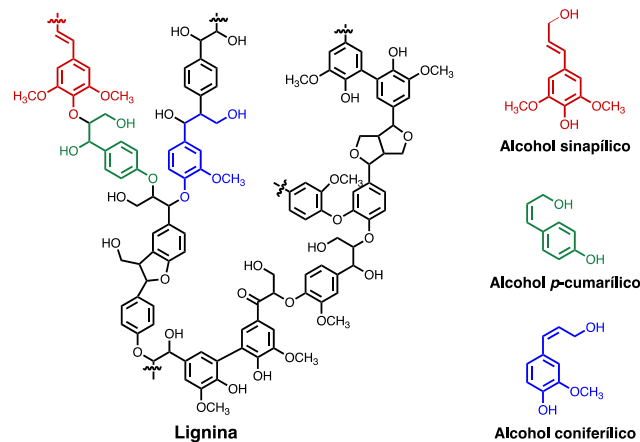


Figura 2: Estructura macromolecular de la lignina y de sus principales monómeros (Tomado de (Karunarathna & Smith, 2020)

La lignina es considerada como uno de los componentes más abundantes en la biomasa lignocelulósica, en su estructura presenta abundantes grupos hidroxilos mediante los cuales actúa como biosorbente en la adsorción de iones de metales pesados. La lignina sin modificar contiene grupos funcionales que muestran tanto baja afinidad como capacidad de adsorción hacia los iones de metales pesados. Esta capacidad de adsorción de iones de metales pesados puede aumentar significativamente después de la modificación de grupo funcional, por lo que mejora notablemente su capacidad para tratar aguas residuales. En este contexto, los tetrazoles son grupos funcionales que se ha reportado presentan una actividad significativa en la quelación de iones metálicos. El objetivo de este proyecto se centra en incorporar anillos de tetrazol en la estructura de la lignina mediante la funcionalización de grupos hidroxilos, teniendo como perspectiva estudiar la capacidad de remoción de iones metálicos pesados en aguas contaminadas.

Objetivo

Determinar las condiciones de reacción para extraer lignina de la biomasa proveniente de los residuos agrícolas de la región.

Metodología

Para desarrollar este proyecto se ha propuesto dividirse en tres fases, la primera de ellas concierne a la extracción de la lignina a partir de residuos de biomasa que se encuentren en la región. En la segunda fase se someterá la lignina extraída a modificaciones de su estructura mediante la funcionalización de los grupos hidroxilo -OH presentes en este polímero hasta la conversión a tetrazoles. La tercera fase involucra los ensayos para determinar la capacidad adsorbente de metales pesados en la lignina funcionalizada con tetrazoles y finalmente, asignarle un valor al residuo de biomasa.

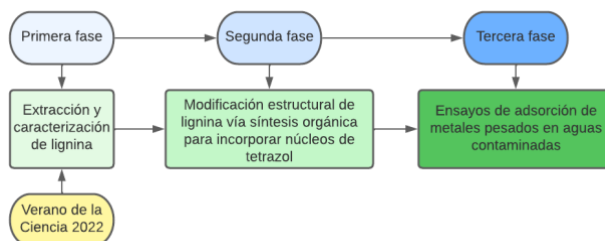


Figura 3: Esquema general del proyecto (Elaboración propia, 2022)

En este Verano de la Ciencia nuestro grupo de trabajo se enfocará en determinar las condiciones óptimas para la extracción de la lignina. De entre las diferentes técnicas empleadas para extraer la lignina de la biomasa se eligió la hidrólisis alcalina, puesto que se ha reportado en la literatura que algunas bases como el peróxido de hidrógeno, el hidróxido de calcio y el hidróxido de sodio pueden emplearse eficientemente en la extracción alcalina de la lignina. (Kumar *et al.*, 2009) Específicamente el NaOH se ha usado en el pretratamiento alcalino, lo cual ayuda a solubilizar y extraer la lignina de la biomasa a través de la ruptura de enlaces en los grupos acetilos en la hemicelulosa y los enlaces de lignina con carbohidratos de ester. Una de las ventajas de emplear estas condiciones alcalinas es que no se afecta significativamente la estructura aromática de la lignina. (da Costa Sousa *et al.*, 2009). Posteriormente se aislará la lignina en la fase acuosa a través de una filtración por gravedad. Una vez aislado el licor negro con la lignina solubilizada, se procederá a la disminución del pH de la solución para hacer insoluble a la lignina y por centrifugación obtener el sólido, se lava y se seca. (González *et al.*, 2007)

Esta metodología se repetirá realizando un barrido de condiciones de reacción según los reportes en la literatura. Las variables para estudiar son: la concentración de la solución de NaOH % m/V, la temperatura y el tiempo de reacción.

Tabla 1. Condiciones de reacción para la extracción de la lignina.

Experimento	NaOH %m/V	T (°C)	Tiempo
1	10 %	25 °C	72 h
2	10 %	40 °C	72 h
3	40 %	25 °C	72 h
4	40 %	40 °C	72 h
5	40 %	40 °C	3 h
6	40 %	25 °C	3 h

Cada uno de los experimentos se llevan a cabo por duplicado teniendo como única diferencia el tamaño de la partícula a la cual se ha molido la muestra de biomasa: 20 mallas y 100 mallas. Las condiciones de reacción descritas en la Tabla 1 se establecieron basando en los reportes de la literatura especializada en la extracción de lignina. (Jiménez Montoya *et al.*, 2011; Lobato-Peralta *et al.*, 2021; Serafín Muñoz *et al.*, 2019)

Resultados

La optimización de resultados se resume en la Tabla 2, de la cual se puede mencionar que se hizo un barrido de condiciones de reacción tomando como parámetro el rendimiento de extracción de lignina en el reporte del 2019, en el cual Serafín-Muñoz *et al* describen que la paja de maíz de la región contiene aproximadamente 11.1 % m/m de lignina.

La paja de maíz se procesó mediante la molienda hasta obtener dos tamaños de partícula: 0.149 mm (100 malla) y 0.841 mm (20 malla). En todos los experimentos duplicados con la variación del tamaño de partícula se obtuvo un rendimiento ligeramente menor con la muestra de biomasa a 100 mallas, por lo que se reportan únicamente los resultados generados con material particulado a 20 mallas debido a que su manipulación en la última parte de la extracción se simplificaba significativamente y el rendimiento mejoró en todos los casos.

6.0 g de biomasa seca y pulverizada se colocaron en un matraz balón, se adicionaron 100 mL de agua y mediante agitación mecánica se hidrató la biomasa durante 30 min a temperatura ambiente. En el experimento 1 tomando las condiciones clásicas reportadas en el método alcalino: NaOH 10% m/V, a temperatura ambiente durante 72 h de reacción se obtuvieron trazas de lignina, esta se identificó por cromatografía en capa fina. Para el experimento 2, la modificación fue en la temperatura del medio de reacción, produciendo ≈ 180 mg de lignina ($\approx 3\%$) extraída. En el experimento 3 se aumentó la concentración de la solución alcalina al 40 % m/V de NaOH, pero manteniendo la temperatura ambiente con un rendimiento similar al anterior obteniendo un rendimiento similar al experimento 2. Cuando se empleó una solución de NaOH 40% m/V a 60 °C durante 72 h se obtuvo el mayor rendimiento de extracción de lignina mediante agitación mecánica. Para complementar la serie de experimentos se desarrollaron los experimentos 5 y 6 disminuyendo el tiempo de reacción y en un caso con temperatura ambiente, para ambos casos se obtuvieron resultados similares al inicio de la optimización

Tabla 2. Optimización de condiciones de reacción para la extracción de lignina.

Experimento	NaOH %m/V	T (°C)	Tiempo	Rendimiento (%)
1	10 %	25 °C	72 h	trazas
2	10 %	60 °C	72 h	3%
3	40 %	25 °C	72 h	4%
4	40 %	60 °C	72 h	8%
5	40 %	60 °C	3 h	4%
6	40 %	25 °C	3 h	3%

*Contenido reportado de lignina en paja de maíz = 11.1 % m/m (Serafín-Muñoz, 2019)

El porcentaje de lignina extraída de la paja de maíz mediante el experimento 4 de la *Tabla 2* fue el mayor de la serie, por lo cual se considera las que son las condiciones óptimas para este proceso vía agitación mecánica y calentamiento por convección.

Como parte del reciente enfoque en el grupo de investigación, con perspectiva en la creación de metodologías verdes y amigables con el medio ambiente basadas en las reacciones con diversas formas en irradiación de energía, se modificó la metodología presentada en el párrafo anterior para la extracción de lignina mediante las condiciones del experimento 3 con la variante del uso de la irradiación de ultrasonido sustituyendo a la agitación mecánica. La irradiación del ultrasonido se ha utilizado para acelerar diversos tipos reacciones químicas, fundamentándose en el efecto de cavitación ocasionado por el ultrasonido provocando aumento en la solubilidad, difusión y el transporte de masa, el cual puede decrecer con respecto del tiempo de reacción, minimizando la formación de productos secundarios de reacción.

El experimento 7 tuvo como variante respecto del experimento 4 la fuente de energía sustituyendo la agitación mecánica por la erradicación con ultrasonido a 40 KHz por cinco ciclos de 5 min c/u, mientras que se mantuvo la temperatura a 60 °C. Esta variación condujo a que el experimento 7 tuviera un rendimiento aproximado a 630 mg de lignina extraída ($\approx 10.5\%$).

Finalmente, se realizó el experimento 8 con solución de NaOH 40% m/V, a temperatura ambiente, bajo la irradiación de ultrasonido a 40KHz en cinco ciclos de 5 minutos c/u a temperatura ambiente, obteniendo una masa de lignina de 0.66 g con rendimiento del 11% respecto del material lignocelulósico inicial. Cabe resaltar que el 11% de extracción de lignina bajo ultrasonido es comparable al rendimiento reportado por Serafín-Muñoz en el 2019, con una disminución en el tiempo de reacción y desarrollado a temperatura ambiente.

Tabla 3. Condiciones de reacción para la extracción de lignina mediante irradiación por ultrasonido.

Experimento	Fuente de energía	NaOH %m/V	T (°C)	Tiempo	Rendimiento (%)
3	Agitación mecánica/ T.A.	40 %	25 °C	72 h	4 %
4	Agitación mecánica/ calentamiento por convección	40 %	60 °C	72 h	8%
7	Ultrasonido / calentamiento por convección	40 %	60 °C	25 min	11 %
8	Ultrasonido / T.A.	40 %	25 °C	25 min	11 %

*Contenido reportado de lignina en paja de maíz = 11.1 % m/m (Serafín-Muñoz, 2019)

Ultrasonido: 40 KHz, 5 ciclos de 5 min, c/u, 25 °C

Esquema general de la hidrólisis alcalina para extracción de lignina

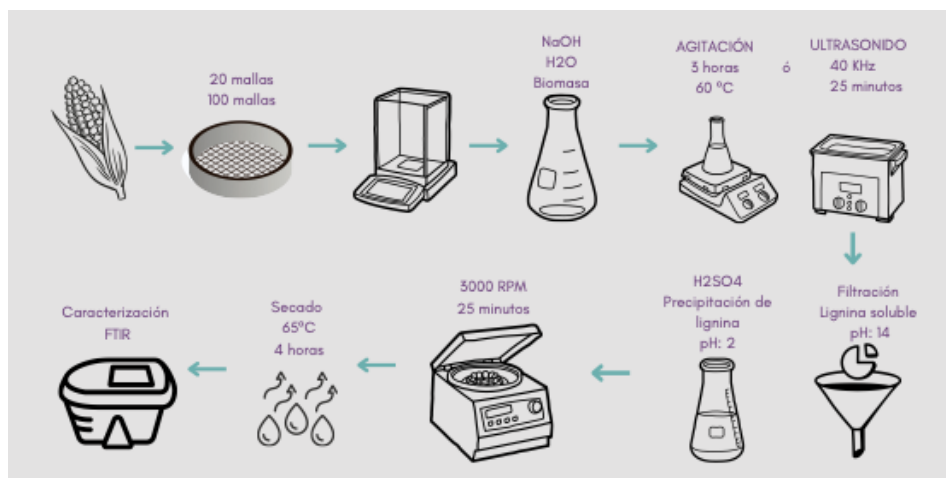


Figura 4: Esquema de la metodología para extracción de alcalina proveniente del forraje de maíz. (Tomado de Monjarraz-Ortigoza, 2022)

Caracterización

La lignina extraída se caracterizó por espectroscopía de infrarrojo en un equipo Perkin Elmer Spectrum Two (UATR) empleando el dispositivo de reflexión total atenuada (ATR). El tratamiento del espectro IR se realizó con el software eFTIR®. Es relevante mencionar que la estructura de la lignina varía notoriamente en los diferentes residuos agrícolas de biomasa, específicamente en la Figura 1 se observan señales 3400-3100 cm^{-1} que probablemente indiquen la presencia de agua, pero que también se pueden atribuir al estiramiento del enlace O-H de grupos hidroxilo. En la zona de 2980-2800 cm^{-1} las bandas corresponden a vibraciones de estiramiento C-H, la banda intensa en 1560 cm^{-1} se atribuye a estiramientos en el anillo aromático de la lignina. Las bandas presentes en la zona cercana a 1000 cm^{-1} podrían relacionarse a las vibraciones del anillo que se traslapan con vibraciones de estiramiento de grupos C-OH y de éteres C-O-C.

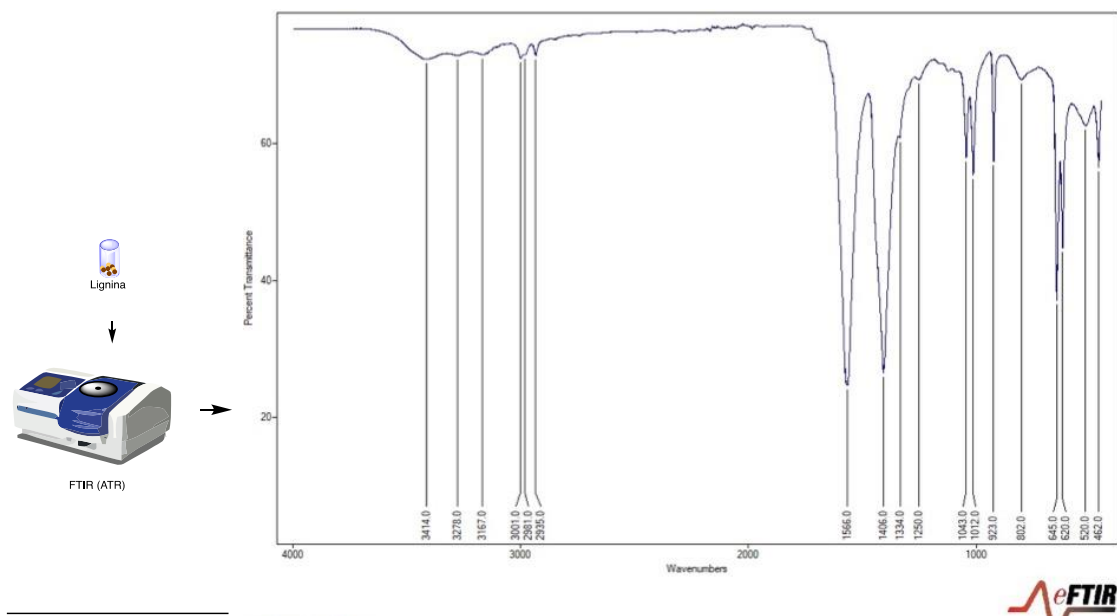


Figura 5: Espectro infrarrojo de transformada de Fourier de reflectancia total atenuada (ATR-FTIR) de lignina extraída del forraje de maíz (Elaboración propia mediante eFTIR, 2022)

Perspectivas

Una vez que se han optimizado las condiciones para la extracción de la lignina se pretende dar continuidad a este proyecto mediante la aplicación de síntesis orgánica que permita modificar la estructura de la lignina incorporando anillos de tetrazol a través de los grupos OH y, posteriormente determinar cuantitativamente la capacidad del material para adsorber metales pesados presentes en aguas contaminadas de presas de la región.

Conclusión

Se determinaron las condiciones óptimas para la extracción de la lignina proveniente del forraje de maíz. Estas condiciones involucran el uso de ultrasonido para acelerar la reacción y la solubilización de la lignina en la fase acuosa. El rendimiento obtenido es coherente con lo reportado anteriormente en la literatura, pero con la ventaja de llevar la reacción a temperatura ambiente y disminuir los tiempos de reacción para completar el proceso.

Agradecimientos

Agradecemos el invaluable apoyo otorgado por el Dr. Gilberto Carreño Aguilera, Director de la División de Ingenierías, así como también agradecemos al Dr. Saúl Villalobos Pérez (Director del Departamento de Ingenierías Civil y Ambiental) por la confianza en este proyecto y en nuestro equipo de trabajo. Un especial agradecimiento a la Dra. Alma Hortensia Serafin Muñoz por las nutritivas discusiones y aportaciones sobre este proyecto. Al Dr. Gustavo Cruz Jiménez por las facilidades otorgadas en la espectroscopía de infrarrojo. Agradecemos a la Dirección de Apoyo a la Investigación y al Posgrado por el apoyo económico y por la oportunidad brindada para desarrollar la estancia de Verano de la Ciencia.

Referencias

- da Costa Sousa, L., Chundawat, S. P., Balan, V., & Dale, B. E. (2009). "Cradle-to-grave" assessment of existing lignocellulose pretreatment technologies. In *Current Opinion in Biotechnology* (Vol. 20, Issue 3, pp. 339–347). <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2009.05.003>
- González, A. M., Herrera, J. P., & Rodríguez M., A. (2007). Caracterización de fracciones de lignina extraídas del licor negro con solventes orgánicos. *Revista Forestal Latinoamericana*, 42, 51–64. <https://go.gale.com/ps/i.do?id=GALE%7CA211176276&sid=googleScholar&v=2.1&it=r&linkaccess=abs&issn=07982437&p=AONE&sw=w&userGroupName=anon%7Ee5028421>
- Hellin, J., Erenstein, O., Beuchelt, T., Camacho, C., & Flores, D. (2013). Maize stover use and sustainable crop production in mixed crop-livestock systems in Mexico. *Field Crops Research*, 153, 12–21. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.05.014>
- Hernández-Beltrán, J. U., Hernández-De Lira, I. O., Cruz-Santos, M. M., Saucedo-Luevanos, A., Hernández-Terán, F., & Balagurusamy, N. (2019). Insight into pretreatment methods of lignocellulosic biomass to increase biogas yield: Current state, challenges, and opportunities. In *Applied Sciences (Switzerland)* (Vol. 9, Issue 18). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/app9183721>
- Jiménez Montoya, J. A., Gordillo Díaz, B., & Vega Atuesta, M. A. (2011). Modificación estructural de la lignina extraída a partir de carbones de bajo rango para la obtención de madera sintética. *Tecnura*, 15(28), 68–82.
- Karunarathna, M. S., & Smith, R. C. (2020). Valorization of lignin as a sustainable component of structural materials and composites: Advances from 2011 to 2019. In *Sustainability (Switzerland)* (Vol. 12, Issue 2). MDPI. <https://doi.org/10.3390/su12020734>
- Kumar, P., Barrett, D. M., Delwiche, M. J., & Stroeve, P. (2009). Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. In *Industrial and Engineering Chemistry Research* (Vol. 48, Issue 8, pp. 3713–3729). <https://doi.org/10.1021/ie801542g>
- Lobato-Peralta, D. R., Duque-Brito, E., Villafán-Vidales, H. I., Longoria, A., Sebastian, P. J., Cuentas-Gallegos, A. K., Arancibia-Bulnes, C. A., & Okoye, P. U. (2021). A review on trends in lignin extraction and valorization of lignocellulosic biomass for energy applications. *Journal of Cleaner Production*, 293, 1–24. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126123>

Rodrigo, J., González, Q., & Ambiental, I. (2015). *Biomasa: métodos de producción, potencial energético y medio ambiente Biomass: production methods, energy potential and environment* LAURA ESTEFANÍA QUINTERO GONZÁLEZ (Issue 2).

Serafín Muñoz, A. H., Molina Guerrero, C. E., Gutierrez Ortega, N. L., Leal Vaca, J. C., Alvarez Vargas, A., & Cano Canchola, C. (2019). Characterization and Integrated Process of Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of Corn Straw. *Waste and Biomass Valorization*, 10(7), 1857–1871. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0218-9>