PRODUCCIÓN MEJORADA DE BIOETANOL A PARTIR DE BIOMASA DE *Eichhornia crassipes* APLICANDO CAMPOS MAGNÉTICOS

May-Rodríguez Keyla Madai[1], Ojeda-Morales Marcia E.[1], García-Frías Fatima*[1], López-Lázaro José De los Santos[1], Cruz-Pérez Alida E. [1]

[1]Laboratorio de Biotecnología, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carretera Cunduacán-Jalpa Km 1. Colonia La Esmeralda CP 86400 Cunduacán, México

*232A28005@alumno.ujat.mx

Área de participación: Ingeniería Química

Resumen

El estudio de campos electromagnéticos en los procesos biotecnológicos como la producción de bioetanol a partir de la biomasa lignocelulosa es una alternativa prometedora para producir bioenergía, al reducir el CO_2 y diversificar así la matriz energética. En esta investigación se estudió el efecto del campo electromagnético; mT:(1, 3 y 5) en el rendimiento de bioetanol a partir de *Eichhornia crassipes* proveniente de la laguna Soyataco, ubicada en Jalpa de Méndez, Tabasco, México. Para evaluar el rendimiento de bioetanol a través de los diferentes campos electromagnéticos, se estableció un diseño experimental completamente aleatorizado de un factor, y a través de un ANOVA se determinó el mejor tratamiento. Los resultados obtenidos mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los campos electromagnéticos teniendo valores de 27.714±13.25, D.E. (Desviación estándar) y 24.236±11.75, D.E., para los campos electromagnéticos 1mT y 5 mT respectivamente obteniendo un rendimiento máximo de 35.818 ±16.67, D.E. para el campo electromagnético de 3mT.

Palabras clave: bioetanol, campo electromagnético, lignocelulosa

Abstract

The study of electromagnetic fields applied to biotechnological processes like bioethanol production from lignocellulosic biomass represents a promising alternative to produce energy by reducing CO2, diversifying the energetic matrix. On this research the effect of electromagnetic fields; mT: (1, 3 and 5) upon the bioethanol yield obtained from Eichhornia Crassipes, indigenous to Soyataco lagoon, Jalpa de Méndez, Tabasco México was studied. In order to evaluate the bioethanol yield throughout different electromagnetic fields, an experimental design was established. Such design incorporated a completely random factor and and using an ANOVA the best treatment was determined. Results obtained showed statistically significan differences between electromagnetic fields showing 27.714±13.25, D.E. (Standard deviation) and 24.236±11.75 D.E. for electromagnetic fields 1 mT and 5 mT respectively as well as obtaining a maximum yield of 35.818±D.E. for 3 mT

Key words: Bioethanol, electromagnetic field, lignocellulose

Introducción

Los combustibles fósiles constituyen más del 80% de los combustibles que se consumen a nivel mundial, los cuales son usados principalmente en la generación de energía. Sin embargo, la sobrepoblación de casi todos los países incrementa la dependencia de los combustibles fósiles. Se espera que para el año 2050, la población mundial crecerá alrededor de $3x10^9$ de habitantes. Por lo tanto, se proyecta que muchos países en desarrollo agotarán sus reservas de combustibles derivados del petróleo en los
próximos 65 años [1]. Aunado a esto, el consumo de combustibles fósiles tiene un efecto importante en el calentamiento global representando el 74% de las emisiones antropogénicas globales (GEI), lo que trae como consecuencia la necesidad de hallar nuevas tecnologías como fuente de energía renovable y limpia que tenga el menor impacto negativo en el medio ambiente [2].

Frente a los problemas generados por el consumo de los combustibles, el bioetanol es un tipo de combustible prometedor para la sustitución de los métodos tradicionales para generar energía, ya que tiene bajos costos de producción, y produce mayor cantidad de oxígeno que las mezclas de biodiesel. El bioetanol es un tipo de combustible que se puede obtener a partir de la transformación de la biomasa de diversos organismos, como sucede con el Jacinto de agua, *Eichhornia crassipes*, cuya biomasa derivada de celulosa, lignocelulosa y lignina, es materia prima para la producción de bioetanol [3].

El Jacinto de agua es una macrófita vascular flotante. Los tallos y hojas están llenos de aire, permitiendo que la planta permanezca suspendida sobre el agua. Presenta ambos tipos de reproducción, y se distribuye en cuerpos de agua tropical y
subtropical [4]. Es una planta acuática que por lo general afecta grandes regiones de humedales como lagos, ríos, lagunas y pantanos, ya que su crecimiento acelerado va de 60 kg m^{-2}, provocando una disminución de la biodiversidad, afectando el cauce de los ríos y sistemas de drenaje, disminuyendo el oxígeno disuelto, modificando la química del agua generando como consecuencia un efecto importante en la contaminación ambiental [5].

La transformación de la biomasa del Jacinto de agua como materia prima para la producción de bioetanol es prometedora y sostenible, ya que la planta es abundante, es biodegradable por su bajo contenido de lignina (10%) y tiene un alto contenido de celulosa y hemicelulosa, 28.5 y 33%, respectivamente. Estos polímeros de origen natural son determinantes para la generación de biocombustibles [4], la cantidad de azúcares totales C6 es de 26.3% en peso, compuesto por glucosa y galactosa, mientras que los azúcares C5 como xilosa y arabinosa es de 20.5% en peso, presentes en las hojas del Jacinto de agua. Factores como los azúcares totales, la recuperación de lignina, el uso de la energía, y tipo de biomasa son importantes para la generación de este biocombustible [1]. Se ha demostrado que mediante la hidrólisis de Jacinto de agua usando ácidos diluidos, se puede generar hasta un 60% del azúcar xilosa, la cual puede ser usada como materia prima en la producción de bioetanol, aunque las mezclas de glucosa y xilosa han sido las más utilizadas en este proceso [1]. Estos azúcares, C5 y C6, se pueden tratar para obtener bioetanol a partir del proceso de

fermentación de levaduras o bacterias, sin embargo, mediante la estimulación del crecimiento de la microbiota se podría tener un mejoramiento en la producción de bioetanol. Una manera de estimular el aumento de la biomasa microbiana es mediante la aplicación de campos magnéticos, y en consecuencia aumentar la producción del biocombustible. A nivel celular, se ha comprobado que la aplicación de un campo magnético constante impacta en el potencial de membrana, incrementa su permeabilidad y acelera la absorción de iones [6]. Y aunque se han reportado investigaciones sobre la producción de etanol, falta más información sobre el aprovechamiento de los campos magnéticos en su producción, por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue mejorar la producción de bioetanol a partir de la biomasa celulósica de *Eichhornia crassipes* asistida por microorganismos, mediante la aplicación de campos magnéticos.

Materiales y métodos

Recolección y limpieza de material vegetativo

Se recolectaron ejemplares de *Eichhornia crassipes* (Jacinto de agua) en la laguna Soyataco ubicada en Jalpa de Méndez, Tabasco, México con las coordenadas geográficas (18°13'54.5''N 93°03'43.4''W) de acuerdo a [7], los ejemplares de *Eichhornia crassipes* fueron seleccionados en estado maduro, mismos que fueron colocados en bolsas de polietileno de 1000 g de marca comercial previamente etiquetados y almacenados a una temperatura de 5 °C para ser transportados al laboratorio de biotecnología de la División Académica de Ingeniería y Arquitectura (DAIA) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) donde fueron lavados con agua baja en sales y desinfectados con etanol de 96 °C. El material vegetativo se colocó en papel de estraza para eliminar el exceso de agua, posteriormente fueron colocados en un horno de secado marca Ecoshel modelo 9053A a 60±2°C por 6 h hasta obtener el secado total de las muestras, luego de esto fueron trituradas en un mortero de porcelana y tamizadas en un tamiz de acero inoxidable marca LVDALAB con una malla N.40 hasta obtener partículas pequeñas de aproximadamente 425 µm.

Muestreo y caracterización de muestras de agua

Las muestras de agua simple fueron recolectadas de la laguna Soyataco en frascos de vidrios de 1000 mL con tapa hermética, etiquetados para ser transportados al laboratorio de biotecnología. Las muestras se mantuvieron a una temperatura de 3±1°C, de acuerdo a la metodología propuesta por [8].

Determinación de características fisicoquímicas del agua.

La densidad del agua se determinó utilizando un picnómetro de vidrio de 25 mL; el cual se pesó seco, y con la muestra de agua en una balanza electrónica analítica marca VELAB, tipo VE-204, a través de diferencias de masas y con base en el método AS-04 se realizó el cálculo de la densidad. La turbidez del agua se obtuvo empleando un turbidímetro, marca HANNA HI98703-01 [9]. Los cloruros totales del agua fueron determinados por el método de valoración de nitrato de plata usando como indicador el cromato de potasio, el cambio de color de la disolución a anaranjado-rojizo así como en la forma del precipitado indicaron la terminación de la valoración como lo indica la [10]. La dureza del agua se determinó por el método de titulación de

acuerdo a la [11]. El pH y la conductividad eléctrica se obtuvo con ayuda de un potenciómetro digital marca Hanna.

Obtención de microorganismos

Los microorganismos fueron aislados de las muestras de agua recolectadas, sembrados en medio agar papa dextrosa y medio agar nutritivo de acuerdo al método de diluciones seriadas y sembrado en placa por extensión, descrito [12].

Establecimiento del bioensayo

Se estableció un diseño experimental completamente aleatorizado de un factor (Capacidad de campo electromagnético, CCEM). La variable independiente tuvo tres niveles (1mT, 3mT, 5mT). A los resultados obtenidos se aplicó un ANOVA de una vía, haciendo uso del paquete estadístico Statgraphic CenturionTM V.XVIII, con un nivel
de significancia de $\alpha = 0.05$.

En un matraz Erlenmeyer de 2 L se colocaron 1500 mL de agua destilada estéril, la cual fue magnetizada con una bobina que emitía un campo electromagnético de 1,3 y 5 mT para cada tratamiento. El agua magnetizada se almacenó en un segundo matraz Erlenmeyer con la misma capacidad nominal. Los microorganismos se cultivaron hasta una absorbancia de 0.3 (DO600 nm) en medio caldo nutritivo de composición (g/L) extracto de carne, 1.0; extracto de levadura, 2.0; peptona caseína, 5.0; NaCl, 5.0. 10% de este medio fue transferido a 1000 mL de medio Kim de composición extracto de levadura, 0.2; extracto de carne, 5.0; glucosa o dextrosa, 2.0; KH_2PO_4 monobásico, 0.2; K_2HPO_4 dibásico, 0.3; $MgSO_4$, 0.1; Na_2SO_4, 0.1; $CaCl_2$: 0.1; $FeSO_4$, 0.1 [13]. Posteriormente, 20 mL de agua magnetizada fueron añadidos a un matraz Erlenmeyer de 500 mL que contenía 10 g de material vegetativo *E. crassipes* y 50 mL de medio Kim que contenía el consorcio microbiano, ver Figura 1.

Para evaluar el crecimiento microbiano se extrajeron 10 mL de muestra cada cuatro h durante 20 h, la biomasa contenida se midió en un espectrofotómetro UV-VIS marca Genesys 20 modelo 4001/4 a una densidad óptica de 600 nm.

El rendimiento de bioetanol fue determinado mediante el CO_2 producido por sustrato consumido por los microorganismos. La determinación de CO_2 se realizó por el método de incubación en medio cerrado con 10 mL de NaOH 2N [14]. Obteniendo un rendimiento neto de bioetanol mediante lo establecido en la ecuación 1 y 2, mismas que se describen a continuación:

Ecuación 1 $$\text{Rendimiento} = 1 + \frac{f}{fmax}$$

Dónde: f son coeficientes estequiometricos de la ecuación 2 y $fmax$ es el rendimiento teórico máximo

Ecuación 2

$$wys = cy_B + fjy_P$$

Dónde: w es el número de átomos de carbono en el sustrato, j es el número de átomos de carbono en el producto, ys y y_P son el grado de reducción del sustrato y producto, c y f son coeficientes estequiométricos.

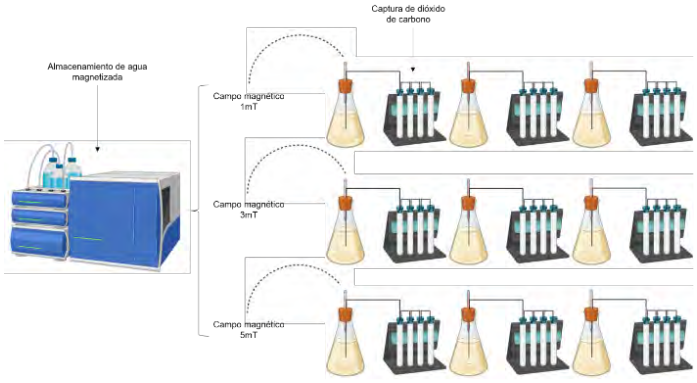


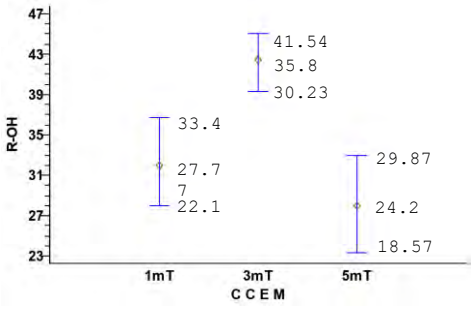
Figura 1. Bioensayo de los tratamientos de campo electromagnéticos (1mT, 3 mT, 5 mT)

Resultados y discusión

Crecimiento microbiano y rendimiento de bioetanol

De acuerdo con los resultados del análisis de varianza y el análisis de multiples rangos, existen diferencias significativas (p>0.05) entre los campos electromagnéticos 3 mT y los campos 1 mT y 5 mT; estos dos últimos son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de separación de medias de Tukey, tal como se muestra en la Figura 2. El tratamiento 3 mT tuvo el rendimiento más alto de bioetanol (35.818 ± 16.67, desviación estándar, D. E.), en comparación con el tratamiento 1 mT (27.714 ± 13.25, D. E.) y el 5 mT (24.236 ± 11.75, D. E.).

2a



2b

Método:95.0 % Tukey HSD			
Campo electromagnético	Conteo	Promedio	Grupos homogéneos
5 mT	18	24.2222	X
1 mT	18	27.7778	XX
3 mT	18	35.8889	X

Figura 2. Prueba de análisis de varianza. Valores promedio que relacionan la intensidad del campo electromagnético 1 mT, 3 mT, 5 mT y la producción de bioetanol donde se muestra la media y los límites máximos y mínimos de los intervalos de confianza (2a). Prueba de separación de medias de Tukey (2b).

Desde el punto de vista físico, un campo magnético es un campo físico que tiene la capacidad de transmitir la interacción entre las corrientes eléctricas o el movimiento de las cargas. Estos campos pueden ser uniformes, estáticos, dinámicos. Sin embargo, de acuerdo con su efecto sobre los seres vivos, pueden dividirse por niveles de intensidad. Si son >5 T son ultra fuertes, si su intensidad es de 1-5 T se les llama fuertes. Mientras que los que son < 1 T son campos magnéticos débiles. La intensidad del campo no se puede subestimar, porque los que son >5 T afectan la viabilidad de los microorganismos [15], lo cual es de importancia para la producción de bioetanol a través de la estimulación de los microorganismos, ya que los campos usados en este estudio son campos magnéticos débiles, de un rango de 1-5 mT.

La producción de bioetanol de esta investigación concuerda con lo reportado por Melgar *et al.* [14] quienes obtuvieron un rendimiento máximo de bioetanol de 47.7% usando un campo electromagnético de 3mT.

En la producción de biocarburantes como el bioetanol, los azúcares simples son transformados por la presencia de microorganismos, siendo la más común la levadura natural *Saccharomyces cerevisiae*, sin embargo, esta actividad también lo pueden llevar acabo las bacterias. La temperatura óptima de crecimiento microbiano va de 32 a 35°C y un pH de entre 3 y 5. Durante del crecimiento microbiano levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* pueden acumular hasta 11% bajo condiciones normales Monroy & Pineda [16], lo que corroboran los datos obtenidos en esta investigación, donde la producción de bioetanol alcanza hasta un 35.8%, ver Figura 3. Este porcentaje demuestra que el uso de campos electromagnéticos tiene un efecto importante en la producción de bioetanol.

Ospino *et al.* [17] Obtuvieron un rendimiento de bioetanol a partir de *E. crassipes* (jacinto de agua) a través de un método de deslignificacion alcalina y remojo con amoniaco. A las 9 h de fermentación con los pretratamientos de deslignificacion alcalina, ácido diluido, remojo con amoníaco y el peróxido alcalino se observaron rendimientos de 12.51 g/L, 8.41g/L, 9.96 g/L y 1.35 g/L de bioetanol. Con esto se demuestra la importancia de los campos magnéticos en la producción de bioetanol. Este estudio tuvo un máximo rendimiento de 35.8 mL por cada 100 mL en comparación con los 10 mL obtenidos con el método de deslignificación alcalina.

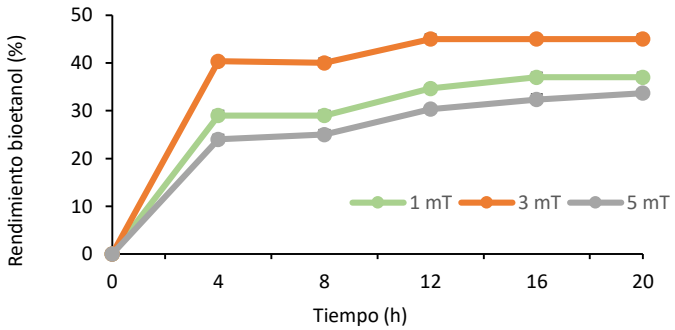


Figura 3. Rendimiento de bioetanol usando un campo electromagnético de 1 mT, 3mT y 5mT

Debido a que los campos electromagnéticos controlan el movimiento de los fluidos y el transporte de los iones, esto tiene un efecto directo en la cinética de crecimiento. La presencia de estos campos permite que las bacterias crezcan más rápido, como ha ocurrido en experimentos en *Escherichia coli*. Sin embargo, estos efectos tienen que ser estudiados con cautela, porque otros factores como la composición y la temperatura del medio también son importantes en la curva de crecimiento microbiano y eso podría llevar a interpretaciones erróneas. Sin embargo, de acuerdo con Masood *et al.* [18] se ha demostrado que las modificaciones en el transporte de iones en soluciones de electrolitos, tiene la capacidad de cambiar la tasa de crecimiento de diferentes especies bacterianas. El mejoramiento en la producción de bioetanol es una consecuencia de la estimulación del medio de cultivo mediante la aplicación de campos magnéticos en esta investigación.

La tabla 1 muestra los parámetros que presentaron las muestras de agua de donde se obtuvieron los microorganismos empleados en esta investigación.

Tabla 1. Promedios de los parámetros físicos y químicos de las muestras de agua

Densidad (g/cm^3)	pH	Conductividad eléctrica (S/m)	Turbidez (NTU)	Dureza (mg/l)	Cloruros totales (mg/l)
1.00291	6.63	2.11	65.83	1.23E+11	28.68

De acuerdo con el ANOVA, el P-valor de la prueba F es menor que 0.05 (P=0.00001), existe una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos de la densidad óptica (DO). El tratamiento 1 mT (0.606±0.174, media, desviación estándar, D.E.) es diferente de 3 mT (0.982±401, D.E.) pero es igual a 5 mT (0.510±0.117, D.E.), en el nivel de significancia del 5 % de la prueba de separación de medias de Tukey. En la Figura 4 se muestra una tasa máxima de crecimiento microbiano en un campo electromagnético de 3 mT 1.099 ± 0.40 D.E mientras que los campos electromagnéticos de 1 mT y 5 mT el crecimiento microbiano fue de 0.6925 ± 0.17 D.E, y 0.569 ± 0.11 D.E., respectivamente. Melgar *et al.* [14] Reportaron una tasa máxima de crecimiento de una levadura usando un campo electromagnético de 3 mT, concordando con los resultados encontrados en esta investigación.

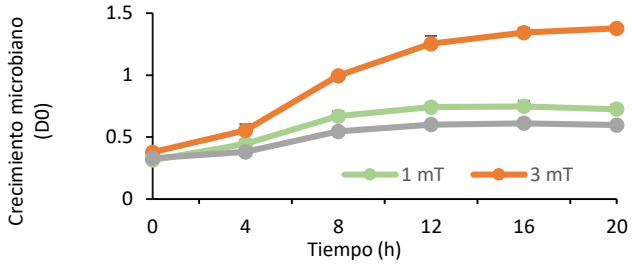


Figura 4. Densidad óptica (DO) del crecimiento microbiano estimulado por los campos electromagnéticos a intensidades de 1mT, 3mT y 5mT.

Conclusión

La producción de bioetanol a partir de la biomasa lignocelulósica producida por *E. crassipes* se ve afectada de acuerdo al campo electromagnético inducido, siendo el tratamiento de 3 mT el que registró la mayor producción de alcohol al fermentarse los azúcares del material vegetativo.

Referencias

[1] O. Khan, A. K. Yadav, M. E. Khan, and M. Parvez, "Characterization of bioethanol obtained from Eichhornia Crassipes plant; its emission and performance analysis on CI engine," Energy Sources Part a Recovery Utilization and Environmental Effects, vol. 43, no. 14, pp. 1793–1803, Aug. 2019, doi: 10.1080/15567036.2019.1648600.

[2] B. Holmatov, J. F. Schyns, Krol, P. W. Gerbens-Leenes, and A. Y. Hoekstra, "Can crop residues provide fuel for future transport? Limited global residue bioethanol potentials and large associated land, water and carbon footprints," Renewable and Sustainable Energy Reviews, vol. 149, p. 111417, Oct. 2021, doi: 10.1016/j.rser.2021.111417.

[3] T. J. Tse, D. J. Wiens, and M. J. T. Reaney, "Production of Bioethanol—A review of factors affecting ethanol yield," Fermentation, vol. 7, no. 4, p. 268, Nov. 2021, doi: 10.3390/fermentation7040268.

[4] U. F. Carreño-Sayago and C. Rodríguez-Parra, "Eichhornia crassipes (Mart.) Solms: an integrated phytoremediation and bioenergy system," Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales Y Del Ambiente (En Línea)/Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales Y Del Ambiente, vol. 25, no. 3, pp. 399–411, Aug. 2019, doi: 10.5154/r.rchscfa.2018.06.051.

[5] L. M. Madikizela, "Removal of organic pollutants in water using water hyacinth (Eichhornia crassipes)," Journal of Environmental Management, vol. 295, p. 113153, Oct. 2021, doi: 10.1016/j.jenvman.2021.113153.

[6] N. Politaeva y V. Badenko, "Magnetic and electric field accelerate Phytoextraction of copper Lemna minor duckweed", Plos one, 2021. https://doi.org/10.1371/journal. pone.0255512

[7] Norma Oficial Mexicana, NOM-126-ECOL-2000 Establece las especificaciones para la realización de actividades de colecta científica de material biológico de especies de flora y fauna silvestres y otros recursos biológicos en el territorio nacional.

[8] Norma Oficial Mexicana, NMX-AA-003 Aguas residuales- muestreo, 1980.

[9] Norma Oficial Mexicana NMX-AA-038-SCFI-2001. Análisis de agua –Determinación de turbiedad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas

[10] Norma Oficial Mexicana NMX-AA-073-SCFI-2001 Análisis de agua - Determinación de cloruros totales en aguas naturales, Residuales y residuales tratadas - Método de prueba, 2001.

[11] Norma Oficial Mexicana, NMX-AA-072-SCFI-2001 Análisis de agua - Determinación de dureza total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas, 2001.

[12] M. T. Madigan, K. S. Bender, D. H. Buckley, W. Matthew Sattley y D. A. Stahl, Brock Biology of microorganisms, 2022, Pearson, ISBN 10: 1-292-40479-5, ISBN 13: 978-1-292-40479-0, eBook ISBN 13: 978-1-292-40506-3 https://www.academia.edu/39077515/Biolog%C3%ADa_de_los_microorganismos_BROCK

[13] R. Torres-Custodio, M. Á. Hernández-Rivera, J. d. l. S. López-Lázaro, Y. Córdova-Bautista, J. G. Álvarez-Ramírez, P. Sifuentes-Gallardo y M. E. Ojeda-Morales, Extraction and characterization of a biosurfactant synthesized by
Acinotebacter baumannii Mexican Journal of Biotechnology, vol. 8, n° 1, pp. 37-65, 2023. https://doi.org/10.29267/mxjb.2023.8.1.1

[14] E. Melgar Urbina, Y. Córdova-Bautista, M. Ojeda Morales, J. Álvarez-Ramírez y W. Calderón-De la Cruz, Efecto del campo electromagnético sobre la fermentación alcoholica mediante una levadura de Theobroma cacao, Journal CIM, vol. 8, n° 1, 2020.

[15] M. Singla and N. Sit, “Application of ultrasound in combination with other technologies in food processing: A review,” Ultrasonics Sonochemistry, vol. 73, p. 105506, May 2021, doi: 10.1016/j.ultsonch.2021.105506.

[16] A. Monroy, J. J. M. Z, and G. A. C. Pineda, “Estrategias de aprovechamiento del jacinto de agua (Eichhornia crassipes) hacia la producción de bioetanol,” CIENCIA EN DESARROLLO, vol. 13, no. 2, pp. 185–200, Jul. 2022, doi: 10.19053/01217488.v13.n2.2022.14088.

[17] K. Ospino, E. Gómez, and L. Rios, “Evaluación de técnicas de pretratamiento en buchón de agua (Eichhornia crassipes) para la producción de bioetanol,” Información TecnolóGica, vol. 31, no. 1, pp. 215–226, Feb. 2020, doi: 10.4067/s0718-07642020000100215.

[18] S. Masood, I. Saleem, D. Smith, and W.-K. Chu, “Growth pattern of Magnetic Field-Treated Bacteria,” Current Microbiology, vol. 77, no. 2, pp. 194–203, Nov. 2019, doi: 10.1007/s00284-019-01820-7.

[19] M. Singla and N. Sit, “Application of ultrasound in combination with other technologies in food processing: A review,” Ultrasonics Sonochemistry, vol. 73, p. 105506, May 2021, doi: 10.1016/j.ultsonch.2021.105506.