

# Aprovechamiento de *Eichhornia crassipes* (lirio acuático) proveniente de la zona de Yuriria, Guanajuato, como fuente de Lignina, Celulosa y Hemicelulosa

José A. Hernández<sup>1,\*</sup>, Alejandro Torres-García<sup>1</sup>, Flor B. Conejo-Moreno<sup>1</sup>, Alexia S. Oliva-González<sup>1</sup>, Alba N. Ardila A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería – Guanajuato (IPN), Departamento de Formación integral e Institucional. Av. Mineral de Valencia, N° 200, Col. Fracc. Industrial Puerto Interior, Silao de la Victoria, Guanajuato, México C. P. 36275.

<sup>2</sup> Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid. Cra. 48, No.7-151, Medellín-Colombia

## Resumen

*Eichhornia crassipes* mejor conocida como lirio acuático representa un problema ambiental debido a su excesivo crecimiento, provocando la contaminación en ríos, lagos y lagunas. Debido a los altos costos que representa retirar el lirio de estos ecosistemas, se ha considerado desarrollar tecnologías para su manejo y aprovechamiento, para la obtención de compuestos que se puedan utilizar en las diferentes industrias. Entre estos procesos sobre sale la extracción de lignina. Este compuesto es un polímero de naturaleza aromática con alto peso molecular que tiene como base estructural unidades de fenil-propano, por lo cual se puede obtener una gran variedad de compuestos como son: ácido benzoico, p-cumárico, vainillina, entre otros. En este trabajo se muestra la extracción, cuantificación y caracterización de lignina, celulosa y hemicelulosa mediante un tratamiento en base a ácidos y solventes orgánicos optimizado para tener buenos rendimientos y un impacto hacia al ambiente menor que los actuales procesos.

## Abstract

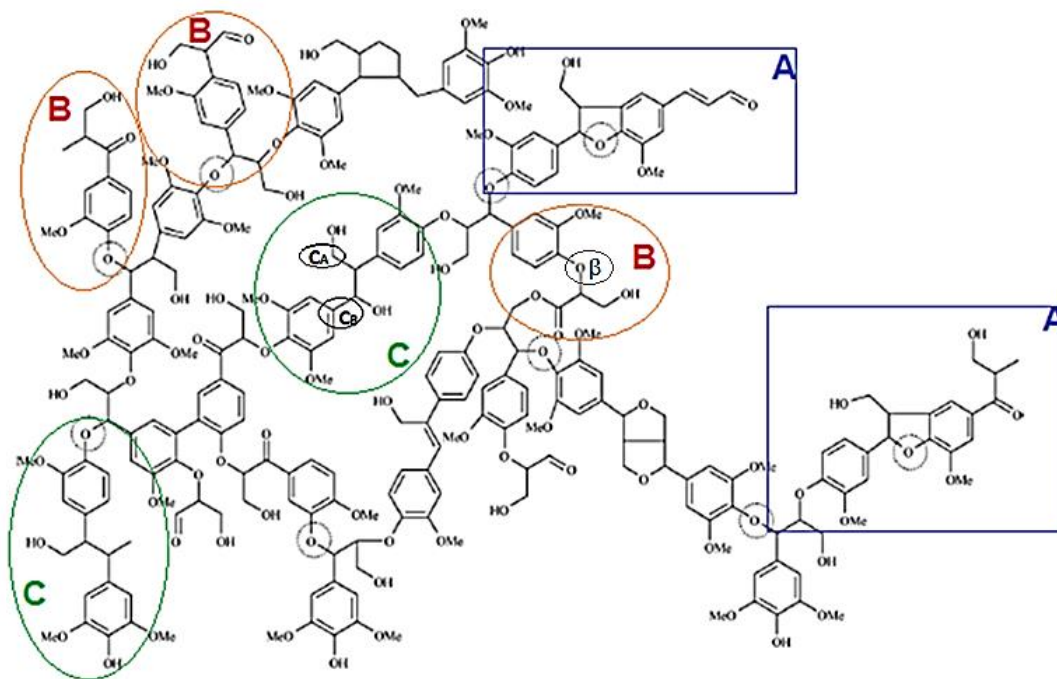
*Eichhornia crassipes* better known as aquatic lily, represents an environmental problem, because it excessive grown, causing pollution in rivers, lakes and lagoons. Due to high costs that represents remove the lily from this ecosystem, it has been considered to develop technologies for it handling and use, for obtaining compounds that can be used in different Industries. One of these processes is the extraction of lignin. This compound is a polymer of aromatic nature with high molecular weight; it has as structure base phenyl propane, which it can get a great variety of compounds as are: benzoic acid, p-coumaric acid, vanillin, among others. In this work, it is shown the extraction, quantification and characterization of lignin, cellulose and hemicellulose shown by treatment based on acids and organic solvents optimized to have good yields and less impact to the environment than current processes.

**Palabras claves:** Lignina, Celulosa, Hemicelulosa, rendimiento.

## 1. INTRODUCCIÓN

El lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) originario de Brasil, fue introducido por el hombre a Norteamérica y al resto de los continentes, lo que ha extendido su distribución ampliamente en los últimos cien años. En la actualidad esta planta es considerada como una de las principales malezas acuáticas del mundo (Gopal *et al.*, 1987; Jeododibrotto *et al.*, 193; Mier *et al.*, 1982; Pepijn *et al.*, 2010, Carrión *et al.*, 2012), lo que provoca que los almacenamientos de agua también presentan problemas importantes de calidad, teniendo a la presa Allende y la Purísima con altas concentraciones de fierro y nitrógeno amoniacal, además de coliformes totales y fecales. La laguna de Yuriria presenta un 51% de maleza enraizada y sumergida, 41% de tule y un 8% de lirio acuático (Contreras *et al.*, 2007). Dentro de los problemas ecológicos que se han presentado por la acumulación de grandes cantidades de lirio es que el estancamiento de agua disminuyendo el oxígeno

disuelto y por consiguiente la muerte de las especies acuáticas (Barret *et al.*, 1989). Dentro de los problemas de salud, el lirio constituye el hábitat para el desarrollo de organismos vectores de enfermedades como la filariosis, helmintiasis, dengue, encefalitis, paludismo y fiebre amarilla, entre otras (March-Mifsut *et al.*, 2007). Debido a todos estos problemas se han desarrollado diversas técnicas de recolección del lirio acuático (Mier *et al.*, 1982), aunque se ha empleado métodos para el aprovechamiento y reutilización del lirio acuático recientemente. En los últimos años se ha puesto especial atención en la conversión de residuos celulósicos para obtener productos de valor agregado, tales como la celulosa, hemicelulosa y lignina (Holocelulosa). La pared celular de las plantas consiste de polisacáridos de celulosa, hemicelulosa (que son polímeros de glucosa unidos por enlaces  $\beta$ -1,4) y lignina. La celulosa y hemicelulosa presentes en los cultivos y cosecha plantas tiene una producción anual mundial de 7.2 y  $6.0 \times 10^{10}$  toneladas, respectivamente. Esto representa un vasto reservorio de fuente de carbono renovable que puede ser usado para la producción de biocombustibles que reemplacen productos derivados de fuentes de carbono fósiles (Zhang *et al.*, 2014). La celulosa y hemicelulosa se pueden degradar por métodos químicos-físicos y enzimáticos (Kumar *et al.*, 2009; Kubicek *et al.*, 2013). Después de la celulosa, la sustancia orgánica más abundante en las plantas es la lignina, un polímero altamente ramificado de los grupos fenilpropanoides que desempeña funciones tanto primarias como secundarias. No se conoce la estructura precisa de la lignina debido a la dificultad de extraerla de las plantas (Figura 1), ya que se encuentra covalentemente unida a la celulosa y otros polisacáridos de la pared celular (Taiz *et al.*, 2006; García *et al.*, 2003).



**Figura 1.** Estructura general del polímero natural lignina proveniente del material vegetal Haya. (Collinson *et al.*, 2010).

Los diferentes monómeros que forman parte del copolímero lignina se marcan en la como A, B y C. Estas unidades se enlazan de forma aleatoria, lo que genera una falta de uniformidad en la estructura de la lignina, (Blasco *et al.*, 1998). Como consecuencia de la estructura, se puede observar una variación de los contenidos de lignina en la pared vegetal de todas las plantas vasculares (paja, rastrojo y bagazo), maderas duras y maderas suaves donde es encontrada como componente (Collinson *et al.*, 2010). La lignina puede presentar diferentes características debido a su proceso de extracción, entre las cuales destacan la *lignina de sulfito*, *lignina alcalina (kraft)* y *lignina comercial*. Además, los procesos de extracción que se han utilizado, empleando

diferentes solventes tales como tolueno, etanol, ácido acético y sulfúrico entre otros y a diferentes temperaturas de operación (Rojas *et al.*, 2004; Gavioli *et al.*, 2003; González *et al.*, 2007). Asimismo, la lignina ha sido utilizada para la fabricación de varios polímeros, plásticos, fibras biodegradables (Zhang *et al.*, 2014; Chatel *et al.*, 2014; Bai *et al.*, 2014), además de la obtención de diversos compuestos debido al rompimiento de la molécula por vía catalítica y enzimática. Por lo cual este trabajo se estudia la obtención y extracción de lignina, celulosa y hemicelulosa de la planta lirio acuático, a partir del método físico-químico y su posible implementación para aprovechar este residuo agroindustrial y reducir la contaminación de los ríos donde se encuentre presente esta planta.

## 2. EXPERIMENTACIÓN

### 2.1 Preparación y tratamiento del lirio acuático

El lirio acuático fue lavado con agua desionizada y separado en tallo y hoja para que ser secado en una estufa a 60 °C (SHEL LAB CE5F), para su posterior trituración. Después, se pesó la muestra seca y se coloca en un frasco previamente esterilizado, en el cual se le adicionó una solución de solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Fermont) al 1.5%v/v, hasta tener una relación de 5 g de muestra seca/115 mL de solución, subsecuentemente se agitó a 150 rpm y a 30 °C por 24 h en un Shaker (ZHCHENG 200D). Posteriormente, la solución se sometió a 118 ° y 15 lbs por 30 min en una autoclave (FELISA F3301). Después del tratamiento térmico la muestra se filtró para recuperar el líquido y el sólido fue secado en una estufa a 60 °C, hasta alcanzar peso constante (Monroy *et al.*, 1982).

### 2.2 Método de obtención de holocelulosa (lignina, celulosa y hemicelulosa) a partir del método del peróxido alcalino.

Se tomó la muestra sólida obtenida del tratamiento térmico para adicionarle una solución e peróxido alcalino, la cual se obtiene de a partir de la mezcla de NaOH al 2.25% v/v (Fermont) y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 0.75% v/v (Fermont) en una relación 1 g de muestra/15 mL de peróxido alcalino, posteriormente se agitó a 150 rpm a 55 °C en un Shaker (ZHCHENG 200D) durante una hora para posteriormente ser filtrado y secado el sólido a 60 °C hasta alcanzar un peso constante. Después el filtrado recuperado se acidifica con una solución de Ácido Acético (J. T. Baker) al 50% (v/v) hasta lograr un pH entre 4 y 5, manteniendo en agitación vigorosa a temperatura ambiente hasta que se estabilice el precipitado que se forma (lignina alcalina). Posteriormente la solución fue centrifugada (HERMLE Z383K) a 3800 rpm, para separar el sobrenadante del sólido y ponerlo a secar a 60 °C hasta que se logró un peso constante. El sobrenadante recuperado se vierte gota a gota sobre alcohol etílico absoluto (FERMONT 99.99%) en una proporción de volumen 2:1, manteniendo en agitación vigorosa hasta que se estabilice el precipitado que se forma (Hemicelulosa B). A continuación se centrifugo la disolución a 3800 rpm a temperatura ambiente, para lograr separar el sólido de la solución y ponerlo a secar a 60 °C hasta peso constante (Ramírez-Coronel *et al.*, 2011; Lan *et al.*, 2011).

### 2.3 Cuantificación de lignina, celulosa y hemicelulosa.

La cuantificación de Lignina se llevó a cabo empleando una curva de calibración que cumpla con la Ley de Lambert-Beer, usando un espectrofotómetro (JENWAY 6705KM) a una longitud de onda de 280 nm (Lin *et al.*, 1982).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la determinación en masa de Holocelulosa se realizaron adecuaciones al método lo cual ayudo a mejorar el rendimiento para la obtención de sus componentes principales (lignina, celulosa, hemicelulosa). En la Figura 2, se muestra la curva de calibración obtenida para la cuantificación de la lignina, debido a que la absorbancia del tallo y la hoja no entraban en el intervalo de la curva de calibración se tuvo que recurrir a un factor de dilución ( $7.7 \cdot 10^{-3}$ ). En la tabla 1 se muestran los valores obtenidos. Se puede observar que se tiene mayor concentración de lignina en la hoja (33%) en comparación con el tallo del lirio. Esto se debe a que el tallo tiene altas cantidades de fibra que esencialmente es hemicelulosa, celulosa y una pequeña porción de lignina, en cambio en la hoja se tiene poca fibra, lo cual concuerda con nuestro resultado.

**Tabla 1.** Concentración de lignina presente en el lirio acuático.

Tipo de muestra (explante)	Absorbancia (280 nm)	Concentración de lignina, (mg/mL)
Tallo	0.667	4.75
Hoja	0.89	6.34

En las determinaciones para contenido de hemicelulosa y lignina en el tallo y hoja a través de la técnica de peso seco (Lan et al., 2011), además, se utilizó la ecuación 1, para determinar el rendimiento de ambos compuestos en el lirio acuático, lo que permite obtener los siguientes resultados que se muestran en la tabla 2.

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{\text{Producto Real}}{\text{Producto Teórico}} \times 100 \quad (1)$$

Se pudo observar que el rendimiento entre la lignina y hemicelulosa es prácticamente el mismo, aunque con el tratamiento de peróxido alcalino (Lan et al., 201) favorece en mayor medida la extracción de lignina del lirio acuático.

**Tabla 2.** Rendimiento obtenido de Hemicelulosa y lignina en el lirio acuático.

Compuesto	Tallo, g	Rendimiento, %	Hoja, g	Rendimiento, %
Lignina	0.66	8.83	0.71	11.44
Hemicelulosa	1.65	10.16	1.45	9.21

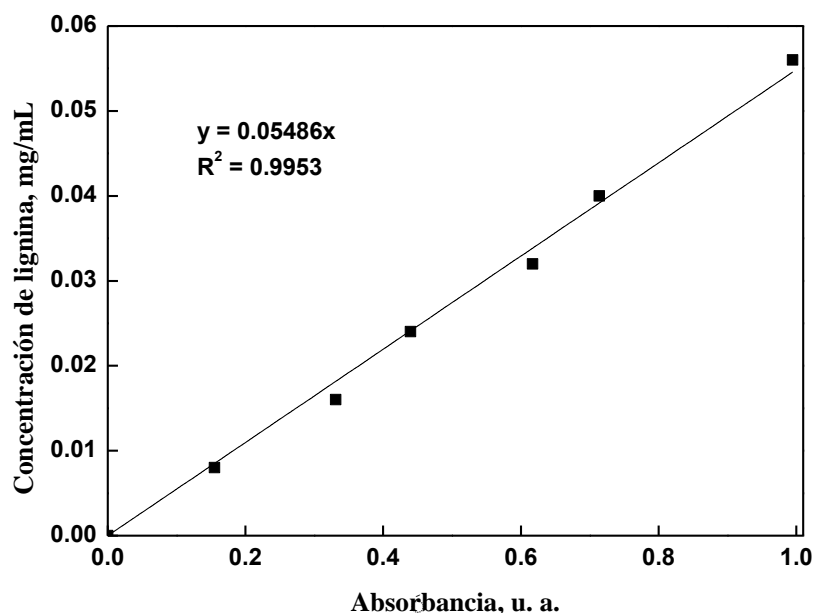


Figura 2. Curva de calibración de lignina.

Para conocer si este proceso puede ser considerado para su futura implementación, se compararon estos trabajos que utilizaron el mismo método de extracción pero con una fuente natural distinta al lirio acuático, esto se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 3. Comparación de los rendimientos de lignina y hemicelulosa obtenidos de diversas fuentes naturales

Referencia	Fuente de extracción	%Rendimiento de lignina	%Rendimiento de Hemicelulosa
Sun et al., 2002	Paja de Cebada	14.7	27.36
Selig et al., 2008	Rastrojo de Maíz	11.1	34.41
Lan et al., 2011	Bagazo de caña	10.51	38.97
En este trabajo	Lirio Acuático	20.27	19.37

En la Tabla 3, se muestra que el rendimiento de la **hemicelulosa “pobre” en comparación** con las otras fuentes naturales, por lo cual inferimos que el método de extracción no es el adecuado para obtener hemicelulosa a partir de lirio acuático. Sin embargo, la lignina obtenida de esta planta con el método de peróxido alcalino es superior en un 36% en comparación a la paja de cebada, 83.3% superior al rastrojo de maíz y un 9.9% superior al bagazo de caña, por lo cual es una buena opción para obtener compuestos alifáticos de alto valor agregado, tales como ácido ferúlico, p-cumárico, vainillina, etc.

#### 4. Conclusión

En este trabajo se encontró que utilizando el lirio acuático como fuente de lignina es una alternativa para su uso en la obtención de compuestos que son utilizados a nivel industrial, ya que el rendimiento obtenido para la lignina resulto mayor que las demás fuentes naturales usando el método de peróxido alcalino sino este más selectivo para la lignina que la hemicelulosa presente en el lirio acuático, además, de solventar el problema ambiente que provoca su presencia en los lagos y lagunas.

#### Agradecimientos

Los autores desean agradecer a la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Guanajuato (UPIIG-IPN) por la infraestructura prestada, así como a la Secretaria de Investigación y Posgrado (SIP 20141238) por el financiamiento otorgado para este trabajo.

#### REFERENCIAS

- Aguilar-Rojas, M. (2004). "Extracción de lignina proveniente de residuos agroindustriales para su empleo en procesos de gasificación". Tesis de Licenciatura en Ingeniería Química, Universidad Autónoma Metropolitana, México
- Bai X., Kim K. H. Brown R. C., Dalluge E., Hutchinson C., Lee Y. J., Dalluge D. 2014. "Formation of phenolic oligomers during fast pyrolysis of lignin". Fuel, 128, 170-179.
- Blasco, L., 1998. Capítulo IV: "Transformaciones de la materia orgánica; Lignina y otros compuestos orgánicos". En Curso de Microbiología de suelos, 6:110-114.
- Carrión C., Ponce de Leon C., Cram S., Sommer I., Hernández M., Vanegas C. 2012. "Aprovechamiento Potencial de Lirio Acuático (Eichhornia Crassipes) en Xochimilco para Fitorremediación de Metales". Agrocencias 46 (6), 609-620
- Chatel G. Rogers R. D. 2014 "Review: Oxidation of Lignin Using Ionic Liquids-An Innovative Strategy To Produce Renewable Chemicals". ACS Sustainable Chem. Eng., 2, 322-339.
- Collinson, S.R., Thielemans, W., 2010. The catalytic oxidation of biomass to new materials focusing on starch, cellulose and lignin. Coordination Chemistry Reviews 254, 1854-1870.
- Contreras-Soto R., 2007. "Informe sobre necesidades sociales en Guanajuato", pp. 180.
- García-Esteban L., Guindeo-Casasus A., Peraza Oramas C. (2003). "La madera y su anatomía: anomalías y defectos, estructura microscópica de coníferas y frondosas, identificación de maderas, descripción de especies y pared celular". Ed. Mundi-Prensa, Pp. 319. Madrid, España.
- Gavioli N., Kober E., Castro M., Plaza G., Salmoral E. M. 2003. "Caracterización físico química de celulosa de Vitis vinífera". Tesis de Licenciatura en Ingeniería Química de la universidad de Buenos Aires, Argentina.
- González A. M., Herrera J. P., Rodríguez M. A. 2007. "Caracterización de fracciones de lignina extraídas del licor negro con solventes orgánicos". Rev. For. Lat., 42, 51-64.
- Gopal B. 1987. "Water hyacinth Aquatic Plant". Studies 1, Elsevier Science, Amsterdam, Holanda.
- Joedodibroto R., Widyanto L.S., Soerjani M. 1983. "Potential Uses of Some Aquatic Weeds as Paper Pulp. Cellulose Research Institute and Tropical Pest Biology Program". Bogor, Indonesia.
- Kubicek Christian P. 2013. "Systems biological approaches towards understanding cellulase production by Trichoderma reesei". Journal of Biotechnology, 163, 133- 142.

Kumar P., Barrett D. M., Delwiche M. J. and Stroeve P. 2009. "Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production". *Ind. Eng. Chem. Res.* 48, 3713–3729.

Lan W., Liu C. F., Sun R. C. 2011. "Fractionation of Bagasse into Cellulose, Hemicelluloses, and Lignin with Ionic Liquid Treatment Followed by Alkaline Extraction". *College of Material Science and Technology.*

Lin. S.Y, Dence .C.W. 1992. *Methods in lignin chemistry (Eds), Springer-Verlag, New work.*

March-Mifsut I. J., Jiménez M. M. 2007. "Especies invasoras de alto impacto a la biodiversidad: Prioridades en México". *IMTA-Conabio-GECIAridAmérica-The Nature Conservancy. México.* p. 22

Mier-Soldazano A. I. 1982. "Extracción de la proteína foliar del lirio acuático". *Universidad Autónoma de Iztapalapa. Ingeniería Bioquímica Industrial.*

Monroy, E. F. 1982. *Informe al CONACYT del proyecto: transformación fermentativa del lirio acuático en concentrado proteico. México.*

Pepijn P. 2010. "Composición química de diversos materiales lignocelulósicos de interés industrial y análisis estructural de sus ligninas". *Memoria del proyecto desarrollado durante el período de investigación del Master en "Estudios Avanzados en Química". Sevilla.*

Ramírez-Coronel A. 2011. "Aislamiento de la hemicelulosa del lirio acuático en polvo". *Proyecto Liriasa FONCICYT, UAM, México.*

Selig M. J., Vinzant T. B., Himmel M. E., Decker S. R. 2008. "The Effect of Lignin Removal by Alkaline Peroxide Pretreatment on the Susceptibility of Corn Stover to Purified Cellulolytic and Xylanolytic Enzymes", *Humana Press 2009.*

Sun R.C., Sun X.F. 2002. "Fractional and structural characterization of hemicelluloses isolated by alkali and alkaline peroxide from barley straw". *Carbo. Polym.,* 49, 415–423.

Taiz L., Zeiger E. 2006. "Fisiología vegetal", volumen 1, *Universitat Jaume. I,* p. 59.

Zhang W., Chen J., Liu R., Wang S., Chen L., Li K. 2014. "Hydrodeoxygenation of Lignin-Derived Phenolic Monomers and Dimers to Alkane Fuels over Bifunctional Zeolite-Supported Metal". *ACS Sustainable Chem. Eng.,* 2, 683-691.

Zhang J., Chen Y., Brook M., A. 2014. "Reductive Degradation of Lignin and Model Compounds by Hydrosilanes". *ACS Sustainable Chem. Eng.,* 2, 1983-1991.

\* Correo autor: [jahernandezma@ipn.mx](mailto:jahernandezma@ipn.mx)