



Validación del método de cuantificación de lignina en biomasa de pino

Validation of the lignin quantification method in pine biomass

Lenin Márquez^a | Paola Cuji^b | Carlos Méndez^c | Diego Flores^d

^a iD Universidad Central del Ecuador, Ecuador

^b iD Instituto de Investigación Geológico y Energético, Ecuador

^c iD Instituto de Investigación Geológico y Energético, Ecuador

^d iD Universidad Central del Ecuador, Ecuador

HISTORIAL DEL ARTÍCULO

Recepción: 13/08/2021

Aceptación: 21/12/2021

PALABRAS CLAVE

Lignina, biomasa de pino, NREL/TP-510-42618, espectroscopía UV-Vis, validación de método.

ARTICLE HISTORY

Received: 13/08/2021

Accepted: 21/12/2021

KEY WORDS

Lignin, pine biomass, NREL/TP-510-42618, UV-Vis spectroscopy, method validation.

RESUMEN

La lignina es uno de los compuestos más abundantes en el mundo vegetal enfocada a ser el reemplazo del petróleo en diversas aplicaciones. La presente investigación consistió en la validación del método «Determinación de lignina en biomasa» basada en la metodología NREL/TP-510-42618 del Laboratorio Nacional de Energías Renovables de Estados Unidos, aplicada a biomasa de pino. Mediante previa cuantificación de humedad y ensayo de extractivos en agua y etanol para la eliminación de los materiales interferentes, la lignina se cuantificó aplicando las técnicas de gravimetría y espectroscopía UV-Vis a una longitud de onda de 240 nm, obteniendo el contenido de lignina soluble e insoluble. A partir de los resultados del contenido de lignina, se evidenció la influencia de las condiciones ambientales en cada nivel de ensayo, sin embargo, esta influencia no ocasionó una desviación significativa al compararla con la ecuación de Horwitz. Concluyendo así que las condiciones escogidas y establecidas de experimentación del rango sugerido por la metodología NREL, permiten un correcto desempeño del método aplicado a biomasa de pino, permitiendo ser replicada a futuro en diferentes investigaciones en el país.

ABSTRACT

Lignin is one of the most abundant compounds in the plant world, focused on being a replacement for oil in various applications. This research consists of the validation of the method «Determination of lignin in biomass» based on the NREL/TP-510-42618 methodology of the United States National Renewable Energy Laboratory, applied to pine biomass. By prior moisture quantification and testing of extractives in water and ethanol to eliminate interfering materials, lignin was quantified applying gravimetry and UV-Vis spectroscopy techniques at a wavelength of 240 nm, obtaining the soluble lignin content and insoluble. From the results of the lignin content, the influence of the environmental conditions at each test level is evidenced, however, this influence did not cause a significant deviation when compared with the Horwitz equation. Thus, concluding that the chosen and established experimentation conditions of the range suggested by the NREL methodology allow a correct performance of the method applied to pine biomass, allowing it to be replicated in the future in different investigations in the country.

INTRODUCCIÓN

La lignina es un polímero fenólico, amorfo y tridimensional del mundo vegetal, compuesto por anillos aromáticos en su estructura, responsable de la unión de las fibras de celulosa, capaz de impedir el flujo de agua a través de las capas de la planta, estableciendo una resistencia al ataque de microorganismos (Palacios, 2016).

La lignina corresponde a un material renovable que se encuentra en la mayor parte de la naturaleza, cambiando su composición en función del tipo de planta, además tiene diferente aplicación si se cuantifica la lignina en el tallo, las hojas o cáscaras del fruto. La lignina en las hojas sirve como indicador para determinar la nutrición foliar, es decir, para suministrar la cantidad idónea

de nutrientes para el desarrollo y mantenimiento de la planta, o a su vez, modificar el grado de descomposición, siendo el eje fundamental para aumentar la productividad (Eddine, 2006).

Mediante la extracción de la lignina existe una amplia gama aplicativa: al calentarla a altas temperaturas mediante un proceso de pirólisis catalizada se transforma en carbón activado, útil para el tratamiento de aguas residuales (Cordero, *et al.*, 2007).

Por su propiedad de cohesión aumenta la adhesión de la estructura del betún, aumentando la rigidez más de dos veces superior al de una mezcla convencional (Ren, *et al.*, 2021). Extraída de biomasa procedente de residuos de café o bagazo de caña de azúcar, y adicionada en un 0,3% para la elaboración de plastificantes aumenta la resistencia a la compresión del material (Martínez, *et al.*, 2007).

Además, Akhemedov junto con su equipo de investigación, descubrieron acción antimicrobiana y antitumoral a través de extractivos y derivados de material lignocelulósico mediante estudios realizados en animales, donde se demostró en ratones que inhibe el crecimiento de sarcomas y la promoción de tumores cancerígenos en la piel (Cruz, *et al.*, 1997).

El objetivo esencial de esta investigación es, además de verificar que el método NREL/TP-510-42618 es adecuado para la cuantificación de lignina en biomasa de pino, transmitir e informar la importancia de este compuesto que se encuentra presente en la naturaleza, teniendo un alto potencial en la industria química. Si bien hoy por hoy, puede que no reemplace en ciertas aplicaciones al petróleo en relación costo-beneficio, es una realidad que el petróleo con el paso del tiempo dejará de existir, momento en el cual la lignina llegará a convertirse en uno de los biopolímeros motores del mundo.

PARTE EXPERIMENTAL

DISEÑO EXPERIMENTAL

Fundamentado en la optimización de recursos y tiempo, el diseño experimental se estructuró para que cada ensayo de cuantificación de lignina total, definido mediante el modelo de la figura 1, se realice 3 veces (ver Figura 1).

Previamente a la cuantificación de lignina, debe determinarse la humedad antes y después del ensayo de extractivos, procedimiento que sirve para eliminar cualquier sustancia interferente.

REACTIVOS, SOLVENTES Y EQUIPOS

Para el desarrollo experimental se empleó la norma NREL/TP-510-42618 Determinación de lignina en biomasa,

siendo un proceso sistemático que debe llevarse a cabo con procedimientos simultáneos como son: NREL/TP-510-42621 - Determinación de humedad en la muestra, NREL/TP-510-42619 - Determinación de extractivos en biomasa.

Se utilizó material de referencia de pino del NIST, agua de grado HPLC, alcohol etílico y ácido sulfúrico concentrado grado reactivo; los equipos empleados fueron: balanza analítica, horno de secado, rotavapor, bomba de vacío, mufla, espectrofotómetro uv-Vis, equipo de extracción Soxhlet.

METODOLOGÍA

Determinación de humedad

Se secan los platos de pesaje a 105°C durante 4 horas, se enfrían en un desecador, registrando el peso hasta mantenerse constante, se coloca la muestra y se realiza el mismo procedimiento.

Determinación de extractivos

Se secan los matraces con núcleos de ebullición a 105°C durante 8 horas, se enfrían en un desecador, registrando el peso hasta mantenerse constante. Se instala el equipo de extracción Soxhlet, previamente vertido 190 mL de agua en el matraz y colocando la muestra en un dedal de extracción, se ajusta la manta calefactora para proporcionar un mínimo de 4-5 ciclos de sifón por hora, una vez terminado el proceso, se lleva al rotavapor para eliminar el solvente y después se seca el matraz en el horno a 40°C durante 24 horas, a continuación, se enfría en un desecador. La muestra en el dedal se introduce nuevamente en el equipo Soxhlet, previamente vertido 190 mL de alcohol etílico en un nuevo matraz, se realiza el mismo procedimiento, pero esta vez ajustando la manta calefactora a un mínimo de 6-10 ciclos de sifón por hora.

Determinación de lignina total

Se colocan los crisoles de filtración sin muestra en un horno mufla a 575°C por un mínimo de cuatro horas, se enfrían en un desecador, registrando el peso hasta mantenerse constante. Se toma la muestra seca en un tubo de presión y se adicionan 3 mL de ácido sulfúrico al 72%, agitando cada 5 minutos a baño María a 35°C durante 60 minutos.

Una vez terminado se agrega 84 mL de agua y se introduce en el autoclave durante 30 minutos a 120°C. Cuando se enfrían los tubos se procede a filtrar la suspensión. Los crisoles de filtración se secan a 105°C durante 4 horas, enfriando en un desecador hasta peso constante.

Mientras tanto, el líquido se diluye hasta alcanzar una absorbancia entre 0,7-1,0 y se analiza por espectrofotometría uv-Vis a una longitud de onda de 240 nm, tomando como referencia un blanco con agua.

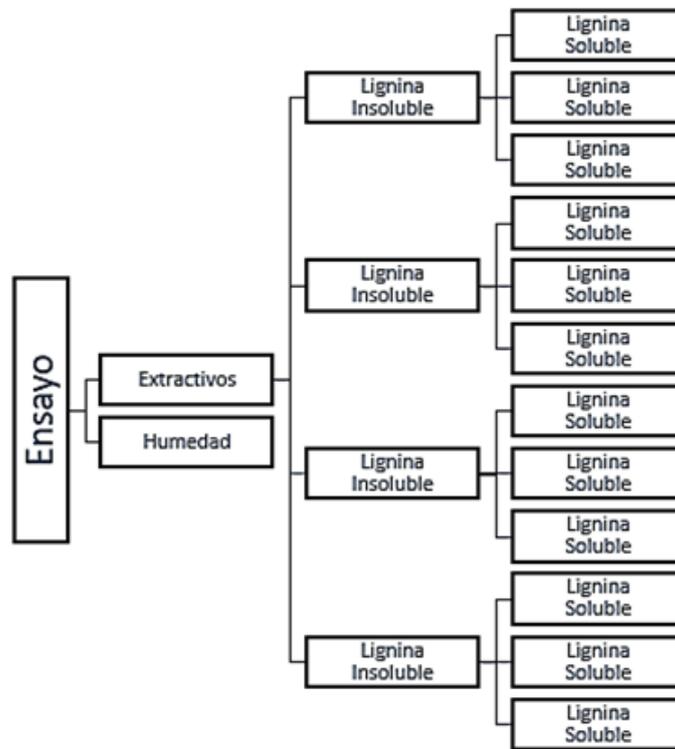


Figura 1. Aminas biogénicas

Tabla 1. Resultados de los ensayos de humedad

	ENSAYO 1	ENSAYO 2	ENSAYO 3
% humedad	3,8356	3,8356	3,6072
	3,9043	3,9043	3,5575
Promedio	3,8700	3,8700	3,8700

Tabla 2. Resultados de los ensayos de extractivos

	ENSAYO 1	ENSAYO 2	ENSAYO 3
% extractivos en agua	4,5217	3,5152	4,0913
% extractivos en alcohol	1,0200	1,2508	1,4377
% extractivos total	5,5417	4,7660	5,5289

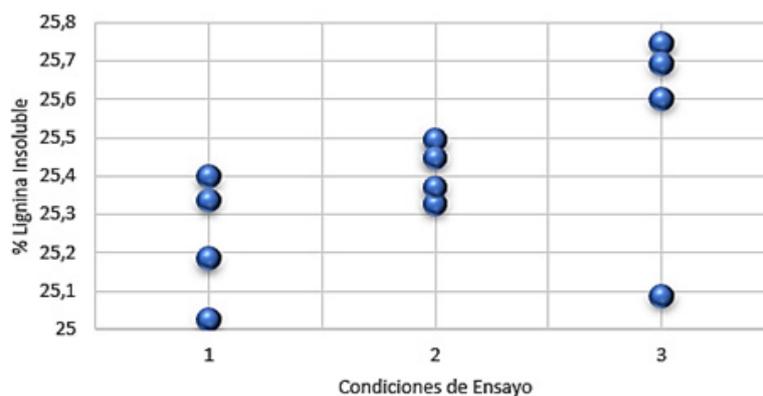


Figura 2. Resultados del porcentaje de lignina insoluble

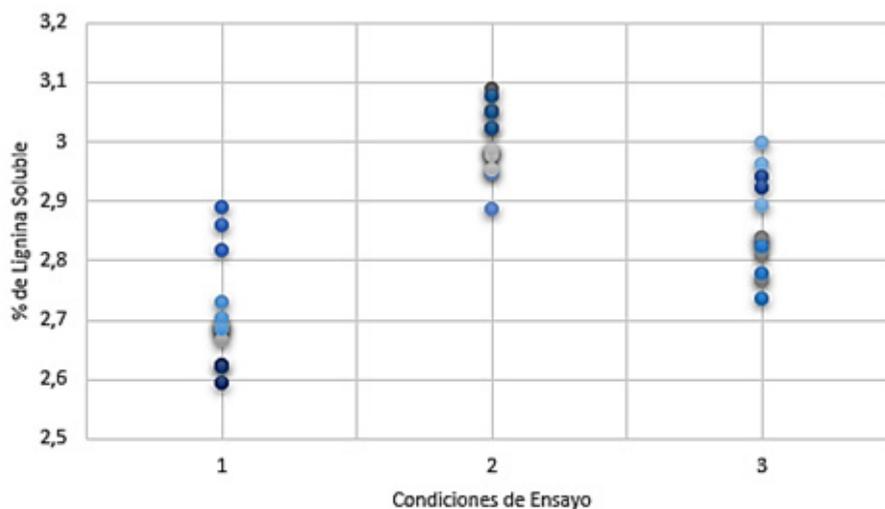


Figura 3. Resultados del porcentaje de lignina soluble

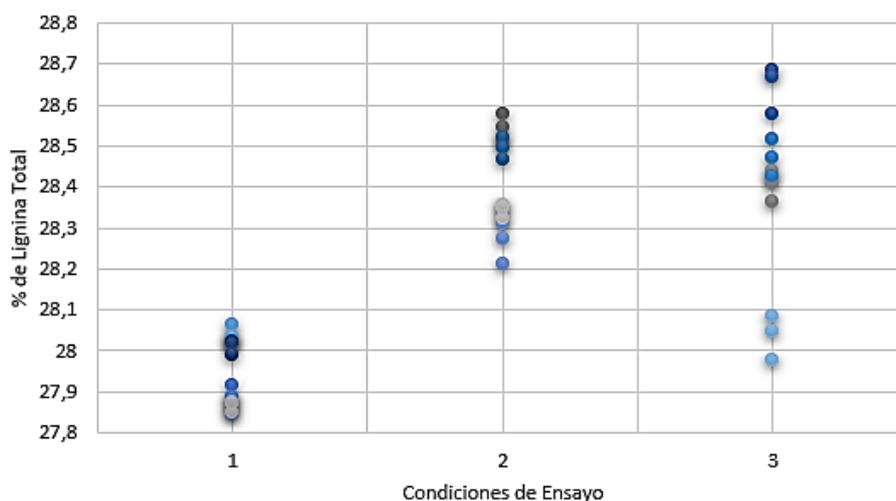


Figura 4. Resultados del porcentaje de lignina total

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS DE HUMEDAD

El ensayo de humedad representa el contenido de agua presente en la muestra (ver Tabla 1).

RESULTADOS DE EXTRACTIVOS

El ensayo de extractivos determina la presencia de sustancias solubles o afines al alcohol y al agua, que interfieren en el resultado como pueden ser: azúcares no estructurales, material nitrogenado e inorgánico (ver Tabla 2).

RESULTADOS DE LIGNINA INSOLUBLE

La figura 2 indica el contenido de lignina insoluble determinada a partir de 4 repeticiones en cada ensayo (ver Figura 2).

RESULTADOS DE LIGNINA SOLUBLE

La figura 3 representa el contenido de la lignina soluble determinada mediante 3 réplicas en cada repetición a una longitud de onda de 240 nm (ver Figura 3).

RESULTADOS DE LIGNINA TOTAL

La figura 4 presenta la cantidad de lignina total equivalente a la suma de la lignina soluble e insoluble (ver Figura 4).

TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

La estadística refleja la credibilidad o, a su vez, la manera en que se pueden interpretar los resultados de la investigación, por consiguiente, a continuación, se manifiestan

las características de desempeño del método.

Repetibilidad

El coeficiente de variación de repetibilidad refleja la dispersión de los datos de los ensayos realizados bajo las mismas condiciones.

$$\%CVr = \frac{Sr}{\bar{X}} * 100 \quad (1)$$

$$\%CVr = \frac{0,1603}{28,2503} * 100$$

$$\%CVr = 0,57$$

Reproducibilidad

El coeficiente de variación de reproducibilidad refleja la dispersión de los datos de los ensayos realizados bajo diferentes condiciones.

$$\%CVR = \frac{SR}{\bar{X}} * 100 \quad (2)$$

$$\%CVR = \frac{0,5376}{28,2503} * 100$$

$$\%CVR = 1,90$$

Veracidad

La veracidad del método determina la exactitud, al comparar un valor referencial y el valor obtenido de manera experimental.

$$\%Recuperación = \frac{Valor\ Calculado}{Valor\ Verdadero} * 100 \quad (3)$$

$$\%Recuperación = \frac{28,25}{28,2} * 100$$

$$\%Recuperación = 100,18\%$$

El método se desarrolló utilizando reactivos de alta pureza, pudiendo la variabilidad de las características de desempeño verse afectadas si se utilizara otro tipo de reactivos, en este sentido, es de suma importancia continuar con investigaciones aplicadas a diferentes materias primas, al mismo tiempo que permitan la optimización del proceso, llegando a ser de gran utilidad en un futuro para el desarrollo de productos con mayor valor agregado y de economía circular sostenible en nuestro país.

Las gráficas del contenido de lignina nos permiten apreciar la variabilidad en los ensayos, manifestando dispersión en los valores influenciados por las condiciones ambientales, pudiendo ser considerados en el resultado final como fuente de incertidumbre de error tipo A.

CONCLUSIONES

A partir de los resultados de las ecuaciones 1 y 2 correspondientes a 0,57% y 1,90%, se concluye que el método demuestra tener repetibilidad y reproducibilidad, debido a que estos valores no sobrepasan los objetivos 1,21% y

2,42% calculados mediante la ecuación de Horwitz, es decir, que los datos aseguran la precisión del método.

En vista de que el valor de veracidad equivalente a 100,18%, no sobrepasa el límite establecido de 98%-102%, se concluye que el método garantiza resultados con valores exactos.

El desarrollo del método establece que las condiciones experimentales establecidas reflejan un buen desempeño para la cuantificación del contenido de lignina en biomasa de pino.

REFERENCIAS

1. Palacios M. Caracterización química de la biomasa procedente de las hojas, pseudotallo, raquis y pseudopociolo de la planta de banano y su relación con el poder calorífico. Tesis de Titulación. Cuenca. Universidad de Cuenca. 2016.
2. Eddine N. Despolimerización de lignina para su aprovechamiento en adhesivos para producir tableros de partículas. Tesis Doctoral. Tarragona. Universidad Rovira i Virgili, abril de 2006.
3. Cordero T, Rodríguez J, Bedia J. Preparación de materiales de carbono a partir de lignina. *Óptica Pura y Aplicada*. 2007, 40 (2): 161-168.
4. Ren S, Liu X, Zhang Y, Lin P, Apostolidis P, Erkens S, Li M. & Xu J. Multi-scale characterization of lignin modified bitumen using experimental and molecular dynamics simulation methods. *Construction and Building Materials*. 2021, 287, n.o 123058. (Visitado 24 de diciembre de 2021). <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2021.123058>
5. Martínez J, Jiménez J, Ramírez W, Rojo P. Modificación de resinas fenólicas con lignina procedente del pulpeo alcalino del bagazo de caña. *Scientia et Technica* Año xiii. 2007, n.o 36, 683-688.
6. Cruz R, Dopico D, Figueredo J, Rodríguez R, Martínez G. Uso de lignina de bagazo con fines medicinales. *Rev. Med. Exp. ins*. 1997, 14 (1): 67-71.
7. Sluiter A, Hames B, Ruiz R & Scarlata C. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass - NREL/TP-510-42618, Procedimiento de laboratorio analítico: NREL, EE. UU., agosto de 2012.