

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA



Obtención de Lignina Mediante Tecnología Verde a Partir de Agroresiduos y su Uso
Como Bioestimulante Vegetal

Por:

AZRRAEL AYALA VELASCO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Saltillo, Coahuila, México.

Junio 2024

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Obtención de Lignina Mediante Tecnología Verde a Partir de Agroresiduos y Su
Uso Como Bioestimulante Vegetal

Por:

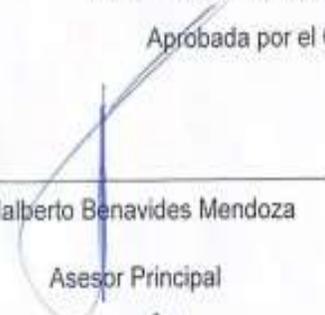
AZRRRAEL AYALA VELASCO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Adalberto Benavides Mendoza

Asesor Principal



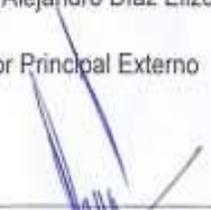
Dr. José Alejandro Díaz Elizondo

Asesor Principal Externo



Dra. Susana González Morales

Coasesor



Dr. Alberto Santoyo Rangel

Coasesor



Dr. Alberto Santoyo Rangel
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Junio 2024

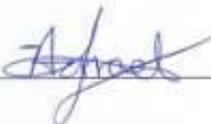
DECLARACIÓN DE NO PLAGIO

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir la verdad que no se incurrió un plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar robar o pedir prestados los prestados o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, graficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

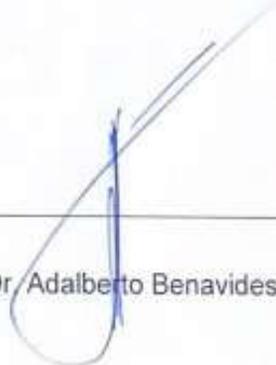
Por lo anterior nos responsabilizamos de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaramos que este trabajo es original.

Pasante



Azrael Ayala Velasco

Asesor principal



Dr. Adalberto Benavides Mendoza

AGRADECIMIENTOS

A mi Alma Terra Mater

UAAAN: Universidad Agraria Antonio Narro

Por la formación académica, por todos los conocimientos brindados, por dejarme todos enseñanzas que valoro y atesorare por siempre.

A mis asesores:

Dra. Julia R. Medrano Macías Por ser mi guía en este proyecto de investigación, por todos los conocimientos brindados y por toda la paciencia que me tuvo.

Dr. Adalberto Benavidez Mendoza Por su colaboración en este trabajo de investigación y por todos los conocimientos que me brindo en su clase.

A mis amigos de Universidad:

Cada uno me brindo su amistad de manera diferente y especial, **Vianney De Jesús Zayas y Dulce Yoselin Gómez López.**

A mi mejor amiga:

Perla Abigail Cárdenas Atayde por darme todo su apoyo incondicional durante mi estancia en saltillo, por darme todas aquellas aventuras que recordare por siempre, gracias Perlita por ser mi hermana del alma.

DEDICATORIA

A mis Padres:

Ricardo Azrrael Ayala Vázquez y Justina Velasco Figueroa por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, academica, como de vida, por su incondicional apoyo brindado a través del tiempo y por el valor mostrado en mis años de licenciatura con todo su sacrificio y esfuerzo.

A mis hermano y hermana:

Aaron Ayala Velasco, por enseñarme a como ser un líder en las buenas y en las malas.

Paola Ayala Velasco, por cuidarme todo el tiempo, por ser mi confidente y por enseñarme a ser empático con las personas.

A mis abuelitas:

Por darme todo su amor incondicional en todo momento de mi vida, por darme los mejores consejos que necesitaba para seguir creciendo.

A mis abuelos:

Que son el principal cimiento de mi familia, gracias ellos que son mi ejemplo a seguir por sus grandes virtudes y su gran corazón.

A mi tía:

Ma. Guadalupe Ayala Vázquez por forjarme con inteligencia, amor, entendimiento y sobre todo a siempre enseñarme a resolver todos los problemas de la mejor manera, siempre será la persona más especial en mi vida.

A mi sobrina:

Lesli Natalia Magaña Bejarano, por compartir los mejores momentos de mi vida y por enseñarme la mejor lección de vida, que a pesar de que nuestra vida se esté quebrando en mil pedazos siempre habrá algo mejor que nos espera el día de mañana.

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | |
|--|----|
| ÍNDICE DE CONTENIDO | 9 |
| ÍNDICE DE CUADROS | 10 |
| ÍNDICE DE FIGURAS | 10 |
| RESUMEN | 11 |
| ABSTRACT | 11 |
| I.INTRODUCCIÓN | 12 |
| II.OBJETIVO GENERAL | 13 |
| 2.1OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 13 |
| III.HIPÓTESIS..... | 14 |
| IV.REVISIÓN DE LITERATURA..... | 14 |
| V.MATERIALES Y MÉTODOS | 21 |
| 5.1 EXTRACCIÓN DE LIGNINA CON SOLVENTES ORGÁNICOS..... | 21 |
| 5.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA LIGNINA..... | 22 |
| 5.2.1 <i>Análisis termogravimétrico (TGA)</i> | 22 |
| 5.2.2 <i>Resonancia magnética nuclear (¹H NMR)</i> | 22 |
| 5.2.3 <i>Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)</i> | 23 |
| 5.2.4 <i>Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Dispersión de Rayos X</i> | 23 |
| 5.2.5 <i>Dispersión dinámica de luz (DLS)</i> | 23 |
| 5.3 EVALUACIÓN DEL EFECTO BIOESTIMULANTE DE LA LIGNINA EXTRAÍDA DE LA CÁSCARA DE NEUZ EN PLÁNTULAS DE TOMATE..... | 23 |
| 5.3.1 <i>Sitio Experimental</i> | 23 |
| 5.3.2 <i>Diseño experimental</i> | 24 |
| 5.4.MUESTREO..... | 25 |
| 5.5.BIOMASA FRESCA Y SECA..... | 25 |
| VI. RESULTADOS | 26 |
| 6.1 CARACTERIZACIÓN DE LA CÁSCARA DE NUEZ | 26 |
| 6.1.1 ANÁLISIS TERMOGRAVIMETRICO | 26 |
| 6.1.2 RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE PROTÓN (¹ H NMR) | 26 |
| 6.1.3 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR) | 28 |
| 6.1.4 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM) Y DISPERSIÓN DE RAYOS X. | 30 |
| 6.1.4 DISPERSIÓN DINÁMICA DE LUZ (DLS) | 32 |
| 6.2 EFECTO BIOESTIMULANTE SOBRE EL CRECIMIENTO DE LAS PLÁNTULAS DE TOMATE | 33 |
| VII.DISCUSIÓN | 34 |
| VIII.CONCLUSIÓN..... | 35 |

| | |
|----------------------|----|
| IX.BIBLIOGRAFIA..... | 35 |
|----------------------|----|

ÍNDICE DE CUADROS

| | |
|--|----|
| CUADRO 1. CONCENTRACIONES DE LA SOLUCIÓN NUTRITIVA SEGÚN (STEINER, 1961)..... | 24 |
| CUADRO 2. CONTENIDO DE MATERIAL LIGNOCELULÓSICOS EN LA CÁSCARA DE NUEZ | 26 |
| CUADRO 3. ASSIGNMENT OF INFRARED SPECTRAL BANDS FOR LIGNIN (L.M. KLINE ET AL 2010)..... | 29 |
| CUADRO 4. RESULTADOS OBTENIDOS SOBRE VARIABLES NO DESTRUCTIVAS DEL CRECIMIENTO DE LAS PLÁNTULAS..... | 33 |
| CUADRO 5. RESULTADOS OBTENIDOS SOBRE VARIABLES DESTRUCTIVAS DEL CRECIMIENTO DE LAS PLÁNTULAS. | 33 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| FIGURA 1. ESQUEMATIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE LA LIGNINA DE LAS CÁSCARAS DE NUEZ MEDIANTE HIDRÓLISIS. | 22 |
| FIGURA 2. ESPECTRO DE LA RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE PROTÓN DE LAS MUESTRAS DE LIGNINA. ... | 27 |
| FIGURA 3. ESPECTRO FTIR DE LA LIGNINA EXTRAÍDA DE LA CÁSCARA DE NUEZ | 29 |
| FIGURA 4. ESPECTRO FTIR DE LA CASCARILLA DE ARROZ, SIN Y CON TRATAMIENTO POR EXPLOSIÓN DE VAPOR (NAVEDA RENGIFO, ET AL.2019) | 29 |
| FIGURA 5. MICROGRAFÍAS SEM DE LA LIGNINA OBTENIDA DE LA CASCARA DE NUEZ..... | 31 |
| FIGURA 6. ANÁLISIS ELEMENTAL OBTENIDO MEDIANTE EDS..... | 32 |
| FIGURA 7. DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE PARTÍCULA DE LA LIGNINA..... | 32 |

RESUMEN

Para la realización de este experimento se extrajo lignina de cáscaras de nuez mediante hidrólisis con mezcla de ácido acético y agua (65:35). Posteriormente, se prepararon tres soluciones de lignina; a 10, 50,100 ppm y un testigo absoluto, las cuales se aplicaron vía foliar en las plántulas de tomate bajo condiciones de invernadero de modo semanal.

Mediante diferentes técnicas de caracterización se pudo evidenciar la presencia de lignina depues de la extracción.

Los resultados mostraron que es posible obtener un 15% (p/p) de lignina de las cáscaras de nuez con el uso de solventes suaves como la mezcla de ácido acético y agua y al ser aplicado a diferentes concentraciones (10, 50y 100 ppm) se evidenció un incremento en el crecimiento; un mayor número de hojas compuestas con 50 y 100 ppm, el peso fresco del tallo incrementó con 10 y 50 ppm, la altura y la biomasa en fresco aumentó con las tres concentraciones (10, 50 y 100 ppm).

Lo anterior concluye que la aplicación de lignina extraída de cáscara de nuez con una solución de ácido acético: agua, evidencian un efecto bioestimulante sobre el crecimiento de las plántulas de tomate.

Palabras Clave: Lignina, Bioestimulante, Hidrolisis, Cascara de Nuez.

ABSTRACT

To carry out this experiment, lignin was extracted from walnut shells by hydrolysis with a mixture of acetic acid and water (65:35). Subsequently, three lignin solutions were prepared; at 10, 50,100 ppm and an absolute control, which were applied foliarly to tomato seedlings under greenhouse conditions on a weekly basis.

Through different characterization techniques, the presence of lignin after extraction could be evidenced.

The results showed that it is possible to obtain 15% (w/w) of lignin from walnut shells with the use of mild solvents such as a mixture of acetic acid and water and when applied at different concentrations (10, 50 and 100 ppm). an increase in growth was evident; a greater number of compound leaves with 50 and 100 ppm, the fresh weight of the stem increased with 10 and 50 ppm, the height and fresh biomass increased with the three concentrations (10, 50 and 100 ppm).

The above concludes that the application of lignin extracted from walnut shells with a solution of acetic acid: water shows a biostimulant effect on the growth of tomato seedlings.

Keywords: Lignin, Biostimulants, Hydrolysis, Walnut Shell.

I.INTRODUCCIÓN

La lignina, oligómeros de lignina y modificaciones químicas de estos, de manera muy reciente han sido aplicados en la producción de cultivos, en donde estas moléculas han funcionado como acarreadores y dosificadores de macro y micro elementos esenciales, así como efectos benéficos directos sobre el incremento a la tolerancia al estrés, e incremento en la producción (Ahmad et al. 2021).

Una gran ventaja del uso de este biopolímero como bioestimulante del metabolismo vegetal es su abundancia en la naturaleza, ya que consitiuye un 40% de la pared celular de las plantas y más aún de los materiales maderables y leñosos, por lo que una importante fuente son los agrodesechos (Sánchez 2009).

En el norte de México, un cultivo de suma significancia económica es la nuez. Los estados donde se lleva a cabo la mayor producción son Chihuahua, Coahuila y Sonora;

en los últimos 15 años la superficie sembrada ha incrementado un 80%, llegando actualmente a las 146 000 hectáreas sembradas (Orona Castillo et al. 2019).

Este cultivo genera desechos en un 50% del total de la producción (Ranum, Peña-Rosas, and Garcia-Casal 2014; Suarez-Jacobo et al. 2016), y estos representan una fuente de moléculas de interés comercial como la lignina, la cuál puede ser aprovechada para la mejora en la producción de hortalizas, así como reducir el volumen de este desecho.

La obtención de lignina usando ácidos inorgánicos fuertes como sulfúrico o clorhídrico, a temperaturas entre 180-250 °C por 2 hrs es proablemente la técnica más empleada (Chio, Sain, and Qin 2019).

Sin embargo, de manera reciente y de acuerdo con la necesidad de aplicación de tecnologías verdes con mayor responsabilidad ambiental, han sido usados ácidos orgánicos como el acético, láctico y oxálico, obteniendo rendimientos de entre 15-44% de lignina (Hong et al. 2020).

Mencionado todo lo anterior, el objetivo del presente proyecto de investigación fue promover el uso de los agroresiduos de la nuez como materia prima para la obtención de lignina, mediante tecnologías verdes, y su aplicación como bioestimulante sobre el crecimiento de plántulas de tomate.

II.OBJETIVO GENERAL

Obtener lignina mediante el uso de tecnología verde y evaluar su efecto bioestimulante sobre la germinación y crecimiento de plántulas de tomate.

2.1Objetivos específicos

2.1.2) Obtención de lignina de cascara de nuez mediante el uso de tecnologías verdes.

2.1.3) Caracterización de lignina obtenida de la cascara de nuez.

2.1.4) Evaluar el efecto bioestimulante de la lignina sobre variables de crecimiento de plántulas de tomate.

III.HIPÓTESIS

Es posible obtener mediante tecnología verde un extracto con alto contenido de lignina de residuos de cáscara de nuez, el cuál al ser aplicado en plántulas de tomate evidenciará un efecto bioestimulante sobre la germinación y el crecimiento.

IV.REVISIÓN DE LITERATURA

La lignina es un compuesto heteropolimérico presente en la pared celular del tejido vascular de las plantas, proporcionando resistencia estructural frente a tensiones y presión hídrica, además de apoyo a células especializadas en funciones de sostén y almacenamiento. Junto con la celulosa, constituye los principales componentes de la biomasa, utilizados en la producción de biocombustibles y en la identificación de especies maderables. Aunque su estudio se centra mayormente en aplicaciones industriales, hay una escasa investigación dirigida a comprender su evolución y los procesos anatómico-químicos de los tejidos conductores. (Weng y Chapple, 2010).

En términos generales, se reconocen tres tipos principales de lignina en las plantas: uno que contiene lignina de tipo guayacilo e hidroxifenilo, común en briofitas, licofitas y gimnospermas; otro que contiene lignina de tipo siringilo, guayacilo e hidroxifenilo, predominante en angiospermas; y un tercero presente en pastos (monocotiledóneas), compuesto principalmente por guayacilo e hidroxifenilo, con menor presencia de siringilo. La lignina es un polímero fenólico con una composición diversa debido a los distintos monómeros y enlaces resultantes de la acción de diversas enzimas durante

la biosíntesis y la polimerización en la pared celular. En esta revisión, se documentan las características destacadas de la molécula de lignina, su proceso de biosíntesis, polimerización en la pared celular y la evolución de la lignificación. (Ros Barceló et al., 2004).

La lignina, un heteropolímero, está compuesta principalmente por tres monómeros fenilpropanoides, conocidos como monolignoles: el alcohol p-cumarílico (p-hidroxifenilo), coniferílico (guayacilo) y sinapílico (siringilo). Además de estos, se consideran como monómeros estructurales a monolignoles acetilados (ésteres de coniferilo y sinapilo), hidroxicinamatos (ácido p-cumárico, ferulato y sinapato), coniferaldehído, sinapaldehído, ácido ferúlico y alcohol 5-hidroxiconiferaldehído. Estos monolignoles se unen mediante más de veinte enlaces distintos, siendo los más comunes los β -O-4, β -5, 5-5, 4-O-5, β - β y β -1, dando lugar a diversas estructuras como guayacilglicerol- β aril éter, fenilcumaranos, diarilpropanos, resinol, bifenil y difenil éter. El enlace predominante en la lignina es el β -aril éter (β -O-4), aunque existen otros enlaces como β -5, β -1, β - β , 5-5 y 5-O-4. Durante el proceso de lignificación, los hidroxicinamatos (p-cumarato, ferulato y sinapato) se copolimerizan con los monolignoles, lo que promueve la formación de ramificaciones en la estructura de la lignina y la acetilación de polisacáridos, como en el caso de los pastos donde los ferulatos y el p-cumarato acetilan a los arabinosilanos. Los hidroxicinamatos tienen un papel fundamental en la unión entre polisacáridos y en la formación de enlaces entre ellos. (Ralph, 2010).

Por consiguiente, los ferulatos actúan como puntos de nucleación donde la lignina se acumula, ya que conectan los monolignoles (siringilo y guayacilo) con los polisacáridos estructurales (principalmente xilanos y pectinas) mediante enlaces covalentes de tipo 8-O-4', 5- β , 4-O- β ', β -5', 5-5' y 8- β '. La presencia de enlaces éster, entre monolignoles ferulados (F-MG o MS), facilita la separación de los monómeros mediante métodos de degradación, dado que estos enlaces son débiles. Esto es evidente en el caso de la lignina de tipo siringilo-guayacilo (en angiospermas), que presenta un mayor número de enlaces ésteres de tipo β -O-4, haciéndola menos resistente a la hidrólisis en comparación con la lignina de tipo guayacilo (en gimnospermas). Además, se ha

identificado una nueva forma de lignina, de tipo C (alcohol catequilo), en la cubierta de semillas de especies como vainilla y cactáceas, aunque no se ha encontrado en el tejido vascular de otras plantas. (Do et al., 2007).

La biosíntesis de lignina es más energéticamente costosa que la de celulosas y hemicelulosas. Dado que las plantas no pueden degradar la lignina, su proceso de síntesis está altamente regulado. La fenilalanina (en pastos, la tirosina) es el principal precursor de los monómeros de lignina, que se producen a través de la ruta metabólica del ácido shikímico, la cual tiene lugar en los plastidios. La fenilalanina se convierte en ácido cinámico, luego en ácido p-cumárico, y finalmente en p-cumaril CoA. Esta molécula es el sustrato en dos rutas: una que forma el alcohol p-cumarílico (o lignina H), y otra más compleja que produce los diversos monómeros de la lignina, como el ácido ferúlico (ferulatos), ácido sinápico, alcohol catequilo (lignina C), alcohol coniferílico (lignina G) y alcohol sinapílico. (Barros et al., 2015).

El proceso de polimerización de la lignina ocurre en la pared celular a través de la polimerización oxidativa de los monómeros secretados. Los radicales de los monómeros de lignina se enlazan entre sí formando enlaces condensados C-C como 5-5', β -5', β - β y β -1', así como enlaces no condensados C-O-C como β -O-4'. Esta polimerización es de tipo "endwise", ya que los nuevos monómeros se acumulan y se entrelazan con los dímeros, trímeros y oligómeros previamente formados, resultando en una molécula lineal que a veces se ramifica debido a enlaces de tipo 5-5 o 4-O-5. Después de la deshidrogenación de los radicales, la polimerización ocurre bajo un control químico estricto denominado "aleatorio". Actualmente, se ha demostrado que proteínas específicas participan en la lignificación; estas incluyen lacasas dependientes de O₂ y peroxidasas dependientes de H₂O₂. Las lacasas actúan directamente sobre todos los monolignoles de la lignina mediante la oxido-reducción de p-difenoles utilizando O₂. Estas enzimas son cruciales para la polimerización de la lignina, y su actividad se detecta durante la lignificación del xilema, con la transcripción de lacasas regulada de manera similar a la de los monómeros (Koutaniemi, Malmberg, Simola, Teeri y Kärkönen, 2015). La presencia de diferentes isoformas de lacasas está

relacionada con el tipo celular en el que se encuentran, y es posible observar dos o más lacasas activas simultáneamente. (Zhao et al., 2013).

Las peroxidasas son una familia multigénica con un número de isoformas mucho mayor que las lacasas, llegando a aproximadamente 138 enzimas en las angiospermas a lo largo de la evolución de las plantas. Estas enzimas son muy afines al alcohol coniferílico y menos al alcohol sinapílico, debido a la propensión del primero a la oxidación. Pocas peroxidasas pueden oxidar el alcohol sinapílico debido a un impedimento estérico en el sitio de unión, causado por los metoxilos del alcohol sinapílico que forman contactos hidrófobos desfavorables con el esqueleto de la enzima. Las enzimas que pueden oxidar los monómeros de siringilo se encuentran en las gimnospermas basales y en plantas ancestrales. Tanto las lacasas como las peroxidasas pueden tener especificidad durante la polimerización de lignina, actuando en las células de la banda de Caspary (peroxidasas) y en los elementos traqueales (lacasas). En algunas especies, ambas enzimas pueden participar en la lignificación de los elementos traqueales (ET) (Sterjiades, Dean, Gamble, Himmelsbach y Eriksson, 1993).

Se han propuesto tres posibles modelos para la acción de las enzimas:

1. Modelo de intervención secuencial por especificidad del sustrato: En este modelo, las lacasas primero producen oligolignoles, que luego son utilizados por las peroxidasas para continuar polimerizando los monómeros.
2. Modelo de intervención secuencial espacio-temporal: Aquí, ambas enzimas actúan en diferentes lugares y momentos. No solo actúan en el tejido lignificado, sino también en células cooperativas de la lignificación, como el parénquima no lignificado.
3. Modelo de formación de complejos proteínicos: En este caso, los monolignoles se unen a diferentes complejos proteínicos que restringen los sitios de unión. Para que las peroxidasas polimericen la lignina, la enzima NADPH oxidasa participa proporcionando oxígeno reactivo durante la lignificación. La NADPH oxidasa pertenece a una familia multigénica de enzimas y funciona junto con

tres dismutasas superoxidasas (CuZn-SOD, Fe-SOD y Mn-SOD). Estas dismutasas utilizan los radicales producidos por la NADPH oxidasa y los transforman en O₂ y H₂O₂, que sirven como sustrato para el funcionamiento de las peroxidasas (Gill y Tuteja, 2010; Sirokmány y Geiszt, 2019).

La lignina está presente en diversas regiones de la pared celular de las plantas y se considera un heteropolímero aromático ramificado, formado aleatoriamente por unidades de fenilpropano. Investigaciones recientes sobre la transformación química y biológica de residuos agrícolas en productos de alto valor han centrado su atención en compuestos como la lignina. Esto se debe a que la conversión de residuos agrícolas en productos finales requiere necesariamente la remoción de dicho compuesto. Por ejemplo, para obtener combustibles celulósicos, es imprescindible separar la lignina del resto de los componentes de la biomasa. Comúnmente, la industria papelera y las biorrefinerías generan grandes cantidades de lignina como subproducto de sus procesos, pero estas suelen quemarse para producir energía de bajo costo (Zakzeski et al., 2010). Numerosas investigaciones han propuesto utilizar estas ligninas en diversas aplicaciones, como en resinas fenólicas sustituyendo el fenol químico por fenol derivado de la lignina, como adhesivo natural para medicinas, alimentos y textiles, como materia prima para la fabricación de fibras de carbono y como antioxidante de polímeros termoplásticos (Pouteau et al., 2003).

Por otro lado, los materiales lignocelulósicos no convencionales, como vainas, cáscaras, frutos secos o malezas, están recibiendo mucha atención como fuentes de polímeros lignocelulósicos. El lirio acuático (*Eichhornia crassipes*), una maleza invasora de lagos y ríos, ha sido ampliamente explorado como materia prima para la elaboración de biocombustibles debido a su considerable contenido de lignina. Sin embargo, hasta la fecha, no se han realizado investigaciones sobre la extracción y caracterización de la lignina obtenida de estas plantas.

Otro material lignocelulósico altamente abundante son las cáscaras de nuez pecanera (*Carya illinoensis*), que se obtienen en grandes cantidades durante el descascarado de nueces. El procesamiento de nueces descarta del 40 al 50 % de su peso en

cáscaras, que tienen poco valor económico y su eliminación es costosa. Recientemente, se ha informado que los extractos o infusiones alcohólicas de las cáscaras de nuez pecanera poseen actividad antioxidante y antibacteriana. Aunque se ha investigado la extracción de lignina a partir de cáscaras de frutos secos, la cáscara de nuez pecanera no se ha estudiado con este propósito.

Generalmente, la extracción de compuestos fenólicos a partir de cáscaras de frutos secos se realiza utilizando alcoholes como solventes, aunque estos logran bajos rendimientos de extracción. En contraste, el uso de ácidos orgánicos (proceso organosolv) se ha aplicado ampliamente para remover lignina de varias biomásas lignocelulósicas con resultados favorables. El proceso organosolv permite separar y obtener de forma individual celulosas, hemicelulosas y ligninas, además de que los ácidos orgánicos utilizados pueden recuperarse y reutilizarse. Las ligninas aisladas utilizando ácidos orgánicos, denominadas ligninas organosolv, tienen mayor pureza que las obtenidas mediante otros procesos químicos (Espinoza-Acosta et al., 2014). Además, la lignina obtenida por el proceso organosolv es altamente soluble en varios solventes orgánicos. Su pureza, actividad antioxidante y alta capacidad de solubilización pueden ser útiles en aplicaciones como adhesivos, resinas fenólicas, antioxidantes y protectores UV de materiales termoplásticos.

En este sentido, el objetivo de este trabajo fue la extracción y caracterización de dos materias primas lignocelulósicas no convencionales como fuentes potenciales para la obtención de lignina con propiedades antioxidantes.

La actividad antioxidante de las plantas está asociada a compuestos fenólicos cuya estructura química con grupos hidroxilo les permite actuar como antioxidantes primarios al inicio del proceso oxidativo o en la etapa de terminación, cuando se generan los radicales libres. La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos protege al organismo contra las especies reactivas de oxígeno y los radicales libres implicados en la génesis del estrés oxidativo.

La lignina es el polímero fenólico natural más abundante en la naturaleza. Está constituida por unidades entrecruzadas de alcohol p-cumarílico, alcohol coniferílico y alcohol sinapílico. La composición y estructura de la lignina varían dependiendo de su origen y del método de extracción o aislamiento utilizado (Lu y John, 2010).

Los antioxidantes son moléculas que pueden capturar o inhibir los radicales libres presentes en sistemas vivos y alimentos, evitando así la oxidación mediante la donación de átomos de hidrógeno o la transferencia de electrones. Los antioxidantes pueden ser naturales, como ciertas vitaminas, tocoferoles y minerales, o sintéticos, como el butilhidroxianisol (BHA) y la terbutilhidroquinona (TBHQ). En la actualidad, el costo de manufactura de los antioxidantes sintéticos, los riesgos potenciales para humanos y animales, así como la necesidad de aumentar la seguridad alimentaria, han incrementado la demanda de antioxidantes naturales.

Los polifenoles son un grupo de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante. Recientemente, el interés en los polifenoles ha aumentado debido a su capacidad para capturar radicales libres y evitar las reacciones en cadena que llevan a la oxidación. Se ha observado que presentan efectos favorables en la antioxidación de proteínas y lípidos (Kortenska et al., 2002).

El tomate es la hortaliza más cultivada en todo el mundo y la de mayor valor económico. Su demanda sigue en aumento, impulsando su cultivo, producción y comercio. El incremento anual de la producción en los últimos años se debe principalmente a un aumento en el rendimiento, y en menor medida, a la expansión de la superficie cultivada.

El tomate se cultiva en diversas zonas con una amplia variabilidad de condiciones climáticas y de suelo, aunque predominantemente en climas secos, tanto para consumo fresco como para uso agroindustrial. La producción global de tomates para consumo fresco y procesamiento se estimaba en 108 millones de toneladas métricas, con un rendimiento promedio de 36 toneladas por hectárea. Asia produce más de la mitad del tomate mundial.

Según cifras de la FAO, el comercio mundial de tomate y sus productos creció un 33% entre 1991 y 2001, principalmente debido al comercio de tomates frescos, que representa el 75% de este aumento. En términos de valor de exportación, la pulpa y el jugo de tomates se han mantenido relativamente constantes (Monardes, H. 2009).

V.MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Extracción de lignina con solventes orgánicos

La cáscara de nuez fue triturada en un molino de cuchillas con malla de un 1 mm de diámetro, y llevada a sequedad a 70°C por 48 horas. Para la extracción de la lignina se realizó un tratamiento de hidrólisis con una mezcla de ácido acético (AC) y agua destilada (AD) 65/35 V/V. Se agregaron 50 g de cáscara de nuez seca y molida a un reactor de vidrio de 4 L, y se adicionó la mezcla AC/AD en proporción 1:10 (p/v) y se calentó a 80°C con agitación constante durante 4 horas.

El extracto lignocelulósico obtenido de la hidrólisis se filtró por gravedad en un embudo büchner de porcelana con malla de nylon como filtro. La parte sólida se llevó a sequedad a 70°C durante 48 horas, el extracto filtrado se precipitó 3 veces en su volumen en etanol al 95%, donde se obtuvo hemicelulosa, la lignina soluble se rotaevaporó para eliminar el etanol y así purificar la lignina, en la Figura 1 se esquematiza todo el proceso de extracción mencionado.

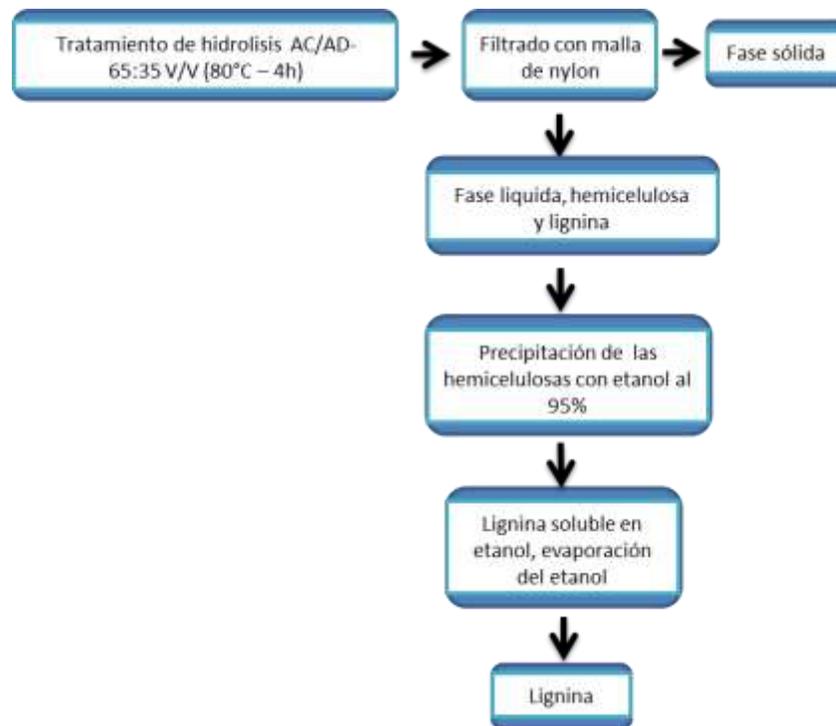


Figura 1. Esquematización de la extracción de la lignina de las cáscaras de nuez mediante hidrólisis.

5.2 Caracterización físicoquímica de la lignina

5.2.1 Análisis termogravimétrico (TGA)

La composición lignocelulósica de la cáscara de nuez se determinó usando un análisis termogravimétrico (TGA), pesando 12.2 mg de la muestra, mediante el método descrito por (Díez et al. 2020). Se uso un equipo TGA Q500 de TA Instruments. El rango de temperaturas para el análisis fue de 20-700°C, empleando una velocidad de calentamiento 10°C/min, flujo de nitrógeno 50 mL/min.

5.2.2 Resonancia magnética nuclear (¹H NMR).

La estructura química de la lignina obtenida se estudió por ¹H NMR, el análisis se llevó a cabo en un espectrómetro de resonancia magnética nuclear marca Bruker de 400 MHz. La adquisición y el manejo de los datos se realizaron mediante el software TopSpin y MestReC respectivamente. La muestra fue disuelta en dimetilsulfoxido

deuterado (DMSO-d₆) y colocada en tubos de cuarzo de 5 mm de diámetro, para posteriormente ser analizada a temperatura ambiente.

5.2.3 Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

Para el análisis por espectroscopia de infrarrojo (FTIR) se utilizó el equipo Nicole Is10 modelo Thermo Fisher Scientific. La toma de los datos se realizó con una escala de absorbancia desde 4000 hasta 600 cm⁻¹ del espectro electromagnético. Usando un detector DTGS KBr.. Para procesar los espectros se utilizó el programa OMNIC. Los análisis se realizaron por duplicado.

5.2.4 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Dispersión de Rayos X

La morfología de la lignina se examinó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). La composición química de la lignina obtenida se determinó mediante espectrometría de dispersión de energía de rayos X (EDS) acoplada a SEM. Previamente la lignina fue recubierta por una capa de oro.

5.2.5 Dispersión dinámica de luz (DLS)

EL diámetro de partícula (Dp) de la lignina extraída de la cáscara de nuez se obtuvo utilizando la técnica de dispersión dinámica de luz (DLS) con un analizador de partícula Malvern Zetasizer (nano zs) a 25 °C. Para este análisis se utilizaron 2 disoluciones de 500 y 1000 ppm en metanol.

5.3 Evaluación del efecto bioestimulante de la lignina extraída de la cáscara de nuez en plántulas de tomate

5.3.1 Sitio Experimental.

El presente trabajo experimental se realizó en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en el Departamento de Horticultura, en un

invernadero tipo capilla de medidas 7 metros de ancho x 14 metros de largo de mediana tecnología, ubicado en la colonia Buenavista al sur de la ciudad de Saltillo, Coahuila en las coordenadas geográficas de 25° 21' 19" latitud N, y 101° 01' 49" longitud W a una altitud de 1777 metros sobre el nivel del mar.

5.3.2 Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos de 10 repeticiones cada una, siendo una planta una unidad experimental.

5.4. Trasplante.

Para la obtención de las plántulas de tomate, se sembraron semillas variedad floradade en charola de germinación de poliestireno de 128 cavidades, con sustrato 1:1 de de perlita y peat moss, colocando 2 semillas por cavidad, estas fueron colocadas en cámara bioclimática a temperatura de 28 °C, en oscuridad hasta la germinación. A las cuatro semanas posteriores a la siembra fueron trasplantadas a macetas de 500 mL de poliestireno con sustrato más perlita en proporción 1:1.

5.5. Fertilización y Riego.

Estas fueron regadas y nutridas con (100 ml) aplicando solución Steiner al 25% diariamente de forma manual con un pH de 6.3 y una conductividad eléctrica de 2 dS/m.

Cuadro 1. Concentraciones de la solución nutritiva según (Steiner, 1961)

| Macronutrientes | Miliequivalentes (Meq) |
|--|------------------------|
| KH ₂ PO ₄ | 1 |
| MgSO ₄ .7H ₂ O | 4 |
| Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O | 9 |
| KNO ₃ | 12 |
| K ₂ SO ₄ | 7 |

| Micronutrientes | Partes por millón (ppm) |
|-------------------|-------------------------|
| HBO ₃ | 0.5 |
| MnSO ₄ | 0.7 |
| ZnSO ₄ | 0.09 |
| CuSO ₄ | 0.02 |
| Fe quelado | 3 |

5.6.Tratamientos.

El experimento consistió en aplicar cuatro diferentes concentraciones de lignina: 0, 10, 50 y 100 ppm, por aspersión foliar a 10 plántulas por cada una de estas. Se inició el día del trasplante, y se repitió una vez por semana por cuatro semanas.

Estas plántulas tuvieron una distribución completamente aleatorizada, siendo una unidad experimental una plántula.

5.4.Muestreo.

Se realizó un muestreo completamente al azar, a las cinco semanas posteriores al trasplante, un día posterior a la aplicación del último tratamiento. Se tomaron 5 plántulas completas de cada tratamiento para la medición de las variables de crecimiento, de modo no destructivo: número de folíolos, número de hojas compuestas, área foliar, diámetro del tallo, altura de la plántula, longitud de raíz. De modo destructivo: peso fresco de hojas, raíz , tallo y peso fresco total, peso seco de hojas, tallo, raíz y peso seco total.

5.5.Biomasa fresca y seca

Las plantas se dividieron en tallo, raíz y hojas y se pesaron utilizando una balanza digital, registrando el peso fresco. Posteriormente se colocaron en un horno de secado por 76 horas a una temperatura de 76°C para luego pesarse y registrar nuevamente el peso seco expresado en gramos.

VI. RESULTADOS

6.1 Caracterización de la cáscara de nuez

6.1.1 Análisis termogravimétrico

El análisis termogravimétrico (TGA) proporcionó información puntual sobre la pérdida de masa de la cáscara de nuez en función de la temperatura cuando esta se calienta en una atmósfera controlada. El contenido del material lignocelulósico obtenido se muestra en la Tabla 1, mediante las curvas DTG que se obtiene a partir de la primera derivada de la curva TGA.

***Cuadro 2.** Contenido de material lignocelulósicos en la cáscara de nuez*

| | (%) | | (%) |
|------------------|------|--------------|------|
| Humedad | 10.2 | Hemicelulosa | 19.2 |
| Material volátil | 60.7 | Celulosa | 20.1 |
| Cenizas | 29.1 | Lignina | 15.6 |

6.1.2 Resonancia magnética nuclear de protón (¹H NMR)

En la Figura 2 se muestra el espectro de ¹H NMR de la muestra de lignina extraída de la cáscara de nuez, así como también la estructura química simplificada de la lignina para la identificación de las señales más importantes. De forma adicional se presenta una comparación del espectro del producto de extracción de la cáscara de nuez de este trabajo y un espectro de la lignina reportado por (F. Xu et al 2006), y se puede apreciar la gran similitud de señales que existe entre ambos espectros, lo cual confirma la exitosa obtención de lignina a partir del método de extracción bajo condiciones suaves reportadas en este trabajo.

Al tratarse de un polímero natural, la estructura de la lignina no está bien definida, y esto se evidenció mediante la aparición de muchas señales, de las cuales se lograron identificar las más importantes; en la región de 6.2 a 7.5 ppm las señales

correspondientes a los protones aromáticos de la lignina, específicamente a los atribuidos a las estructuras conocidas como “syringylpropane” y “guaiacylpropane” (O,Faix, et al 1992), Por otro lado, la señal que abarca aproximadamente de 3.5 a 4.0 ppm es atribuida a los protones de los grupos metoxi (CH₃-O-) que se encuentran distribuidos en diferentes posiciones en toda la estructura general de la lignina. Existen algunos grupos hidrocarbonados alifáticos en la compleja estructura de la lignina, principalmente en las cadenas laterales de la lignina, y éstos son observables en la región de 0.8 a 2.0 ppm.

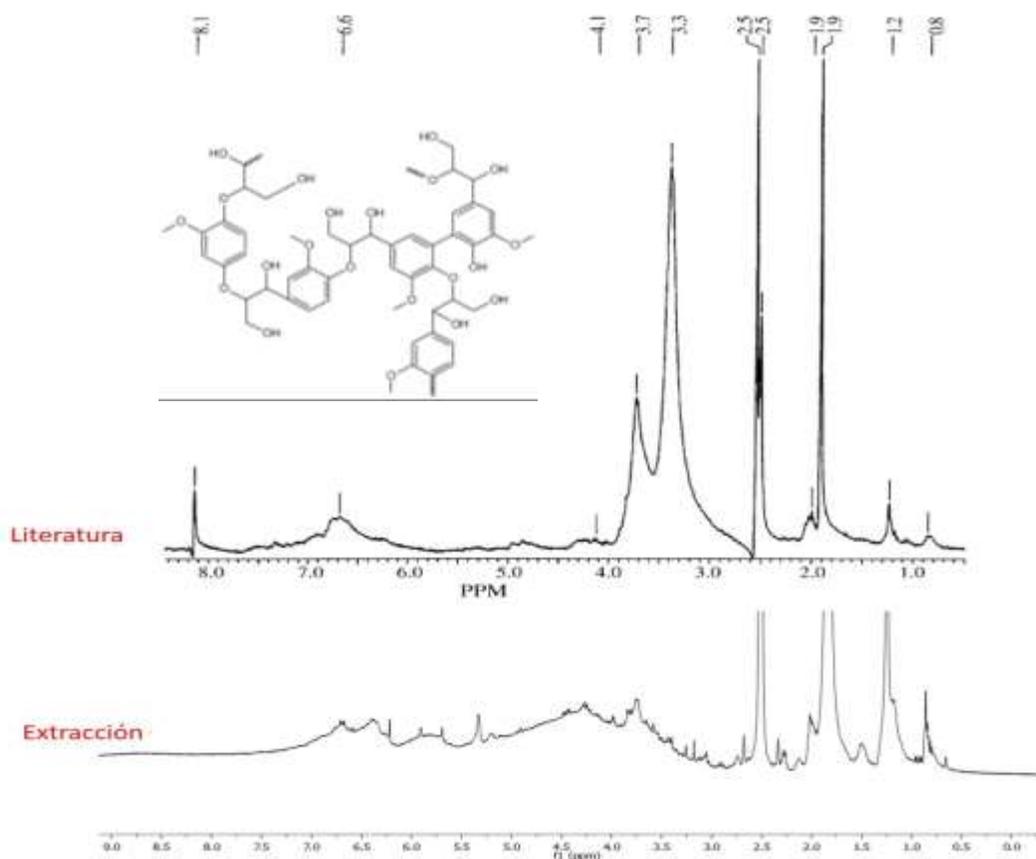


Figura 2. Espectro de la resonancia magnética nuclear de protón de las muestras de lignina.

6.1.3 Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

La muestra de lignina analizadas por FTIR evidenciaron la presencia de grupos funcionales característicos de este polímero como: hidroxilos fenólicos y estructuras alifáticas en la banda ancha de 3500 a 3350 cm^{-1} . Las bandas centradas alrededor 2927 a 2848 cm^{-1} que surge predominantemente del estiramiento del C-H en los grupos metoxilo aromáticos y en los grupos metilo y metileno de las cadenas laterales. Las bandas observadas en el rango de los 1700 cm^{-1} indican la presencia de grupos carbonilos no conjugados. Específicamente, las bandas a 1716 y 1711 cm^{-1} son atribuidas a la esterificación de los grupos fenol y alcoholes de la cadena de propano ($\text{C}\alpha$ y $\text{C}\gamma$) durante el proceso de extracción usando ácido acético y fórmico. La vibración del esqueleto aromático de la lignina se registró en el rango de bandas de 1559-1607 cm^{-1} . Las señal correspondientes en el rango de 1240 se debe al estiramiento de unidades guaiacil(G), por otra parte también se pueden apreciar deformaciones de estas unidades en 1020 cm^{-1} , las señales en el rango de 820 cm^{-1} representa las vibraciones del plano C-H de las unidades de guaiacil, finalmente se observan flexiones asimétricas de los grupos HC-CH, tal como se muestran en la Figura 3. Los resultados obtenidos de este análisis están en buen acuerdo con investigaciones previas reportadas por. O,Faix et al 1991 , Negrão et al 2015 y L.M. Kline et al 2010.

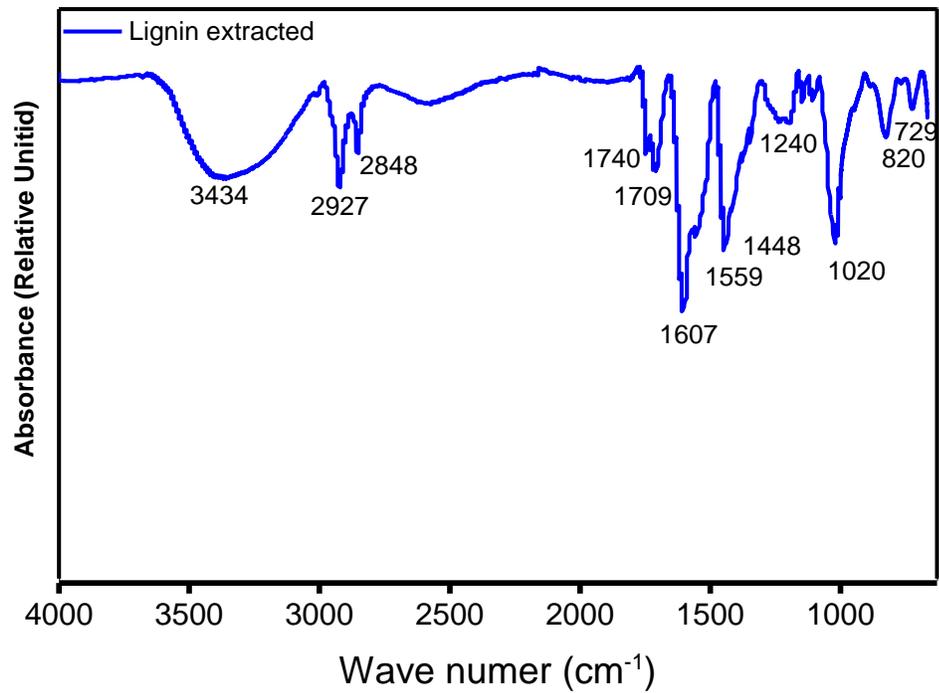


Figura 3. Espectro FTIR de la lignina extraída de la cáscara de nuez.

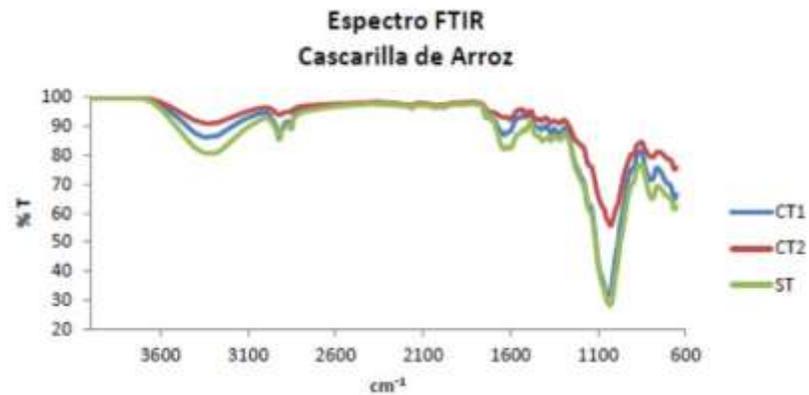


Figura 4. Espectro FTIR de la cascarilla de arroz, sin y con tratamiento por explosión de vapor (Naveda Rengifo, et al.2019)

Cuadro 3. Assignment of infrared spectral bands for lignin (L.M. Kline et al 2010).

| Observed Peaks (cm⁻¹) | Peak Assignment |
|---|--|
| 1707-1691 | Unconjugated carbonyl stretching of aldehyde/ketone groups |
| 1615-1600 | C=C stretching of aromatic ring in lignin |
| 1567 | C=O stretching (ionic compounds only) |
| 1515-1511 | C=C stretching of aromatic ring in lignin |
| 1460-1459 | C-H bending of methyl and methylene groups |
| 1425-1423 | C-H deformation in lignin |
| 1327-1323 | C=O stretching of the syringyl unit |
| 1267 | C-O stretching of guaiacyl unit |
| 1219-1211 | C-C, C-O, and C=O stretching of guaiacyl unit |
| 1167 | C-O stretching of ester group |
| 1123-1110 | Aromatic C-H deformation of syringyl units |
| 1031-1015 | C-O stretching of primary alcohols |
| 983 | CH=CH bending |
| 911 | C-H bending of syringyl units, aromatic ring |
| 899 | C-H deformation vibration of cellulose |
| 835-815 | C-H bending of syringyl units |
| 755 | Asymmetric bending of HCCH group |

6.1.4 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Dispersión de rayos X.

La Figura 5. Presenta las micrografías SEM de la lignina extraída de la cáscara de nuez a diferentes magnificaciones, obtenidas con electrones secundarios. Se puede observar una morfología irregular en forma y tamaño, este tipo de morfología es muy similar a la obtenida en la lignina-sosa Pua *et al.* (2011), caso contrario para la lignina kraft de Sigma Aldrich que presenta morfologías definidas de forma redondeadas o

semiesférica Kohnke *et al.* (2019). De acuerdo con estudios previos las morfologías de forma esférica tienen una mayor estabilidad termodinámica comparada con otras formas de partículas Fierro V *et al.* (2006). La morfología obtenida bajo estas condiciones puede explicarse debido al proceso de molienda.

Por otra parte, la micrografía SEM a mayores magnificaciones evidencia una superficie rugosa sin la presencia de microdefectos como grietas o porosidad, además, se logra observar aglomeraciones de partículas.

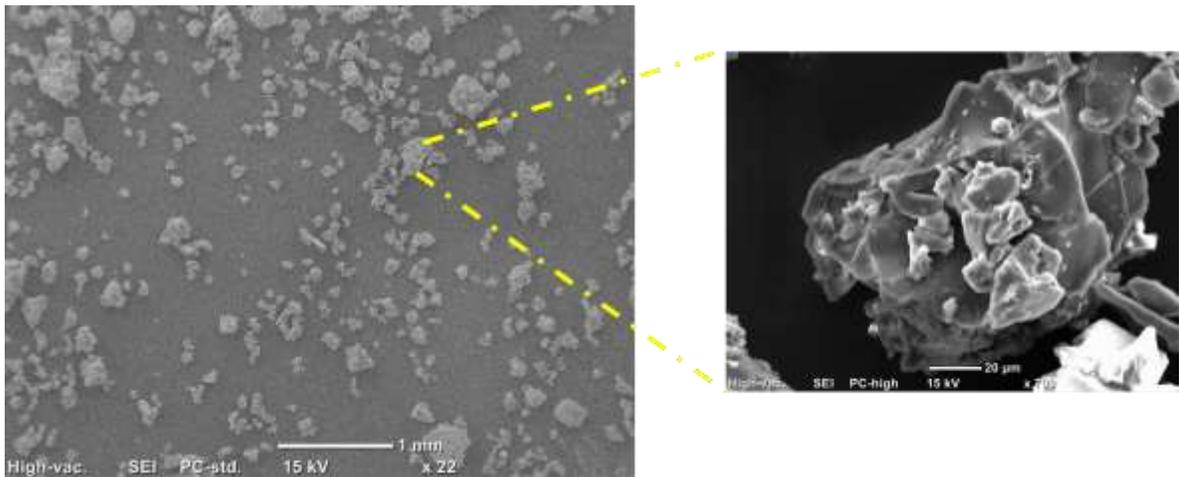


Figura 5. Micrográficas SEM de la lignina obtenida de la cascara de nuez.

El análisis elemental obtenido mediante EDS se presenta en la figura 6. Muestra que la lignina está compuesta principalmente por C y O con pequeñas trazas de Cl, Al, Mg, Na, K y Ca. La presencia de estos elementos se debe principalmente a trazas de cenizas que quedan en la lignina provenientes de la biomasa de extracción. La predominante presencia del carbono y oxígeno está en buen acuerdo con la estructura de la lignina, ya que presenta grupos funcionales a base de carbono y por enlaces de tipo carbono-carbono, carbono-oxígeno y carbono-hidrógeno. La lignina generalmente presenta un alto contenido de carbono que puede variar entre el 50 y 75% en Kohnke *et al.* (2019). Lo cual es consistente con lo reportado en este trabajo, evidenciando un contenido de carbono del 76.5%.

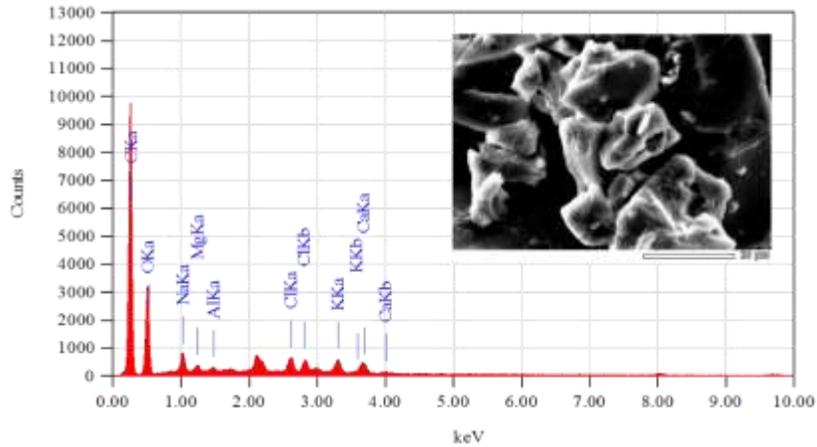


Figura 6. Análisis elemental obtenido mediante EDS

6.1.4 Dispersión dinámica de luz (DLS)

La Figura 7. Muestra la distribución del diámetro de partícula obtenido mediante DLS, el cual mide las fluctuaciones de la intensidad de la dispersión en función del tiempo. Se puede observar una distribución que ronda de 10 a 70 nm de diámetro de partículas para las disolución de 500 y 1000 ppm, sin embargo, ambas disoluciones presentan diámetros de partícula en el mismo orden de magnitud presentando un diámetro promedio de 47 y 33 nm.

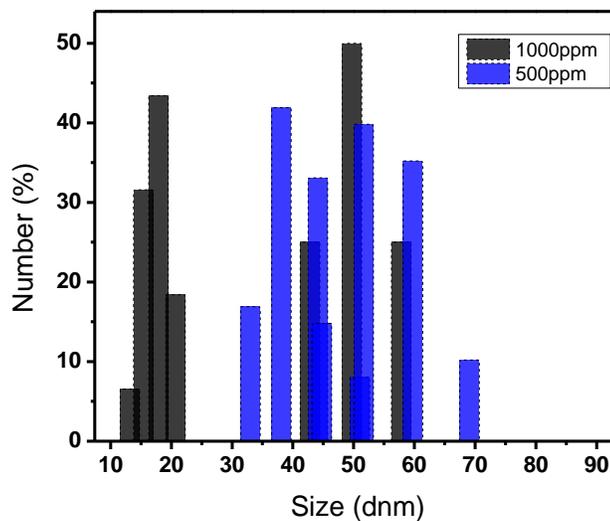


Figura 7. Distribución de tamaño de partícula de la lignina.

6.2 Efecto bioestimulante sobre el crecimiento de las plántulas de tomate

La aplicación de las tres concentraciones de lignina obtenida de las cáscaras de nuez evidenciaron un incremento en la altura de las plántulas en comparación con las plántulas testigo. Sin embargo, se puede observar una tendencia en relación a dicho incremento; a mayor concentración menor incremento, siendo que el el tratamiento de 10 ppm evenció un 34.98%, el de 50 ppm 31% y el de 100 ppm 17.62%. Fenómeno contrario a lo sucedido respecto al número de hojas compuestas, en donde a mayor concentración, mayor número de hojas. En donde 50 y 100 ppm evidenciaron un incremento estadísticamente significativo del 26 y 38% resectivamente. El área foliar y el diámetro del tallo no evidenciaron cambios tras la aplicación de los tratamientos, tal como se puede observar en el cuadro 4.

Cuadro 8. Resultados obtenidos sobre variables no destructivas del crecimiento de las plántulas.

| Tratamiento | Hoja compuesta | Área foliar | Diámetro del tallo | Altura |
|-------------|----------------|-------------|--------------------|----------------|
| Testigo | 32.2 c | 36.16 a | 0.77 a | 23.04 c |
| lignina 10 | 36.4 bc | 26.55 a | 0.78 a | 31.10 a |
| lignina 50 | 40.6 ab | 17.52 a | 0.79 a | 30.20 a |
| lignina 100 | 44.6 a | 18.25 a | 0.79 a | 27.10 b |

En el Cuadro 5 se muestran los resultados obtenidos de las variables de biomasa en fresco y seco de cada órgano vegetal, así como la total. Y se encontró que la aplicación de las tres concentraciones de lignina (10, 50 y 100 ppm) promueven el incremento en el peso seco total y el peso seco de la radícula. Adicionalmente, la aplicación de la

lignina en concentración de 50 ppm evidenció un incremento en el peso fresco y seco del tallo.

Cuadro 5. Resultados obtenidos sobre variables destructivas del crecimiento de las plántulas.

| Tratamiento | FWL | FWS | FWR | DWL | DWS | DWR | DWT | FWT |
|-------------|---------|----------------|---------------|--------|---------------|--------|----------------|--------|
| testigo | 24.67 a | 35.54 c | 3.80 b | 3.19 a | 2.78 b | 1.34 a | 64.00 b | 7.31 a |
| lignina 10 | 24.14 a | 41.21 ab | 8.95 a | 3.03 a | 3.05 ab | 1.16 a | 74.29 a | 7.24 a |
| lignina 50 | 24.33 a | 44.38 a | 7.97 a | 2.94 a | 3.36 a | 1.25 a | 76.67 a | 7.54 a |
| lignina 100 | 25.51 a | 39.43 bc | 8.49 a | 3.08 a | 3.04 ab | 1.22 a | 73.44 a | 7.35 a |

VII.DISCUSIÓN

Para lograr la extracción y separación de la lignina del material madre, existen una amplia diversidad de métodos físicos, químicos, térmicos y biológicos (Liao et al. 2020), pero a la fecha, las técnicas más utilizadas debido a sus altos rendimientos obtenidos, son aquellas que emplean ácidos o bases fuertes a altas temperaturas como la pulp kraft e hidrólisis ácida, en donde el efecto de sustentabilidad y reuso de materiales se ve disminuido (Sturgeon et al. 2014). En el presente trabajo de investigación se logró obtener y purificar el 15% de lignina que se encontró en la cáscara de nuez, con una mezcla suave entre ácido acético y agua para ser aplicado en las plántulas de tomate.

Uno de los indicadores más evidentes de la estimulación del metabolismo vegetal es el crecimiento; este proceso puede evaluarse a través de diversas variables, siendo una de las más destacadas la biomasa vegetal (Savy & Cozzolino, 2022). En este estudio, se encontró un incremento en el peso seco total, peso seco de la raíz, altura y número de hojas compuestas con las diferentes concentraciones de lignina aplicadas a las plántulas. Aunque, actualmente las investigaciones sobre el uso de la lignina como bioestimulante vegetal son limitadas, se ha probado el uso de este polímero en la agricultura como acarreador de pesticidas y fertilizantes (Ahmad et al. 2021), otra

investigación encontró que la molécula de lignina podría imitar la función de señalización de los reguladores de crecimiento aromáticos, como el ácido indolacético, lo cual podría contribuir a su efecto estimulante (Savy & Cozzolino, 2022).

Sin embargo, la acción directa de bioestimulación de la lignina u oligómeros de esta, pudieran estar relacionada con la reactividad de sus diversos grupos funcionales, que esta macromolécula altamente ramificada contiene, como los hidroxilos aromáticos, alifáticos, metoxy, carboxily carbonil (Tarrés et al. 2022). Estos podrían afectar el metabolismo redox de las plantas y otorgar una mejora en la tasa fotosintética y por lo tanto mayor producción de biomasa (Kok et al. 2021). Por último, es importante mencionar la posibilidad de utilizar los monómeros de la lignina para la síntesis de moléculas relacionadas con la defensa de las plantas, la fotosíntesis y la estructura de la pared celular. Estos hallazgos resaltan el potencial que la lignina en diversas aplicaciones relacionadas con la salud y el desarrollo de las plantas.

VIII.CONCLUSIÓN

Se logró obtener un alto rendimiento de lignina (15% p/p) de las cáscaras de nuez con el uso de solventes suaves, y al ser aplicada a diferentes concentraciones (10, 50 y 100 ppm) se evidenció su efecto bioestimulante mediante un incremento en el crecimiento de las plántulas de tomate; un mayor número de hojas compuestas con 50 y 100 ppm, el peso fresco del tallo incrementó con 10 y 50 ppm, la altura y la biomasa en fresco aumentó con las tres concentraciones (10, 50 y 100).

IX.BIBLIOGRAFIA

Ahmad, Umme Marium, Na Ji, Hanyang Li, Qiong Wu, Chunfeng Song, Qingling Liu, Degang Ma, and Xuebin Lu. 2021. "Can Lignin Be Transformed into Agrochemicals? Recent Advances in the Agricultural Applications of Lignin." *Industrial Crops and Products* 170(April).

- Barros, J., Serk, H., Granlund, I., & Pesquet, E. 2015. The cell biology of lignification in higher plants. *Annals of Botany*, 115(7), 1053- 1074. doi: 10.1093/aob/mcv046
- Carnachan, S. M., & Harris, P. J. 2000. Ferulic acid is bound to the primary cell walls of all gymnosperm families. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(9), 865-879. doi: 10.1016/S0305-1978(00)00009-0
- Chen, F., Tobimatsu, Y., Jackson, L., Nakashima, J., Ralph, J., & Dixon, R. A. 2013. Novel seed coat lignins in the Cactaceae: structure, distribution and implications for the evolution of lignin diversity. *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology*, 73(2), 201-211. doi: 10.1111/tpj.12012
- Chio, Chonlong, Mohini Sain, and Wensheng Qin. 2019. "Lignin Utilization: A Review of Lignin Depolymerization from Various Aspects." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 107(February):232–49.
- De Souza, R. E., Gomes, F. J. B., Brito, E. O., Costa-Lelis, R. C., Ribas-Batalha, L. A., Almeida-Santos, F., & Longue-Junior, D. 2020. A review on lignin sources and uses. *Journal of Applied Biotechnology and Bioenergy*, 7, 100-105. doi: 10.15406/jabb.2020.07.00222
- Díez, David, Ana Urueña, Raúl Piñero, Aitor Barrio, and Tarja Tamminen. 2020. "And Lignin Content in Different Types of Biomasses by Thermogravimetric Analysis and Pseudocomponent Kinetic Model." *Processes* 8(1048):1–21.
- Do, C.-T., Pollet, B., Thévenin, J., Sibout, R., Denoue, D., Barrière, Y.,...Jouanin, L. 2007. Both caffeoyl Coenzyme A 3-O-methyltransferase 1 and caffeic acid O-methyltransferase 1 are involved in redundant functions for lignin, flavonoids and sinapoyl malate biosynthesis in Arabidopsis. *Planta*, 226(5), 1117- 1129. doi: 10.1007/s00425-007-0558-3
- Ekpo, I., Ogali, R., Ofodile, S., & Achugasim, O. 2016. Comparison of biomass content for the evaluation of cellulosic ethanol fuel production from predominant perennial grasses in south-south, Nigeria. *International Journal of Applied Science and Technology*, 6(2), 38-46.
- Espinoza-Acosta, J. L., Torres-Chávez, P. I., Carvajal-Millán, E., Ramírez-Wong, B., Bello-Pérez, L. A., and Montaño-Leyva, B. 2014. "Ionic liquids and organic solvents for

- recovering lignin from lignocellulosic biomass.” *BioResources*, 9(2), 3660-3687. DOI: 10.15376/biores.9.2.3660-3687
- Gill, S. S., & Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry : PPB*, 48(12), 909-930. doi: 10.1016/j.plaphy.2010.08.016
- Grabber, J. H. 2005. How do lignin composition, structure, and cross-linking affect degradability? A review of cell wall model studies. *Crop Science*, 45, 820-831. doi: 10.2135/cropsci2004.0191
- Hong, Si, Xiao Jun Shen, Bo Pang, Zhimin Xue, Xue Fei Cao, Jia Long Wen, Zhuo Hua Sun, Su Shiung Lam, Tong Qi Yuan, and Run Cang Sun. 2020. “In-Depth Interpretation of the Structural Changes of Lignin and Formation of Diketones during Acidic Deep Eutectic Solvent Pretreatment.” *Green Chemistry* 22(6):1851–58.
- Kang, X., Kirui, A., Dickwella Widanage, M. C., Mentink-Vigier, F., Cosgrove, D. J., & Wang, T. 2019. Lignin-polysaccharide interactions in plant secondary cell walls revealed by solid-state NMR. *Nature Communications*, 10(1), 347. doi: 10.1038/s41467-018-08252-0
- Kok, Andrew De Xian, Wan Muhamad Asrul Nizam Wan Abdullah, Chu Nie Tang, Lee Yoon Low, Mohd Hafis Yuswan, Janna Ong-Abdullah, Ngai Paing Tan, and Kok Song Lai. 2021. “Sodium Lignosulfonate Improves Shoot Growth of *Oryza Sativa* via Enhancement of Photosynthetic Activity and Reduced Accumulation of Reactive Oxygen Species.” *Scientific Reports* 11(1):1–13.
- Kortenska VD, Yanishlieva NV, Kasaikina OT, Totzeva IT, Boneva MI, Russina IF. 2002. "Phenol antioxidant efficiency in various lipid substrates containing hydroxy compounds," *European Journal of Lipid Science and Technology* 104(8):513-519.
- Koutaniemi, S., Malmberg, H. A., Simola, L. K., Teeri, T. H., & Kärkönen, A. 2015. Norway spruce (*Picea abies*) laccases: characterization of a laccase in a lignin-forming tissue culture. *Journal of Integrative Plant Biology*, 57(4), 341-348. doi: 10.1111/jipb.12333

- Lewis, N. G., & Yamamoto, E. 1990. Lignin: occurrence, biogenesis and biodegradation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 41, 455-496. doi: 10.1146/annurev.pp.41.060190.002323
- Liao, Jing Jing, Nur Hanis Abd Latif, Djalal Trache, Nicolas Brosse, and M. Hazwan Hussin. 2020. "Current Advancement on the Isolation, Characterization and Application of Lignin." *International Journal of Biological Macromolecules* 162:985–1024.
- Lucas, W. J., Groover, A., Lichtenberger, R., Furuta, K., Yadav, S. R., Helariutta, Y., ... Kachroo, P. 2013. The plant vascular system: evolution, development and functions. *Journal of Integrative Plant Biology*, 55(4), 294-388. doi: 10.1111/jipb.12041
- Lu, F., & Ralph, J. 2010. Lignin. In Run-Cang (Ed.), *Cereal Straw as a Resource for Sustainable Biomaterials and Biofuels* (pp. 169-207). doi: 10.1016/B978-0-444-53234-3.00006-7
- Monardes, H. (2009). 1. IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL CULTIVO EN LA REGIÓN, PAÍS Y EL MUNDO. Manual de cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), 5.
- Naveda Rengifo, R. A., Jorge Montalvo, P. A., Flores del Pino, L., & Visitación Figueroa, L. (2019). Remoción de lignina en el pretratamiento de cascarilla de arroz por explosión con vapor. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 85(3), 352-361.
- Orona Castillo, Ignacio, Dora Ma. Sangerman-Jarquín, María Gabriela Cervantes Vázquez, José De Jesús Espinoza Arellano, and Jesús Humberto Núñez Moreno. 2019. "La Producción y Comercialización de Nuez Pecanera En México." *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 10(8):1797–1808.
- Pouteau, C., Dole, P., Cathala, B., Averous, L., and Boquillon, N. 2003. "Antioxidant properties of lignin in polypropylene." *Polymer Degradation and Stability*, 81(1), 9-18. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(03\)00057-0](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(03)00057-0)
- Ralph, J. 2010. Hydroxycinnamates in lignification. *Phytochemistry Reviews*, 9(1), 65-83. doi: 10.1007/s11101-009-9141-9
- Ranum, Peter, Juan Pablo Peña-Rosas, and Maria Nieves Garcia-Casal. 2014. "Global Maize Production, Utilization, and Consumption." *Annals of the New York Academy of Sciences* 1312(1):105–12.

- Renault, H., Werck-Reichhart, D., & Weng, J. K. 2019. Harnessing lignin evolution for biotechnological applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 56, 105-111. doi: 10.1016/j.copbio.2018.10.011
- Ros Barceló, A., Gómez Ros, L. V., Gabaldón, C., López-Serrano, M., Pomar, F., Carrión, J. S., & Pedreño, M. A. 2004. Basic peroxidases: The gateway for lignin evolution? *Phytochemistry Reviews*, 3(1-2), 61-78. doi: 10.1023/B:PHYT.0000047803.49815.1a
- Sánchez, Carmen. 2009. "Lignocellulosic Residues: Biodegradation and Bioconversion by Fungi." *Biotechnology Advances* 27(2):185–94.
- Sirokmány, G., & Geiszt, M. 2019. The relationship of NADPH oxidases and heme peroxidases: Fallin' in and out. *Frontiers in Immunology*, 10(MAR). doi: 10.3389/fimmu.2019.00394
- Sterjiades, R., Dean, J. F. D., Gamble, G., Himmelsbach, D. S., & Eriksson, K. E. L. 1993. Extracellular laccases and peroxidases from sycamore maple (*Acer pseudoplatanus*) cell-suspension cultures - Reactions with monolignols and lignin model compounds. *Planta*, 190(1), 75-87. doi: 10.1007/BF00195678
- Sturgeon, Matthew R., Seonah Kim, Kelsey Lawrence, Robert S. Paton, Stephen C. Chmely, Mark Nimlos, Thomas D. Foust, and Gregg T. Beckham. 2014. "A Mechanistic Investigation of Acid-Catalyzed Cleavage of Aryl-Ether Linkages: Implications for Lignin Depolymerization in Acidic Environments." *ACS Sustainable Chemistry and Engineering* 2(3):472–85.
- Suarez-Jacobo, Angela, Efrain Obregon, Evaristo Urzua, and Jorge Alberto García-Fajardo. 2016. *Retos y Oportunidades Para El Aprovechamiento de La Nuez Pecanera En México*.
- Tarrés, Quim, Roberto Aguado, Juan Domínguez-Robles, Eneko Larrañeta, and Marc Delgado-Aguilar. 2022. "Valorization of Kraft Lignin from Black Liquor in the Production of Composite Materials with Poly(Caprolactone) and Natural Stone Groundwood Fibers." *Polymers* 14(23).

- Tuyet Lam, T. B., Iiyama, K., & Stone, B. A. (1992). Cinnamic acid bridges between cell wall polymers in wheat and phalaris internodes. *Phytochemistry*, 31(4), 1179-1183. doi: 10.1016/0031-9422(92)80256-E
- Weng, J. K., & Chapple, C. (2010). The origin and evolution of lignin biosynthesis. *New Phytologist*, 187(2), 273-285. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03327.x
- Zakzeski, J., Bruijninx, P. C. A., Jongerius, A. L., and Weckhuysen, B. M. (2010). "The catalytic valorization of lignin for the production of renewable chemicals." *Chemical Reviews*, 110(6): 3552-3599. <https://doi.org/10.1021/cr900354u>
- Zhao, Q., Nakashima, J., Chen, F., Yin, Y., Fu, C., Yun, J., ... Dixon, R. A. (2013). LACCASE is necessary and nonredundant with PEROXIDASE for lignin polymerization during vascular development in Arabidopsis. *Plant Cell*, 25(10), 3976-3987. doi: 10.1105/tpc.113.117770