



Universidad de Valladolid

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍAS
AGRÁRIAS**

**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGRÍCOLA Y
FORESTAL**

TESIS DOCTORAL:

**APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS
LIGNOCELULÓSICOS PARA LA
PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES Y
BIOPRODUCTOS**

Presentada por Viviane da Silva Lacerda para
optar al grado de
Doctora por la Universidad de Valladolid

Dirigida por:
Jesús Martín-Gil
Adriana Correa Guimarães

Santo Evangelio según san Mateo (25, 31-46)

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de todo este proceso, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por mostrarme día a día que con humildad, paciencia y sabiduría todo es posible.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mis directores de tesis, Dr. Jesús Martín Gil y la Dra. Adriana Correa Guimarães, por su apoyo en todas las etapas de la elaboración de esta Tesis.

También quiero agradecer el apoyo financiero recibido por parte de proyecto VA036A12-2, de la Junta de Castilla y León, y al programa de Formación del Personal Investigador (FPI-Uva)

INDICE DE CONTENIDOS

INDICE DE CONTENIDOS	II
ÍNDICE DE TABLAS	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
ÍNDICE DE SIGLAS Y ABREVIATURAS	XII
RESUMEN	XVI
ABSTRACT	XIX
1. INTRODUCCIÓN TEORICA	1
1.1. La biomasa lignocelulósica como materia prima para biorrefinería	2
1.1.1. Introducción	2
1.1.2. Composición de los materiales lignocelulósicos	2
1.1.3. Procesos de aprovechamiento de la biomasa residual: Biorrefinerías	8
1.2. Material precursor	11
1.2.1. Carnauba (<i>Copernicia prunifera</i> (Miller) H.E.Moore).....	11
1.2.2. Macaúba (<i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd. ex Mart.).....	14
1.2.3. Piñón (<i>Pinus pinea</i> L.).....	17
1.3. Procesos de producción de biocombustibles	19
1.3.1. Introducción	19
1.3.2. Pretratamiento de la biomasa lignocelulósica.....	20
1.3.3. Líquidos iónicos	29
1.3.4. Técnicas de Hidrólisis	31
1.4. Biomaterial: carbón activado	33
1.4.1. Antecedentes Históricos	33
1.4.2. Tipos de carbón activado.....	34
1.4.3. Características Físicas: Importancia de los poros	37
1.4.4. Características Químicas: Estructura química del carbón activado	38
1.4.5. Procesos de Activación	40
1.4.6. Adsorción.	46
1.4.7. Usos y aplicaciones del Carbón Activado	48
1.5. Referencias	50
2. MARCO Y OBJETIVOS DE LA TESIS	64
2.1. Marco de referencia del proyecto de tesis	65
2.1.1. Elección del material lignocelulósico	67
2.1.2. Elección de los métodos síntesis para la producción de furanos y azúcares reductores totales... ..	69
2.1.3. Producción de carbón activado a partir de residuos lignocelulósicos.....	75
2.1.4. Estudio integrado de adsorción de colorantes y hidrólisis enzimática	79
2.2. Objetivos	82
2.3. Referencias	86

3. A KINETIC STUDY ON MICROWAVE-ASSISTED CONVERSION OF CELLULOSE AND LIGNOCELLULOSIC WASTE INTO HMF/FURFURAL.. 91

3.1. Abstract	92
3.2. Introduction	93
3.3. Materials and methods	94
3.3.1. Materials	94
3.3.2. Optimization of the hydrolysis process for HMF and furfural production	95
3.3.3. Analytical methods	96
3.4. Results and discussion	97
3.4.1. Effect of the ionic liquid, catalyst and organic diluent on the conversion of native cellulose into HMF and furfural	97
3.4.2. Effect of water dosage on HMF and furfural production, from native cellulose and lignocellulosic waste	99
3.4.3. Effect of time and temperature on furan compounds production from native cellulose and lignocellulosic materials	101
3.4.4. Kinetic study of the effect of time and temperature on the separate production of furfural and HMF from native cellulose and lignocellulosic materials	103
3.4.5. Changes in the functional parameters of the process: ultrasonic treatment and stirring	108
3.5. Conclusion	109
3.6. Acknowledgements	110
3.7. References	110

4. EFFICIENT MICROWAVE-ASSISTED ACID HYDROLYSIS OF LIGNOCELLULOSIC MATERIALS INTO TOTAL REDUCING SUGARS IN IONIC LIQUIDS.....114

4.1. Abstract	115
4.2. Introduction	116
4.3. Material and methods	117
4.3.1. Raw materials and reagents	117
4.3.2. Characterization of the raw lignocellulosic waste	118
4.3.3. Microwave-assisted acid-catalyzed hydrolysis procedure	118
4.3.4. Analysis	119
4.4. Results and discussion	119
4.4.1. Characterization of the raw lignocellulosic biomass	119
4.4.2. Assessment of the effect of type of acid	121
4.4.3. Influence of acid concentration	123
4.4.4. Impact of the ionic liquid choice	124
4.4.5. Effects of temperature and time on the reaction yields	126
4.4.6. Kinetic study of TRS production	127
4.4.7. Optimal conditions for each type of biomass	130
4.5. Conclusion	130
4.6. Acknowledgments	131
4.7. References	131

5.RHODAMINE B REMOVAL WITH ACTIVATED CARBONS OBTAINED FROM LIGNOCELLULOSIC WASTE	136
5.1.Abstract	137
5.2.Introduction	138
5.3.Materials and methods	139
5.3.1.Precursor materials	139
5.3.2.Activated carbon preparation.....	139
5.3.3.Physico-chemical characteristics of the activated carbons	140
5.3.4.RhB adsorption assays.....	141
5.4.Results and discussion	142
5.4.1.Thermal analysis.....	142
5.4.2.Activated carbon characterization	143
5.4.3.Effect of pH on RhB adsorption capacity	150
5.4.4.Effect of activated carbon dosage on adsorption	151
5.4.5.Impact of contact time on RhB removal.....	152
5.4.6.Effect of dye initial concentration and solution temperature.....	153
5.4.7.Kinetic study.....	154
5.4.8.Adsorption isotherms.....	156
5.4.9.Thermodynamic parameters	159
5.4.10.Preliminary assessment of the effect of cellulose content on RhB removal	160
5.5.Conclusions	161
5.6.Acknowledgements	162
5.7.References	162
6.AN EXAMPLE LIGNOCELLULOSIC WASTE REUSE IN TWO CONSECUTIVE STEPS: SORPTION OF CONTAMINANTS AND ENZYMATIC HYDROLYSIS...	169
6.1.Abstract	170
6.2.Introduction	171
6.3.Material and methods.....	172
6.3.1.Characterization of lignocellulosic waste	172
6.3.2.Rhodamine B adsorption experiments	173
6.3.3.Saccharization or enzymatic hydrolysis	173
6.3.4.Analytical methods.....	174
6.4Results and Discussion.....	175
6.4.1.Biomass characterization.....	175
6.4.2.Effects of contact time on Rhodamine-B adsorption.....	177
6.4.3.Effects of initial concentration and temperature on Rhodamine-B absorption.....	179
6.4.4.Liquid phase composition analysis after enzymatic hydrolysis of the lignocellulosic materials	182
6.4.5.Characterization of the solid phase before and after the enzymatic hydrolysis by XRD and FTIR .	185
6.5. Conclusion	187
6.6. Acknowledgments.....	188
6.7. References	188

7.RESUMEN DE RESULTADOS	195
7.1.Resumen de resultados	196
7.2.Referencias	207
8. CONCLUSIONES GENERALES	212
8.1.Conclusiones generales	213
9. LÍNEAS DE FUTURO	217
9.1.Líneas de futuro	218

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Las principales hemicelulosas en maderas	7
Tabla 1.2. Tabla 1.2. Clasificación taxonómica y ejemplar de Palma Copernicia prunifera (Miller) H.E.Moore	12
Tabla 1.3. Clasificación taxonómica y ejemplar de Palma Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd. ex Mart.	15
Tabla 1.4. Clasificación taxonómica y ejemplar de pino Pinus pinea L.	17
Tabla 1.5. Ventajas y desventajas de la hidrólisis ácida	24
Tabla 1.6. Comparación entre los métodos de hidrólisis ácida concentrado y diluido	32
Tabla 1.7. Ventajas y desventajas del método físico de activación	42
Tabla 1.8. Activación química usando diferentes agentes activadores	43
Tabla 1.9. Ventajas y desventajas del método químico de activación	45
Tabla 1.10. Principales diferencias entre adsorción física y adsorción química (Teixeira et al., 2001)	46
Tabla 1.11: Aplicación de carbón activado para la adsorción de varios contaminantes en fase líquida y gaseosa	49
Tabla 2.1. Diferentes catalizadores para la conversión de HMF y furfural	72
Tabla 2.2. Parámetros analizados en los capítulos 3 y 4, para la producción de biocombustibles	73
Tabla 2.3. Hidrólisis ácida utilizando diferentes ácidos para la producción de azúcares reductores	74
Tabla 2.4. Rendimientos de azúcares reductores totales cuando se utiliza hidrólisis enzimática	81
Table 3.1. Hydrolysis of native cellulose using different ionic liquids and catalysts.	99
Table 3.2. Kinetic parameters for HMF and furfural production from native cellulose and lignocellulosic waste materials	105
Table 4.1. Components and crystallinity index for the lignocellulosic materials under study.	121

Table 4.2. Total reducing sugars (TRS) (%) and HMF/Furfural (HMF+Fur) (mg•L-1) yields attained by microwave-assisted acid-catalyzed hydrolysis (120°C, 30 min, ChCl/urea reaction medium)	122
Table 4.3. Kinetic and statistical parameters for total reducing sugars production by microwave-assisted HNO ₃ (10%)-catalyzed hydrolysis at 120°C.	129
Table 5.1. Elemental analysis of the precursor materials and the activated carbons	143
Table 5.2. Components for the lignocellulosic materials under study	144
Table 5.3. Textural parameters for the carbonaceous materials and their precursors, obtained from the N ₂ adsorption isotherm using standard conditions at 77K	148
Table 5.4. Kinetic parameters for rhodamine B adsorption for the different activated carbons under study	155
Table 5.5. Adsorption isotherm parameters for rhodamine B adsorption for the different activated carbons under study	157
Table 5.6. Comparison of the maximum monolayer adsorption for RhB for the different activated carbons	158
Table 5.7. Thermodynamic parameters for RhB adsorption for the different activated carbons under study	160
Table 6.1. Physical properties and chemical-adsorption characteristics of the materials under study	176
Table 6.2. Kinetic parameters for absorption of RhB onto different materials	179
Table 6.3. Isotherm parameters for Rhodamine B (RhB) biosorption onto different materials	182
Table 6.4. Liquid phase composition after the enzymatic hydrolysis of the different materials, before and after adsorption	184
Table 6.5. Crystallinity indices from DRX data	186

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Disposición espacial de hemicelulosa, celulosa y lignina en las paredes celulares de la biomasa lignocelulósica.	3
Figura 1.2. Celulosa	4
Figura 1.3. Ejemplo de una posible estructura de la lignina	5
Figura 1.4. Radicales de las unidades básicas de los monolignoles, a) p-hidroxifenilo; b) guayacilo y c) siringilo	5
Figura 1.5. Estructura de xilano a partir de madera dura (O-acetil-4-metil glucuronoxilano)	7
Figura 1.6. Procesos de la conversión de la biomasa en las biorefinerías	10
Figura 1.7. Especies de Carnauba más conocidas presentes en Sudamérica	13
Figura 1.8. Distribución geográfica de la especie <i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd. ex Mart.	16
Figura 1.9. Distribución del <i>Pinus pinea</i> L. en Europa	19
Figura 1.10. Diagrama esquemático del efecto de proceso de pretratamiento de la biomasa lignocelulósica	19
Figura 1.11. Cationes comunes utilizados en líquidos iónicos modernos Fuente: (Brandt et al., 2013)	29
Figura 1.12. Aniones comunes utilizados en líquidos iónicos modernos. Fuente: Brandt et al. (2013)	30
Figura 1.13. Formas más comunes del carbón activado	35
Figura 1.14. Arreglo de los átomos de carbón activado	36
Figura 1.15. Clasificación de los poros según la IUPAC	37
Figura 1.16. Representación de una sección transversal de un material poroso	38
Figura 1.17. Algunos grupos superficiales de oxígeno en carbones activados	39
Figura 1.18. Procesos para la producción de carbón activado a través de activación física	41
Figura 1.19. Diagrama de la activación química	44
Figura 1.20. Tipos de isothermas de adsorción según IUPAC.	47
Figura 2.1. Esquema resumido de los temas investigados en la tesis, separados por capítulos	67
Figura 2.2. Esquema de parámetros de reacción de los capítulos 3 y 4	70
Figura 2.3. Procesos realizados en la producción, caracterización y estudio del carbón activado, con los objetivos y fases de estudio (capítulo 5)	76
Figura 2.4. Esquema de los pasos realizados en el estudio integrado (adsorción e hidrólisis) en el capítulo 6	79
Figure 3.1. HMF+furfural production yields for different water doses (from 1 mL to 5 mL). Experimental conditions: 0.1 g of substrate, 5 mL of ChCl/ox ionic liquid, microwave treatment at 140°C for 30 minutes.	100

Figure 3.2. Influence of time and temperature on HFM+furfural production yields for: (a) carnauba leaves, (b) macauba shell, (c) macauba pulp, (d) pine nut shell and (e) native cellulose. Experimental conditions: 5 mL of ChCl/ox, 2 mL of water, 20 mg of TiO ₂ and 0.1 g of substrate, microwave oven treatment at 140°C for 30 minutes	102
Figure 3.3. HMF production experimental data and fittings to Seaman's model for: (a) carnauba leaves, (b) macauba shell, (c) macauba pulp, (d) pine nut shell and (e) native cellulose.	106
Figure 3.4. Furfural production experimental data and fittings to Seaman's model for: (a) carnauba leaves, (b) macauba shell, (c) macauba pulp, (d) pine nut shell and (e) native cellulose.	107
Figure 3.5. Influence of ultrasonic pretreatment and stirring on HMF and furfural production, where MW stands for conventional microwave oven, MWstirring corresponds to microwave with stirring, and 15' U MW stirring refers to 15 minutes of ultrasonic pretreatment + microwave with stirring. Experimental conditions: 140°C, 30 min, 0.1 g of substrate, 0.02 g of TiO ₂ , 5 mL of ChCl/ox eutectic mixture, 2 mL of sulfolane and 2 mL of H ₂ O	109
Figure 4.1. FTIR spectra (top) and XRD patterns (bottom) for the lignocellulosic materials under study.	120
Figure 4.2. TRS and HMF production from carnauba leaves, macauba shell, pine nut shell and native cellulose, for different doses of acid (HNO ₃ -10%, 120°C, 30 min and ChCl/urea reaction medium).	124
Figure 4.3. Total reducing sugars production in HNO ₃ 10% acidic medium, at 100°C/120°C for 30 min	125
Figure 4.4. TRS production concentrations from carnauba leaves (a), macauba shell (b), pine nut shell (c) and native cellulose (d) at different temperatures (HNO ₃ 10%, 30 min and ChCl/urea reaction medium)	126
Figure 4.5. TRS production experimental and predicted values using Saeman's model.	128
Figure 5.1. Thermogravimetric analysis (TGA and DTG curves) of the precursor and impregnated materials: (a) carnauba leaves; (b) carnauba leaves treated with CaCl ₂ ; (c) carnauba leaves treated with H ₃ PO ₄ ; (d) macauba endocarp; (e) macauba endocarp treated with CaCl ₂ ; (f) macauba endocarp treated with H ₃ PO ₄ ; (g) pine nut shell; (h) pine nut shell treated with CaCl ₂ ; (i) pine nut shell treated with H ₃ PO ₄	142
Figure 5.2. X-ray diffraction patterns for (a) carnauba leaves; (b) macauba endocarp and (c) pine nut shell, activated with H ₃ PO ₄ and CaCl ₂ .	144
Figure 5.3. ATR-FTIR spectra for the carbons obtained from: (a) carnauba leaves, (b) macauba endocarp and (c) pine nut shell, activated with H ₃ PO ₄ and CaCl ₂ .	145
Figure 5.4. Nitrogen adsorption and desorption isotherms for the activated carbons obtained from: (a) carnauba leaves, (b) macauba endocarp and (c) pine nut shell.	146
Figure 5.5. Pore volume distributions (DFT method) for the activated carbons obtained from: (a) carnauba leaves, (b) macauba endocarp and (c) pine nut shell.	147

Figure 5.6. SEM micrographs of the precursor materials and their respective activated carbón samples: (a) carnauba leaves; (b) carnauba leaves treated with CaCl ₂ ; (c) carnauba leaves treated with H ₃ PO ₄ ; (d) macauba endocarp; (e) macauba endocarp treated with CaCl ₂ ; (f) macauba endocarp treated with H ₃ PO ₄ ; (g) pine nut shell; (h) pine nut shell treated with CaCl ₂ ; (i) pine nut shell treated with H ₃ PO ₄	149
Figure 5.7. Effect of the pH of the solution on RhB adsorption (adsorbent dose=2 g/L; temperature=25°C, [RhB] ₀ =65 mg/L; contact time=120 min)	150
Figure 5.8. Effect of activated carbon dosage on RhB removal ([Rh-B] ₀ =80 mg/L, contact time=120 min; pH=7; temperature=25 °C)	151
Figure 5.9. Effect of contact time on RhB adsorption for the different carbons activated with (a) CaCl ₂ and (b) H ₃ PO ₄ (pH=7; temperature=25 °C, [RhB] ₀ =80 mg/L; adsorbent dose=2 g/L). Fitting of the data conducted by kinetic models	152
Figure 5.10. Effect of RhB initial concentration on the adsorption by (a) C_carnauba_CaCl ₂ ; (b) C_carnauba_H ₃ PO ₄ ; (c) C_macauba_CaCl ₂ ; (d) C_macauba_H ₃ PO ₄ ; (e) C_pine_nut_shell_CaCl ₂ ; (f) C_pine_nut_shell_H ₃ PO ₄ (pH=7; adsorbent dose=2 g/L; contact time=120 min) at three different temperatures (25, 35 and 45 °C). The data have been fitted according to Langmuir y Freundlich non-linear models	153
Figure 5.11. Effect of additional native cellulose dose on RhB removal using H ₃ PO ₄ -activated carbons obtained from pine nut shell ([RhB] ₀ =80 mg/L, pH=7, activated carbon dose=2 g/L; temperature=25°C)	161
Figure 6.1. Scanning electron micrographs of the three raw materials: (a) carnauba leaves; (b) macauba endocarp; and (c) pine nut shell	177
Figure 6.2. Effect of contact time on the absorption of RhB onto different materials (natural pH, temperature 25±5°C)	178
Figure 6.3. Equilibrium isotherms for Rhodamine B (RhB) at different temperatures (25°C, 35°C and 45°C) onto: (a) carnauba leaves; (b) macauba endocarp; and (c) pine nut shell. Red solid lines represent the fitting curves using the Langmuir model and Freundlich model fittings are represented as dashed blue lines	181
Figure 6.4. X-ray diffraction patterns for the raw samples, and the samples after RhB adsorption and after enzymatic hydrolysis: (a) carnauba leaves; (b) macauba endocarp; and (c) pine nut shell	185
Figure 6.5. ATR-FTIR spectra for the raw samples, and the samples after RhB adsorption and after enzymatic hydrolysis: (a) carnauba leaves, (b) macauba endocarp and (c) pine nut shell	187

ÍNDICE DE SIGLAS Y ABREVIATURAS

15' U MW stirring	Tratamiento previo de ultrasonidos mas equipo de microondas con agitación
AFEX:	Ammonia fibre expansión; Expansión de fibra de amoniaco
ATR	Attenuated total reflectance; Reflectancia total atenuada
BET:	Brunauer–Emmett–Teller
BJH	Barrett-Joyner-Halenda
C_carnauba_CaCl ₂	Carbón activado con CaCl ₂ a partir de hoja de carnauba
C_carnauba_H ₃ PO ₄ :	Carbón activado con H ₃ PO ₄ a partir de hoja de carnauba
C_macauba_CaCl ₂ :	Carbón activado con CaCl ₂ , a partir de endocarpio de macauba
C_macauba_H ₃ PO ₄	Carbón activado con H ₃ PO ₄ a partir de endocarpio de macauba
C_pine_nut_shell_CaCl ₂	Carbón activado con CaCl ₂ a partir de cascara de piñón
C_pine_nut_shell_H ₃ PO ₄ .	Carbón activado con H ₃ PO ₄ a partir de cascara de piñón.
C _e	Concentración de contaminante en equilibrio
C _{EH}	Hoja de carnauba después de la hidrólisis enzimática
ChCl/ox	Cloruro de colina/ acido oxalic
CR _{EH}	Hoja de carnauba después la adsorción de rodamina-B y la hidrólisis enzimática
CrI:	crystallinity indexes; Índice de cristalinidad
DES	Deep eutectic solvent; líquidos iónicos profundos
DTA:	Differential thermal analysis; Analisis térmico difereencial

F:	Furfural (Eq. 3.4)
FDA	Food and Drug Administration; Administración de Alimentos y Drogas.
FPU	Unidades de papel de filtro
PR _{EH}	Cascara de piñón después la adsorción de rodamina-B y la hidrólisis enzimática
FTIR	Fourier transform infrared spectroscopy; Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier
GA:	Grado de activación (Eq. 1.1)
GC:	Glycerol carbonate; Carbonato de glicerol
GIRTADRUS:	Grupo de investigación reconocido sobre Tecnologías Avanzadas Aplicadas al Desarrollo Rural Sostenible
H	5-hidroximetilfurfural (Eq 3.3)
HBI	hydrogen bond intensity; Intensidad de enlaces de hidrógeno
HMF	5-hidroximetilfurfural
HPLC	High-performance liquid chromatography; Cromatografía líquida de alta eficacia
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia y Estadística
IEA	International Energy Agency; Agencia internacional de la energía
ILs	Ionic liquids; Líquidos iónicos
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry; Unión Internacional de Química Pura y Aplicada
k ₁	Velocidad de conversión de glucosa a HMF / furfural (Eq 3.3 y 3.4); Velocidad de conversión de glucan a glucosa (Eq 4.2); constante de absorción modelo pseudo-primer orden (Eq. 5.2)
k ₂	Velocidad descomposición de HMF / furfural a 2,5-dimetilfurano (Eq 3.3 y 3.4); Velocidad descomposición de la glucosa (Eq 4.3); constante de absorción modelo pseudo-segundo orden (Eq. 5.4)

K_d :	Coeficiente de distribucion
k_F :	Constante de Freundlich
K_L :	Constante de Langmuir
LIs:	líquidos iónicos
LOI	Lateral order index; Índice orden lateral
M	Monomeros (Eq 4.3)
M_{EH} :	Endocarpio de macauba después de la hidrólisis enzimática
MR_{EH} :	Endocarpio de macauba después la adsorción de rodamina-B y la hidrólisis enzimática
MW	Equipo de microondas convencional
MWstirring	Equipo de microondas con agitación
P	Polimeros (Eq. 4.3)
P_{EH}	Cascara de piñón después de la hidrólisis enzimática
pH_{PZC}	pH de punto de carga cero
q_e	Capacidad de adsorción en equilibrio
q_{max}	máxima capacidad de adsorción teórica
q_t	capacidad de absorción a un tiempo t
r^2	Coeficiente de correlación
RhB	Rhodamine-B
R_L	Parámetro de equilibrio
R_o	Factor de gravedad
SEM	Scanning electron microscope; Microscopio electrónico de barrido
TCI:	Total crystalline index; Índice total cristalina
TEAB	Tetraethylammonium bromide; Bromuro de tetraetilamonio

TEAC	Tetraethylammonium chloride; Cloruro de tetraetilamonio
TEG	Triethylene glycol; Trietilenoglicol
TGA	Thermal gravimetric analysis; Análisis termogravimétrico
TRS	Total reducing sugar; Azucares reductores totales
UV	Ultraviolet; ultravioleta
XRD	X-Ray Diffraction; Difraccion de rayos-x
ΔG^0 :	Cambio en la energía libre de Gibbs
ΔH^0	Cambios de entalpia
ΔS^0 :	Cambios de entropía

RESUMEN

La presente tesis se basa en la investigación y desarrollo de procesos que utilizan la biomasa como materias prima para la producción de biocombustibles y bioproductos y que sirva de base para el desarrollo de las futuras biorrefinerías integradas. Para ello se seleccionaron diferentes subproductos, de tres especies arbóreas, con diferentes contenidos en celulosa, hemicelulosa y lignina y de diferentes procedencias: dos palmeras procedentes de Brasil, y de las cuáles se ha optado para el estudio la hoja de carnaúba desprovista de cera, la cáscara, pulpa y endocarpio de la macaúba y por último un residuo de Castilla y León de alto valor energético como es la cáscara del piñón del pino piñonero. También se uso como sustrato, a modo de comparación, celulosa nativa. Esta tesis a su vez se dividió en cuatro estudios o líneas de investigación, redactados en formato *full paper* y remitidos a revistas especializadas para su evaluación.

En el primer artículo, que lleva por título: **“Estudio cinético sobre la conversión asistida por microondas de celulosa y residuos de lignocelulosa en HMF/furfural”**, se estudió la producción de HMF y furfural en un horno de microondas convencional, utilizando como sustrato hojas de palma de carnauba, pulpa y cascara de macauba, cascara de piñón y celulosa nativa. Para conseguir promover la disolución de celulosa nativa se ensayaron diferentes líquidos iónicos (ILS), catalizadores, disolventes orgánicos y las dosis de agua. La mezcla más adecuada (5mL cloruro de colina/ ácido oxálico, 2 mL de sulfolano, 2 mL de agua, 0.02 g de TiO₂ y 0.1 g de sustrato) se escogió para realizar estudios cinéticos a diferentes tiempos de reacción (5-60 min) y diversas temperaturas (120-200°C) y para evaluar la mejor HMF + producción de furfural, ya sea por separado o de manera combinada, de acuerdo con el modelo de Saeman. Los mejores rendimientos de producción de HMF + furfural se alcanzaron para la celulosa nativa, con un rendimiento del 53,24% cuando se utilizó un pretratamiento ultrasónico antes del tratamiento mediante microondas con agitación (comparándolo el 24,53% cuando se emplea un horno de microondas convencional sin agitación).

En el Segundo artículo, que lleva por título **“Hidrólisis ácida eficiente en líquidos iónicos, asistida por microondas, de materiales lignocelulósicos en azúcares reductores totales”**, se estudió la producción de azúcares reductores totales (TRS) a través de la hidrólisis catalizada por ácido asistida por microondas en líquidos iónicos (ILS) de diferentes materiales lignocelulósicos (hojas de carnauba, cáscara macauba y cáscara de piñón) y celulosa nativa. Para ello se evaluaron cuatro medios de reacción: dos disolventes eutécticas profundas (DES), cloruro de colina-ácido oxálico (CHCl/ox) y cloruro de colina-urea (CHCl / urea), y dos líquidos iónicos convencionales, cloruro de tetraetilamonio (TEAC) y bromuro de tetraetilamonio (TEAB). También se evaluaron cinco ácidos (H_2SO_4 , HCl, HNO_3 , H_3PO_4 y *p*-toluensulfónico de ácido) en concentraciones variables (5-30%) en un intervalo de tiempo (0-60 min), a diferentes temperaturas (100-140°C). Se alcanzaron rendimientos de producción significativamente altos para ambos DES en combinación con HNO_3 al 10%, a 120°C durante 30 min (TRS 83,7% en CHCl/ox para las hojas de carnauba), con la ventaja añadida de una baja producción de furfural y HMF.

En el tercer artículo, titulado **“Remoción de Rodamina B con carbones activados de residuos lignocelulósicos”**, se evaluó la producción de carbón activado a partir de subproductos procedentes de la producción de cera de carnauba (hojas), aceite de las semillas macauba (endocarpio) y piñones del pino piñonero (shell), utilizando H_3PO_4 o $CaCl_2$ para su activación química. Los carbones activados producidos se caracterizaron a fondo mediante análisis elemental y térmico, difracción de rayos X, espectroscopia infrarroja, microscopía electrónica de barrido y adsorción de N_2 . Posteriormente, se estudió su capacidad para eliminar rodamina-B (RhB) presente en soluciones acuosas, para ello se evaluaron diferentes parámetros: tiempo de contacto, pH, dosis adsorbente, concentración inicial del colorante y temperatura de la solución. Las isothermas de adsorción de RhB se ajustan al modelo de Freundlich, en todos los casos. Por otro lado los datos de los estudios cinéticos se ajustan de forma adecuada al modelo cinético de pseudo-segundo orden. Los parámetros termodinámicos evaluados muestran que el proceso de adsorción es de naturaleza endotérmica y espontánea. Por último, se ha realizado un análisis preliminar del efecto del contenido de celulosa en los materiales precursores de carbono, mediante la mezcla de celulosa nativa con uno de los materiales lignocelulósicos estudiados.

En el cuarto y último artículo, titulado “**Un ejemplo de reutilización de residuos lignocelulósicos en dos fases consecutivas: absorción de contaminantes y la hidrólisis enzimática**”, se presenta un ejemplo de reutilización y revalorización de residuos lignocelulósicos: hoja de palma de carnauba, endocarpio de macauba y cascara de piñón. En primer lugar se estudió en detalle la adsorción físico-química de Rodamina B (RhB) por parte de los diferentes materiales, mostrando la naturaleza espontánea y endotérmica del proceso. Posteriormente, se comparó la producción de azúcares reductores totales (TRS), mediante hidrólisis enzimática, de los materiales antes y después del proceso de adsorción de RhB, confirmando la viabilidad de la producción TRS en todos los casos, con rendimientos que van desde 65,9% para la cáscara piñón (después de la adsorción) a 74,9% para el endocarpio carnauba y de 84,0% para las hojas de carnauba (antes de adsorción). Por todo ello se concluyó que el uso de materiales lignocelulósicos como adsorbentes no impide su reutilización ulterior para la obtención de azúcares fermentables, mediante hidrólisis enzimática.

Palabras clave: Azúcares reductores totales, carbón activado, carnauba; Furfural, hidrólisis ácida, hidrólisis enzimática; HMF, líquidos iónicos, macauba; materiales lignocelulósicos; microondas, pino piñonero.

ABSTRACT

The present thesis is based on the research and development of processes that use biomass as raw materials for the production of biofuels and bioproducts, as a basis for the future development of integrated biorefineries. Different subproducts of three tree species with different contents of cellulose, hemicellulose and lignin and different backgrounds were selected: two palm trees from Brazil, carnauba leaf, macaúba shell, pulp and endocarp and finally a residue of Castilla y León high energy as pine nut shell was studied. In addition, native cellulose was used as a substrate by way of comparison. This thesis was divided into four studies or research lines, written in full paper format and submitted to journals for evaluation.

In the first article, entitled "**A kinetic study on microwave-assisted conversion of cellulose and lignocellulosic waste into HMF/furfural**" was study the production of HMF and furfural on a conventional microwave oven using as substrate carnauba leaves, macauba pulp, pine nut shell and native cellulose. Native cellulose, lignocellulosic materials from Brazil (carnauba palm leaves and macauba pulp and shell) and pine nut shell from Spain have been studied as substrates for the production of HMF and furfural in a conventional microwave oven. In order to promote the dissolution of native cellulose, several ionic liquids (ILs), catalysts, organic solvents and water doses have been assessed. The most suitable mixture (5mL choline chloride/oxalic acid, 2 mL of sulfolane, 2 mL of water, 0.02 g of TiO₂ and 0.1 g of substrate) has been chosen so as to conduct kinetic studies at different reaction times (5-60 min) and various temperatures (120-200°C) and to evaluate the best HMF+furfural production, either separately or in a combined manner, according to Seaman's model. The best production yields of HMF + furfural have been attained for native cellulose, with a yield of 53.24% when an ultrasonic pretreatment is used prior to a microwave treatment with stirring (vs. 24.53% when a conventional microwave oven without agitation is employed).

In the second article, entitled “**Efficient microwave-assisted acid hydrolysis of lignocellulosic materials into total reducing sugars in ionic liquids**”, different types of lignocellulosic materials (carnauba leaves, macauba shell and pine nut shell) and native cellulose have been studied for the production of total reducing sugars (TRS) through microwave-assisted acid-catalyzed hydrolysis in ionic liquids (ILs). Four reaction media have been assessed: two deep eutectic solvents (DES), choline chloride-oxalic acid (ChCl/ox) and choline chloride-urea (ChCl/urea), and two conventional ionic liquids, tetraethylammonium chloride (TEAC) and tetraethylammonium bromide (TEAB). Five acids (H_2SO_4 , HCl, HNO_3 , H_3PO_4 y p-toluensulfonic acid) have been evaluated in varying concentrations (5-30%) and time intervals (0-60 min), at different temperatures (100-140°C). Significant TRS production yields (as high as 83.7% in ChCl/ox for carnauba leaves) have been attained for both DES in combination with HNO_3 10%, at 120°C for 30 min., with the additional advantage of low furfural and HMF by-products generation.

In the third article, entitled "**Rhodamine B removal with activated carbons obtained from lignocellulosic waste**", byproducts from the wax production process from carnauba palm (leaves), from the extraction of oil from macauba seeds (endocarp) and from pine nut production (shell) have been assessed for activated carbon production, using H_3PO_4 or $CaCl_2$ for their chemical activation. The resulting activated charcoals have been thoroughly characterized by elemental and thermal analysis, X-ray diffraction, infrared spectroscopy, electron scanning microscopy and N_2 adsorption behavior. Subsequently, their adsorption capacity for the removal of rhodamine B (RhB) from aqueous solutions has been evaluated by studying different parameters: contact time, pH, adsorbent dose, initial dye concentration and solution temperature. The adsorption of RhB followed Freundlich's model in all cases. Kinetic studies indicate that the pseudo-second order model can be used for describing the dynamics of the adsorption process. Thermodynamic parameters have also been evaluated, indicating its endothermic and spontaneous nature. Finally, a preliminary analysis of the impact of cellulose content in the carbon precursor materials has been conducted, by using a mixture of native cellulose with one of the lignocellulosic materials.

In the fourth and final article, entitled "**An example lignocellulosic waste reuse in two consecutive steps: sorption of contaminants and enzymatic hydrolysis** " an example of the reuse and revalorization of lignocellulosic waste from carnauba palm (*Copernicia prunifera*) leaves, macauba palm (*Acrocomia aculeata*) endocarp (shell) and European stone pine (*Pinus pinea*) nut shell is presented for the first time. The physical-chemical adsorption of Rhodamine B (RhB) dye for the different materials is studied in detail, together with the thermodynamic feasibility and the spontaneous and endothermic nature of the biosorption process. Subsequently, the production of total reducing sugars (TRS) is compared by enzymatic hydrolysis (before and after the adsorption process of the RhB pollutant), confirming the viability of TRS production in all cases, with yields ranging from 65.9% for pine nut shell (after adsorption) to 74.9% for the carnauba endocarp and to 84.0% for carnauba leaves (before adsorption). Hence the use of lignocellulosic materials as adsorbents does not preclude their ulterior reuse for obtaining fermentable sugars by enzymatic hydrolysis.

Keywords: Acid hydrolysis, activated carbon, carnauba; enzymatic hydrolysis; Furfural, HMF, ionic liquids, lignocellulosic materials; macauba; microwave, pinus pinea; total reducing sugars



1. INTRODUCCIÓN TEORICA

1.1. La biomasa lignocelulósica como materia prima para biorrefinería

1.1.1. Introducción

La biomasa arbórea, residuos agro-forestales, herbácea, plantas acuáticas y cultivos, son materias primas o recursos renovables susceptibles de ser transformados en la industria química. A través del proceso de la fotosíntesis, las plantas convierten el dióxido de carbono y agua en bioquímicos de metabolitos primarios y secundarios. Los metabolitos primarios son hidratos de carbono (azúcar simple, celulosa, hemicelulosa, almidón, etc.) y lignina, también llamados materiales lignocelulósicos, y se pueden convertir en biocombustibles. Los metabolitos secundarios son productos bioquímicos de alto valor tales como gomas, resinas, caucho, ceras, terpenos, esteroides, triglicéridos, taninos, ácidos, alcaloides de plantas, etc., están presentes en bajo volumen en las plantas. Los metabolitos secundarios pueden ser utilizados para la producción de productos químicos de alto valor como saborizantes de alimentos, productos farmacéuticos, cosméticos, etc. utilizando la técnica de procesamiento integrado.

La biomasa lignocelulósica es una materia prima abundante y renovable, con una estimación de una producción mundial anual de entre 10 y 50 mil millones de toneladas de materia secas (Galbe and Zacchi, 2002), aunque sólo una pequeña parte puede ser utilizada en la práctica, incluyendo la paja de cereales, paja de trigo, cáscara de arroz, mazorcas de maíz, rastrojo de maíz, bagazo de caña de azúcar, cáscaras de frutos secos, residuos de cosecha forestal y residuos de proceso de madera.

1.1.2. Composición de los materiales lignocelulósicos

Las reacciones de la fotosíntesis durante la producción de biomasa favorecen la formación de algunos componentes clave, tales como la celulosa y la hemicelulosa, que consisten en varios hidratos de carbono polimerizados. Las fibras vegetales se pueden considerar como compuestos de fibrillas de celulosa que se mantienen unidos por una matriz formada por lignina y hemicelulosa (Jayaraman, 2003), cuya función es actuar como una barrera natural a la degradación microbiana y como protección mecánica (Figura 1.1). Además se encuentran componentes inorgánicos (sustancias minerales) y moléculas extraíbles con disolventes orgánicos, tales como: pectinas, hidratos de

carbono simples, terpenos, alcaloides, saponinas, polifenoles, gomas, resinas, grasas y ácidos grasos. (Araujo et al., 2008; Mohan et al., 2006).

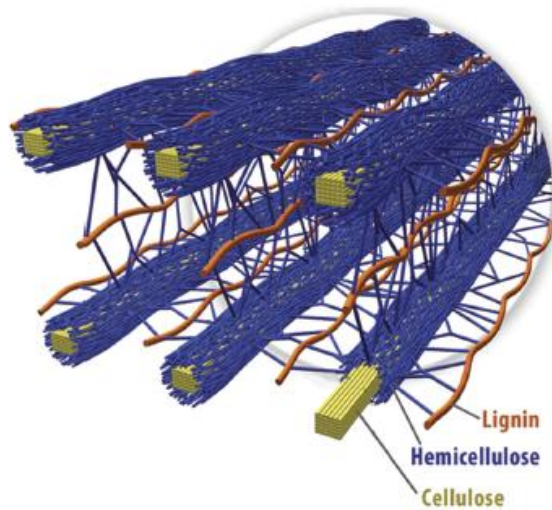


Figura 1.1. Disposición espacial de hemicelulosa, celulosa y lignina en las paredes celulares de la biomasa lignocelulósica. (Fuente: Brandt et al. (2013))

La celulosa es un homopolisacárido con fórmula $(C_6H_{10}O_5)_n$, como se muestra en la Figura 1.2. Es el componente estructural de la pared celular primaria de plantas, siendo el compuesto orgánico más común en la tierra, toda la materia vegetal tiene un contenido de celulosa del 33% aproximadamente, con una producción anual de más de 50 mil millones de toneladas (Araujo et al., 2008).

La celulosa se compone de dos moléculas de glucosa unidas y esterificadas por enlaces β -1,4 glicosídicos que se estructuran en largas cadenas lineales (microfibrillas) unidas por puentes de hidrógeno y fuerzas de van der Waals intramoleculares, formando una estructura cristalina resistente a la hidrólisis y regiones amorfas susceptibles a la degradación enzimática (Béguin and Aubert, 1994; Ovando-Chacón and Waliszewski, 2005). La celulosa es un polímero lineal en el que los enlaces β -1,4 glicosídicos se unen para formar unidades de repetición de celobiosa (Pecoraro et al., 2008).

La celulosa producida de esta manera existe de forma natural en dos formas. La primera se conoce como celulosa pura, e incluye celulosas producidas en su estado natural, como el algodón y la celulosa bacteriana; y la presentan algunas algas y animales marinos como los tunicados. La segunda se denomina celulosa compleja, e incluye la mayoría de las celulosas presentes en la naturaleza, siendo el componente fundamental de la pared celular de las plantas superiores. (Pecoraro et al., 2008).

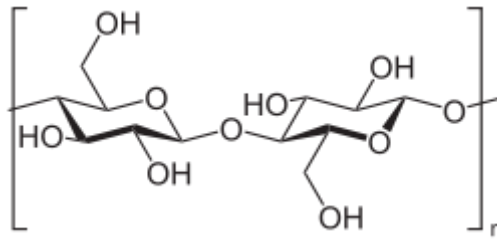


Figura 1.2. Celulosa (Fuente: Pecoraro et al. (2008))

La lignina está asociada con la celulosa y la hemicelulosa en la composición del material lignocelulósico. La lignina es un material hidrófobo con estructura tridimensional, altamente ramificada, y puede ser clasificado como un polifenol, que está constituido por un enlace irregular de diversas unidades de fenilpropano que pueden contener grupos hidroxilo y metoxilo como sustituyentes en el grupo fenilo. Los enlaces éter dominan la unión entre las unidades de la lignina, que cuenta con un gran número de interconexiones. Esta resina amorfa actúa como cemento entre las fibrillas y como un agente de refuerzo en las fibras. La fuerza de adhesión entre las fibras de celulosa y lignina aumenta por la existencia de enlaces covalentes entre las cadenas de lignina y componentes de la celulosa y la hemicelulosa (John and Thomas, 2008).

La lignina es uno de los más abundantes polímeros orgánicos, superado apenas por la celulosa. La lignina es inusual como biopolímero, debido a su heterogeneidad y la falta de una estructura primaria definida. Brauns define la estructura de la lignina de acuerdo con las siguientes características (Sun, 2010):

- Son polímeros vegetales construidos a base de unidades de fenilpropanoides.
- Presentan la mayor parte de los grupos metoxilo totales contenidos en la madera.
- Son resistentes a la hidrólisis ácida, fácilmente oxidables, solubles en bisulfito o álcalis caliente, y fácilmente condensables con fenoles o tioles.
- Cuando se hace reaccionar con nitrobenzeno, en una solución alcalina caliente, las ligninas producen principalmente vainillina, siringaldehído y p-hidroxibenzaldehído, en función del origen de las ligninas.
- Cuando se colocan a ebullición en una solución etanólica de ácido clorhídrico, las ligninas forman monómeros del tipo “cetonas de Hibbert” (mezcla de cetonas aromáticas resultantes de la ruptura de los principales enlaces éter (β -O-4) entre unidades de lignina).

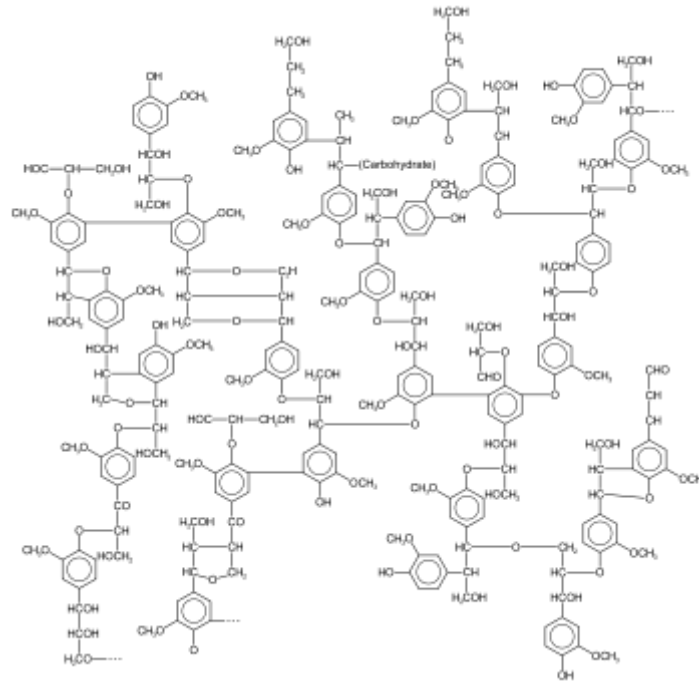


Figura 1.3. Ejemplo de una posible estructura de la lignina. (Fuente: Adaptada de Gellerstedt and Henriksson (2008))

La lignina es soluble en agua y presenta una densidad de 1,3g/ml a 25°C. La lignina no posee unas características estructurales bien definidas, como en el caso de la celulosa. El problema está en que la estructura está conformada por diversas unidades que no se repiten de forma regular. La composición y la estructura de la lignina dependen de varios factores como, el material de origen y su forma de extracción/aislamiento (Sifontes and Domine, 2013). En la Figura 1.3 se muestra un ejemplo de estructura química para la lignina.

La lignina presenta tres monómeros fenil-propánicos (monolignoles) básicos como unidades estructurales: alcohol p-cumarílico, alcohol coniferílico y alcohol sinapílico (Sifontes and Domine, 2013). La lignina también presenta tres radicales básicos que originan los monolignoles, que se representan en la Figura 1.4.

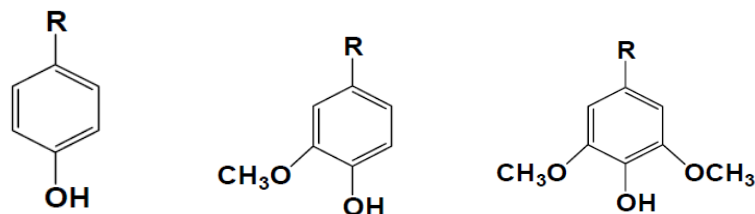


Figura 1.4. Radicales de las unidades básicas de los monolignoles, a) p-hidroxifenilo; b) guayacilo y c) siringilo. (Fuente: Adaptada de Gellerstedt and Henriksson (2008))

Las ligninas se forman por polimerización de monolignoles que, según el tipo de planta, se estructuran de diferente forma. En las maderas provenientes de coníferas, la lignina se construye casi exclusivamente por el alcohol coniferil (>95%) (Gellerstedt and Henriksson, 2008), que tiene como unidad básica el guaiacilpropano (Vázquez et al., 1997). El resto de su estructura está formada por pequeñas cantidades de alcohol cumaril. Por su parte, en las Eucotiledoneas (maderas duras) la lignina está formada tanto por alcohol coniferílico como por alcohol sinapílico, conteniendo como radicales el guaiacilpropano y el siringilpropano en proporciones que varían desde 4:1 hasta 2:1 (Vázquez et al., 1997). En el tejido de monocotiledónea, los tres alcoholes se utilizan como precursores de lignina (Gellerstedt and Henriksson, 2008).

El término hemicelulosa se utiliza para definir los polisacáridos que normalmente se asocian con la celulosa en las paredes celulares (Rogalinski et al., 2008). Se producen en estrecha asociación con la celulosa y la lignina y contribuyen a la rigidez de las paredes celulares de las plantas. Las hemicelulosas constituyen alrededor del 20-30% de la masa total de las plantas anuales y perennes. Tienen una composición heterogénea formada por diferentes unidades estructurales de azúcares neutros (Spiridon and Popa, 2008). Estos azúcares pueden ser carbohidratos de cinco carbonos (xilosa y arabinosa) y carbohidratos de seis carbonos (galactosa, glucosa y manosa). Algunas hemicelulosas contienen adicionalmente ácido urónico. También se pueden encontrar mananos, glucomanos, glucanos, xiloglucanos, ramnogalactouronanos, y en los xilanos encontramos los arabinoxilanos y O-acetil-4-Ometilglucuronoxilano.

La xilosa es la unidad estructural más abundante en las plantas leñosas, estas unidades se unen por enlaces glicosídicos en las posiciones 1 y 4. Entre las características de la hemicelulosa se encuentran: su alto carácter hidrofílico, contienen cadenas considerablemente ramificadas, naturaleza altamente amorfa y un grado de polimerización (DP) entre 100 y 200 (Yang and Wyman, 2008).

Las principales hemicelulosas presentes en las maderas duras y blandas se muestran en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Las principales hemicelulosas en maderas

Hemicelulosas	Maderas duras %	Maderas blandas %
Metilglucuronoxilan	80-90	5-15
Arabinometilglucuronoxilan	0.1-1	15-30
Glucomannan	1-5	1-5
Galactoglucomannan	0.1-1	60-70
Arabinogalactan	0.1-1	1-15
Otros galactans	0.1-1	0.1-1
Pectinas	1-5	1-5

Fuente: Adaptada de Spiridon and Popa (2008)

Según Spiridon and Popa (2008), los xilanos son uno de los principales componentes de los materiales lignocelulósicos, correspondiendo a 25-35% de la masa total de las hemicelulosas. El xilano también es el componente principal de las hemicelulosas en las maderas duras, plantas anuales y cereales, llegando a ser 30% del material total de la pared celular. El xilano de maderas duras (*O*-acetil-4-metil glucuronoxilano) está constituido en intervalos irregulares de grupos ácidos 4-metil- α -*D*-glucurónico unidos a la xilosa por vínculos α -1,2- glucosídicos (Figura 1.5).

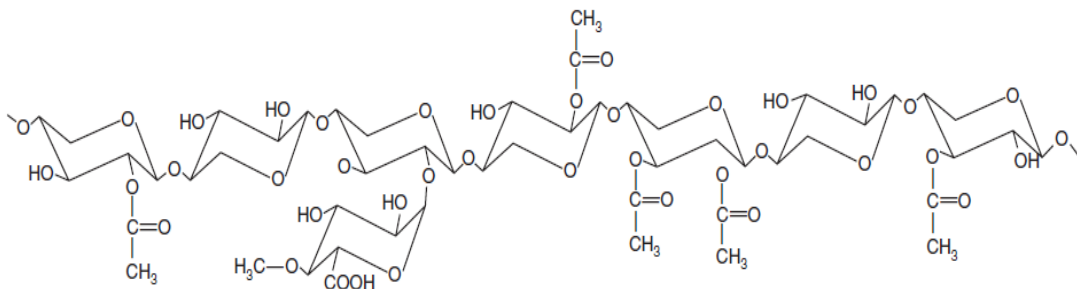


Figura 1.5. Estructura de xilano a partir de madera dura (*O*-acetil-4-metil glucuronoxilano). (Fuente: Spiridon and Popa (2008))

La hemicelulosa se puede unir a las microfibrillas de celulosa mediante enlaces de hidrógeno, formando una protección que impide el contacto entre microfibrillas y produciendo una red cohesiva. El xiloglucano es la principal hemicelulosa presentes en muchas paredes celulares primarias. Sin embargo, en la pared celular secundaria, que predominan en la biomasa de las plantas, las hemicelulosas son típicamente más xilanos y arabino- xilanos. La hemicelulosa comprende entre 20 a 50% de los polisacáridos presente en el material lignocelulósico, y por lo tanto contribuye significativamente a la producción de biocombustibles líquidos.

1.1.3. Procesos de aprovechamiento de la biomasa residual: Biorrefinerías

El concepto de biorrefinería se centra en tres ideas fundamentales: el uso de la biomasa como insumo principal, la producción de una diversidad de productos y la creación de un valor añadido. Una de las definiciones más completa de biorrefinería fue la expuesta por la International Energy Agency-IEA (IEA, 2008): "Biorefinación es el tratamiento sostenible de la biomasa para la obtención de un espectro de productos y energías comercializables".

El concepto de biorrefinería incluye una amplia gama de tecnologías capaces de separar los recursos de biomasa (madera, pastos, maíz,...) en sus componentes básicos (carbohidratos, proteínas, triglicéridos,...) que pueden ser convertidos en productos de valor añadido, los biocombustibles y productos químicos. Una biorrefinería es una instalación (o red de instalaciones) que integra los procesos de conversión de biomasa y los equipos para la producción de biocarburantes y productos químicos a partir de biomasa. Este concepto es análogo a la refinería de petróleo de hoy, que produce múltiples combustibles y productos del petróleo (Cherubini, 2010).

Un enfoque hacia el futuro es la conversión gradual de grandes partes de la industria hacia una sociedad sostenible, que tiene como base la bioenergía, los biocombustibles y los productos de base biológica. Tal sustitución del petróleo por biomasa requerirá algunos cambios innovadores en la producción de bienes y servicios: las ciencias biológicas y químicas tendrán un papel de liderazgo en la generación de industrias futuras y se deben desarrollar nuevas sinergias entre biológica, física, química y ciencias técnicas (Kamm et al., 2006).

Existen diversas formas de clasificación de las biorrefinerías, dependiendo del tipo de biomasa y según los principales procesos separativos utilizados. Distinguiéndose cuatro tipos principales (Trigo et al., 2012):

- Biorrefinerías de cultivo entero: se basan en la molienda seca o húmeda de biomasa, principalmente de granos. Permiten obtener etanol, metanol, sorbitol, glucosamina, polihidroxibutirato, almidón acetilado y

carboximetilado, bioplásticos, adhesivos, aglutinantes, cementos, y productos de alto valor añadido, tales como ceras, esteroides y alcanos.

- Biorrefinerías de insumos lignocelulósicos: se basan en el fraccionamiento de materias primas ricas en celulosa, hemicelulosa y lignina. Las fracciones pueden ser procesadas para obtener biomateriales, compuestos químicos, biocombustibles y energía.
- Biorrefinerías verdes: utilizan como fuente de materia prima la biomasa húmeda proveniente de pastos y otros cultivos (trébol y alfalfa, entre otros), con alto contenido en fibras y nutrientes. A diferencia de las anteriores, estas biorrefinerías realizan un rápido procesamiento primario y tienen las ventajas de utilizar cultivos de alto rendimiento por hectárea, de vincularse en forma potencialmente directa con el sector primario y de utilizar insumos de costos relativamente bajos.
- Biorrefinerías de plataforma syngas: el gas de síntesis (syngas) es una mezcla de monóxido de carbono e hidrógeno, principalmente, y con frecuencia de dióxido de carbono. Se produce sometiendo la biomasa a una temperatura extrema en presencia de oxígeno o aire, en un proceso conocido como gasificación.

Los procesos de conversión energética de la biomasa pueden ser clasificados en tres grupos: procesos físicos, termoquímicos y biológicos. Los procesos físicos son: densificación, secado, reducción granulométrica y prensa mecánica. La conversión termoquímica puede ser fraccionada en: gasificación, pirólisis y licuefacción. Por último, la conversión biológica puede ser dividida en digestión y fermentación, para la producción de biogás y bioetanol, respectivamente (Figura 1.6).

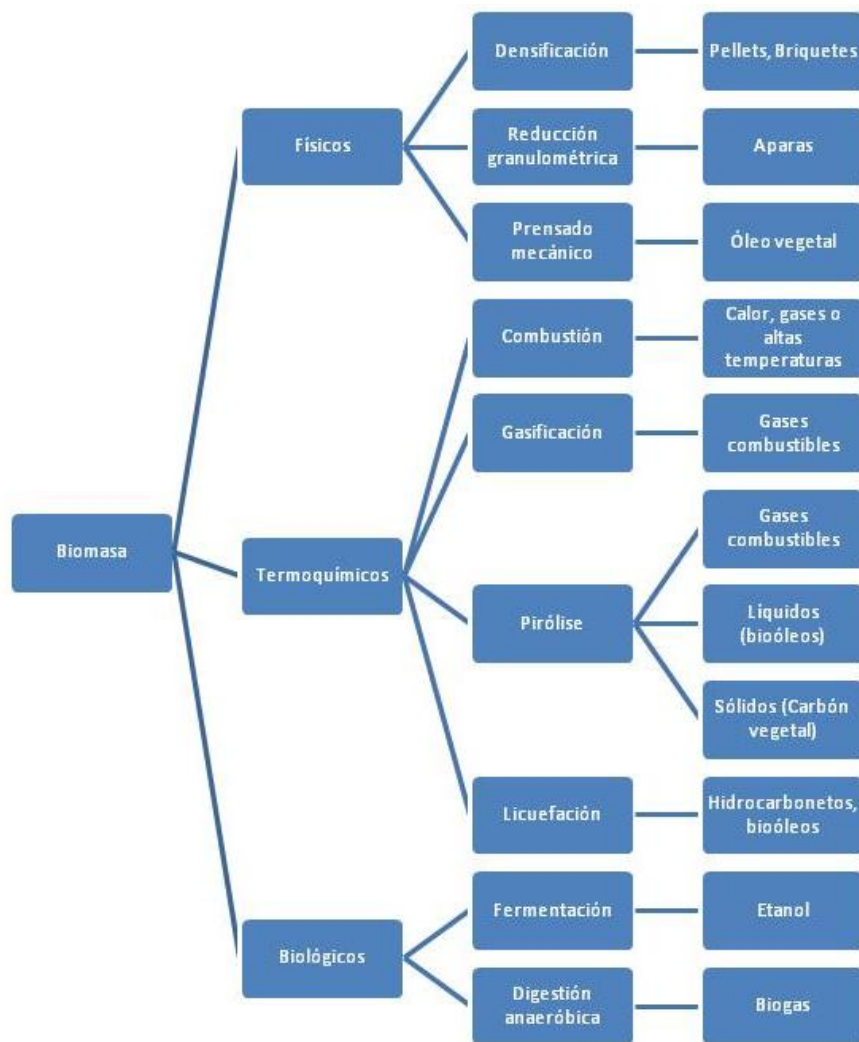


Figura 1.6. Procesos de la conversión de la biomasa en las biorefinerías. (Fuente: Elaboración propia)

Los productos de los sistemas de biorrefinería se pueden agrupar en dos grandes categorías: productos materiales y productos energéticos. Los productos energéticos son aquellos productos que se utilizan por a su contenido de energía. Por otro lado, los productos materiales no se utilizan para un propósito de generación de energía, pero si por sus propiedades químicas o físicas. En algunos casos, algunos productos pueden usarse indistintamente, como el caso del biohidrógeno o el bioetanol que pueden ser utilizados ya sea como combustibles o como compuesto químico (Trigo et al., 2012).

Los productos de una biorrefinería deben ser capaces de sustituir a los productos a base de combustibles fósiles procedentes de la refinería de petróleo, productos químicos y productos energéticos. En cuanto a los productos químicos, este objetivo se puede conseguir mediante la producción de las mismas especies químicas a partir de biomasa en lugar de a partir de fósiles (por ejemplo, fenoles), o la producción de una molécula que tiene una estructura diferente pero una función equivalente. En cuanto a

los combustibles, una biorrefinería debe sustituir a los combustibles fósiles convencionales (principalmente gasolina, diesel, aceite pesado, carbón y gas natural) con los biocombustibles procedentes de la biomasa.

Los productos energéticos más importantes que se pueden producir en las biorrefinerías son:

- biocombustibles gaseosos (biogás, gas de síntesis, hidrógeno, biometano),
- biocombustibles sólidos (pellets, lignina, carbón vegetal),
- biocombustibles líquidos para el transporte (bioetanol, biodiesel, FT-combustibles, bio-aceite).

Por su parte los productos químicos y materiales más importantes son:

- productos químicos (productos de química fina, bloques de construcción, productos químicos a granel),
- ácidos orgánicos (succínico, láctico, itacónico y otros derivados de azúcar),
- polímeros y resinas (plásticos a base de almidón, resinas de fenol, resinas de furano),
- biomateriales (paneles de madera, pulpa, papel, celulosa, carbón),
- alimentación humana y animal,
- fertilizantes.


1.2. Material precursor

1.2.1. Carnauba (*Copernicia prunifera* (Miller) H.E.Moore)

Copernicia prunifera (Miller) H.E.Moore, “Carnaúba”, (Tabla 1.2) es una de las especies más dominantes y frecuentes en la zona semiárida de Noreste de Brasil, principalmente en los Estados de Rio Grande do Norte, Ceará y Piauí (Duque, 1980), donde ocupan decenas de kilómetros cuadrados (Correia, 1984). Perteneciente a la familia de las Arecaceae, es un árbol que puede llegar a 10-20m de altura, con un tronco de 10-20 cm de diámetro. Las hojas, largamente pecioladas, se abren en un limbo de 60-100cm de diámetro, unida al tronco por pecíolos espinosos de 1-1,5 m de tamaño. La inflorescencia presenta numerosas flores pequeñas, colocadas en panícula con hasta 2 m de largo (Braga, 1976). Florece durante los meses de junio a octubre madurando sus frutos de noviembre a marzo (Lorenzi, 1992). El fruto es una baya redondeada alrededor

de los 2 cm de grosor, liso, en tonos verdes, pasando a morado oscuro o casi negro cuando está maduro. El epicarpio carnoso rodea una semilla con un albumen blanco, duro y aceitoso. (Braga, 1976).

Tabla 1.2. Clasificación taxonómica y ejemplar de Palma *Copernicia prunifera* (Miller) H.E.Moore

Clasificación taxonómica	Ejemplar
Reino: Plantae, División: Magnoliophyta Clase: Liliopsida Orden: Arecales Familia: Arecaceae Género: <i>Copernicia</i> Especie: <i>Copernicia prunifera</i>	

Fuente: Elaboración propia

Existe controversia en cuanto al origen del nombre de carnauba, los indios la llamaron caranaíba o caranaúba. Según el botánico Renato Braga (1976), caranaíba significa árbol que araña: caraña (arañazos, escamosa) y iba o uba, árbol.

Manuel Arruda Câmara fue el primer botánico brasileño en estudiar la carnauba. Los nombres científicos que se utilizan en la actualidad son *Copernicia cerifera* o *Copernicia prunifera* (Johnson, 1970). Hay 28 especies del género *Copernicia*, todas presentes en el continente Americano (Figura 1.7). En América del Sur, además de la *Copernicia prunifera* existen dos especies más: la *Copernicia tectorum*, existente en las praderas del centro-norte de Venezuela y las tierras bajas a lo largo de la costa central de Colombia, y *Copernicia australis* o *Copernicia alba* (popularmente conocido como carandá), que se encuentra en Bolivia, Paraguay, norte de Argentina y el pantanal de Mato Grosso, Brasil (Carvalho, 1982).

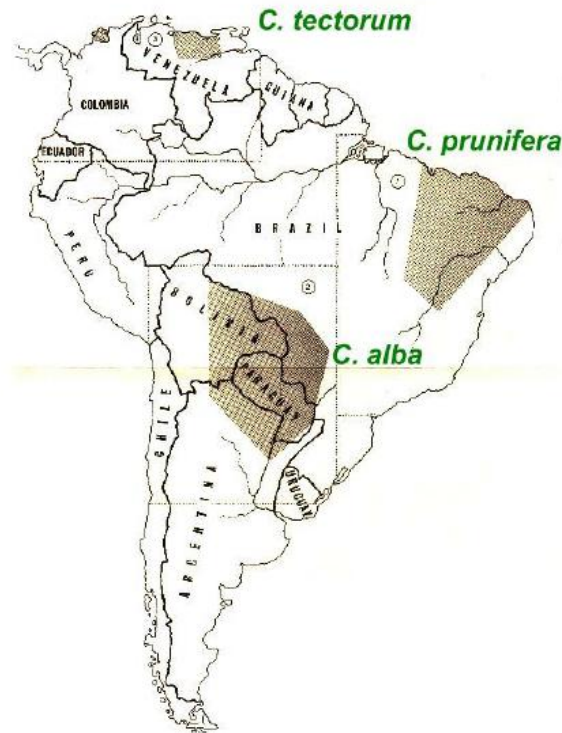


Figura 1.7. Especies de Carnauba más conocidas presentes en Sudamérica. (Fuente: Carvalho (1982))

El sistema radicular de la carnauba es típico de las palmeras en general. La raíz principal de las palmeras no se desarrolla, en cambio aparecen raíces adventicias basales, llegando a grandes profundidades en busca de agua. La raíz es la única parte de la planta utilizada en la medicina, y forma parte de la Farmacoteca Brasileña. Los mestizos e indígenas de la zona a menudo la utilizan para la cicatrización de heridas y el tratamiento de la sífilis (Carvalho, 1982).

El bagazo de carnauba o paja triturada, es ampliamente utilizada por los agricultores en su zona de ocurrencia por tratarse de un excelente abono vegetal (Carvalho, 1982). Otro uso para este bagazo es la producción de celulosa y papel, a partir de las hojas de Carnaúba (Carvalho, 1982). Desde el punto de vista económico, la cera es el principal producto comercial extraído de la Carnaúba utilizado para las más diversas finalidades industriales: polidores, discos fonográficos, revestimientos, aislantes, cosméticos, tintas, productos farmacéuticos, explosivos, componentes electrónicos, etc. La cera de Carnaúba reúne atributos que la sitúan entre las ceras de mejor calidad para fines industriales. Entre sus principales características se destacan:

- Brillo: presenta características óptimo para su uso en pulimientos, y es reconocida como la mejor cera para esta finalidad;

- Dureza y alto punto de fusión: la cera de Carnaúba es una cera dura y que permanece en su estado sólido en altas temperaturas (punto de fusión alrededor de 84°C), lo que garantiza una alta demanda como revestimientos, aislantes y componentes electrónicos.
- Baja toxicidad y tolerancia para consumo humano: la cera de Carnaúba puede ser utilizada en productos de contacto o consumo humano, como cosméticos, alimenticios y farmacéuticos

La cera es el principal producto de la explotación de la carnauba. Para la obtención de esta cera se precede al corte de las hojas, que se realiza en la estación seca en el noreste de Brasil, que van de julio a diciembre. La carnauba puede llegar a producir 60 hojas por árbol, lo que suele ocurrir en años lluviosos con buena precipitación. De acuerdo con el IBGE, el producto más representativo en Brasil es el polvo de cera (aproximadamente 220.000 toneladas). Carvalho (1982) afirma que la síntesis de cera por la Carnaúba no es exclusivo para el clima semiárido, aspecto que corrobora el geógrafo norteamericano Johnson and Nair (1985), que afirma que la carnaúba introducidas en Florida (EEUU) producen cera. A pesar de ello, el Noreste semiárido de Brasil, es la única región del mundo que presenta condiciones económicamente viables para su explotación comercial.

1.2.2. Macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.)

Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd. ex Mart. (Tabla 1.3) es un árbol nativo de los bosques tropicales, cuyo tronco alcanza 10-15 m de altura y 20 a 30 cm de diámetro. La región de los nódulos está cubierta de espinas oscuras y afiladas con unos 10 cm de largo. Las hojas verdes, situadas en diferentes planos, que dan un aspecto plumoso a la corona, son pinnadas con longitud variable 4-5 m, con cerca de 130 folíolos en cada lado y espinas en la región central (Lorenzi, 1996; Miranda, 2001; Silva and Tassara, 1996). El tallo, puede ser del tipo vainas y/o espinas. Las inflorescencias son de color amarillo pueden alcanzar hasta 2 m de longitud. Los frutos son esféricos con diámetros que van desde 2 cm a 5 cm, y poseen de una a tres semillas por fruto (Silva, 2001)). La variedad de estos parámetros pueden deberse a la variabilidad genética, lo que pone de relieve la importancia del estudio de la biometría de estos frutos, así como la reclasificación taxonómica del genero *Acrocomia*, ya que hay gran variación fenotípica

en este género. Por lo tanto, se ha propuesto la subdivisión de la especie en *A. aculeata* spp. *sclerocarpa*, *A. aculeata* spp. *totali* y *A. aculeata* spp. *intumescens* (Pimentel, 2011).

Tabla 1.3. Clasificación taxonómica y ejemplar de Palma *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.

Clasificación taxonomica	Ejemplar
Reino: Plantae División: Magnoliophyta Clase: Liliopsida Orden: Arecales Familia: Arecaceae Género: <i>Acrocomia</i> Especie: <i>Acrocomia aculeata</i>	

Fuente: Elaboración propia

La macaúba posee una amplia distribución geográfica, que se produce a lo largo de los trópicos americanos, desde México hasta Argentina, Bolivia, Paraguay y Antillas, excepto Ecuador y Perú. Existen registros de su presencia en los Andes colombianos. Preferiblemente, habita en regiones con una estación lluviosa bien definida y altitudes moderadas (Henderson et al., 1995).

En Brasil, se considera como la palma con mayor dispersión, con la aparición de bosques naturales de la especie en casi todos los territorios (Figura 1.8). Sin embargo, las concentraciones más altas se encuentran en Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso y Mato Grosso do Sul, y áreas dispersas del Cerrado (Henderson et al., 1995). En el pasado, había plantaciones en São Paulo, pero las poblaciones naturales fueron reemplazadas sistemáticamente por las plantaciones de café (Novaes, 1952).

La macaúba es una planta de gran importancia desde el punto de vista ecológico, debido a su aprovechamiento como alimento para los animales silvestres, contribuyendo al ecosistema. Posee también una gran producción de frutos con alto contenido de aceite en la pulpa y la almendra (Lorenzi, 1996). Este alto contenido en aceite otorga a la macaúba un gran potencial a la hora de su aplicación en el sector industrial y/o energético. Los subproductos generados a partir del procesamiento de la pulpa, para la obtención de aceite, pueden ser utilizados en la nutrición animal y/o como fertilizante (Motta et al., 2002). Otro importante subproducto es el endocarpio del fruto, que puede ser utilizado como carbón debido a su alto poder calorífico (Boas et al., 2010).

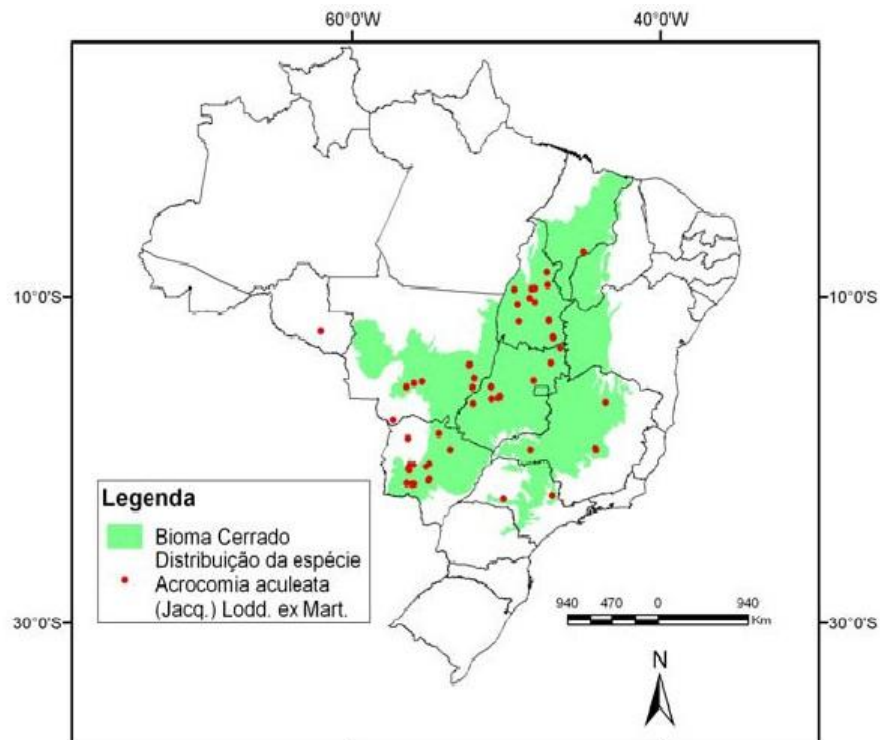


Figura 1.8. Distribución geográfica de la especie *Acrocomia aculeata*. Fuente: Ratter et al. (2003)


En Campo Grande (Mato Grosso do Sul) el rendimiento potencial es de 1470 kg de aceite por hectárea, en comparación con los cultivos tradicionales, tales como soja, girasol y ricino, que son de 500 a 700 kg/ha de aceite, a pesar de que estos cultivos tradicionales presentan un mayor desarrollo tecnológico en sus procesos de explotación y producción de aceite (Bhering, 2010; Ciconini et al., 2013). Cuando se compara con otras semillas oleaginosas esta palma tiene una alta productividad y alto rendimiento de aceite (Roscoe, 2007). Muchos autores han estudiado la macaúba para la producción de biodiesel (Vieira et al, 2012). Amaral (2007), encontró que la macauba presentó una mayor producción de biodiesel (4200 L/ha) frente a los cultivos más tradicionales, como el coco (2510 L/ha), el aguacate (2460 L/ha), *Jatropha curcas* (1590 L/ha), girasol (890 L/ha) y soja (420 L/ha).

Este aceite se encuentra principalmente en la pulpa (59,8%) y en la almendra (55,6%), presentando también pequeñas cantidades en la cáscara de la macaúba (6,5%). Los subproductos generados tras el proceso de extracción del aceite son la cáscara, el bagazo de la pulpa, el bagazo de la almendra y el endocarpio (que no presenta ningún contenido de aceite). El creciente aumento del uso de estos frutos, para la obtención de aceite, ha provocado la necesidad de una gestión adecuada de la gran cantidad de subproductos generados. Dentro de este nuevo panorama de gestión de subproducto

irrumpe con gran fuerza la opción de su aprovechamiento para la producción de materiales con valor añadido, como los biomateriales y biocombustibles.

1.2.3. Piñón (*Pinus pinea* L.)

Tabla 1.4. Clasificación taxonómica y ejemplar de pino *Pinus pinea* L.

Clasificación taxonómica	Ejemplar
Reino: Plantae División: Pinophyta Clase: Pinopsida Orden: Pinales Família: Pinaceae Género: <i>Pinus</i> Especie: <i>Pinus pinea</i>	

Fuente: Elaboración propia

El pino piñonero puede alcanzar los 25-30m de altura o más en suelos profundos y fértiles. Es un árbol perennifolio vigoroso, de porte elevado. Tiene una copa redondeada muy definida, característica de la especie. El tronco está recubierto de una corteza gruesa pardo-rojiza, que al desprenderse deja al descubierto capas más rojizas. Las ramas son arqueadas-ascendentes de color verde oscuro-blanquecino. Las hojas son aciculares (forma de aguja alargada), de mayor tamaño (pueden medir hasta 20 cm de longitud) y son menos flexibles que otras especies de pino. Las flores o conos masculinos, nacen agrupados en las terminaciones de las ramas, su forma es oval, son de tamaño pequeño (hasta 15 mm de longitud) y de color amarillo. Las flores femeninas también están agrupadas en un cono de color verde-rojizo. El fruto a partir de los conos femeninos fecundados desarrollan las piñas. En general, miden de 8-14 cm de longitud, tienen forma ovada o globosa, y son de color pardo-rojizo. En cada escama de la piña se desarrollan 2 piñones con un ala muy corta que se desprende con facilidad. Las piñas maduran al tercer año y dispersan los piñones en la primavera del cuarto año (Tabla 1.4).

El *Pinus pinea* L., llamado “pino piñonero”, es una especie originaria del mediterráneo que puede vivir unos 120 años (Sobarzo, 2004), requiere 400-800 mm de precipitaciones anuales con régimen de lluvia invernal y 4-6 meses secos. Es un árbol de hábito simpódico que alcanza 20-30 m de altura, con copa como paraguas cuando

adulto, lo que caracteriza la distingue de otros pinos (Montoya, 1990). España es el principal productor de estos piñones, con un 45% de la producción mundial (30.000 ton/año), seguido de Portugal y Turquía, ambos con un 38% de la producción total, por lo que estos tres países concentran el 83% de su producción mundial (Gutiérrez, 2007).

Pinus pinea L. se distribuye de manera discontinua por el norte y este de la región mediterránea, desde Portugal hasta Siria, así como en algunas áreas costeras del mar Negro. Se puede encontrar desde el nivel del mar hasta los 500-600 m al norte del Mediterráneo y hasta los 800-1.400 m al este del Mediterráneo (Figura 1.9). Por su interés económico es posible que el hombre haya influido de manera significativa en su distribución geográfica y su diversidad genética actuales (Fady et al., 2008).

Debido a sus piñones comestibles, *P. pinea* L. (antes, *Pinus domestica*) ha sido ampliamente plantado en las orillas del Mediterráneo a lo largo de la historia por etruscos, griegos, romanos y árabes. Las áreas de origen más probables son Anatolia, Líbano y la península Ibérica. Piñas y restos de carbón de *Pinus pinea* L. datados en 50.000 años se han encontrado en asentamientos paleolíticos en España. *Pinus pinea* L. se introdujo con éxito en el norte de África (principalmente Túnez, Argelia y Marruecos), así como también en Argentina y Suráfrica. En otras regiones (como California, Escocia y sur de Inglaterra) se encuentra únicamente en parques y jardines (Fady et al., 2008).

La madera de este pino es pesada y muy resinosa, con duramen amarillo-rojizo y una ancha albura con tonos rosados. Aunque es una especie cultivada desde tiempo de los romanos como fuente de madera, su interés económico ha radicado principalmente en el piñón. Otros productos con valor económico son la resina, la corteza (para extracción de taninos) y las escamas de las piñas (como combustible). Actualmente, se planta ampliamente en la orla mediterránea para protección ambiental: fijación de dunas, conservación de suelos y protección de cultivos agrícolas en zonas costeras (Fady et al., 2008).



Figura 1.9. Distribución del *Pinus pinea* en Europa. (Fuente: http://www.euforgen.org/fileadmin/templates/euforgen.org/upload/Documents/Maps/JPG/Pinus_pinea.jp)

1.3. Procesos de producción de biocombustibles

1.3.1. Introducción

Los métodos de pretratamiento de la biomasa se pueden dividir en diferentes categorías: física (molienda y fresado), fisicoquímicos (explosión de vapor, hidrotermólisis, oxidación húmeda, etc), químicos (alcalinos, ácido diluido, agentes oxidantes y disolventes orgánicos), biológicos, eléctricos, o un combinación de éstos (Alvira et al., 2010; Chiamonti et al., 2012; Hendriks and Zeeman, 2009; Kumar et al., 2009). La configuración esquemática del tratamiento previo se muestra en la Figura 1.10. Los siguientes procesos de pretratamiento se han investigado para la conversión biológica de la biomasa lignocelulósica a los combustibles y otros productos químicos valiosos, como el HMF, furfural y ácido levulínico (Behera et al., 2014).

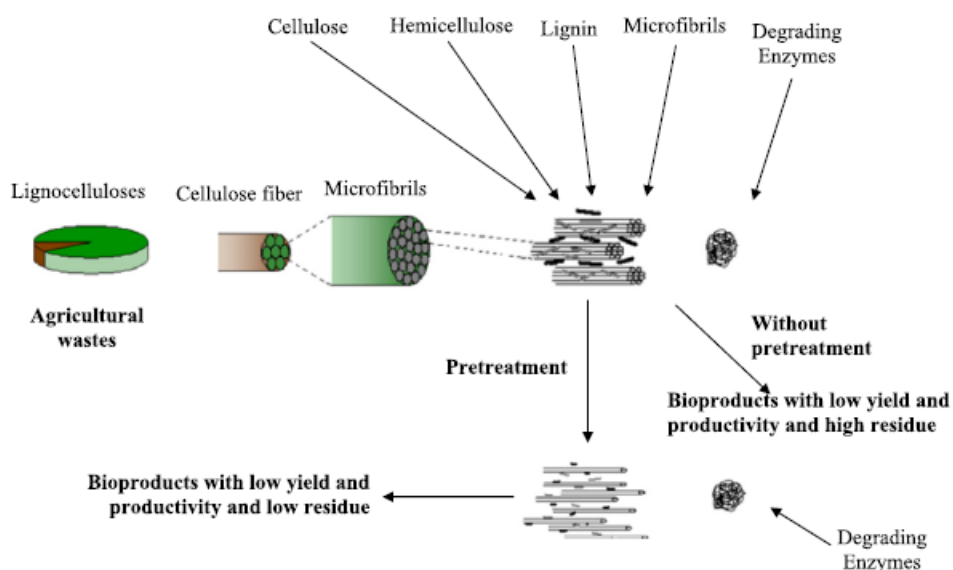


Figura 1.10. Diagrama esquemático del efecto de proceso de pretratamiento de la biomasa lignocelulósica. (Fuente: Tahezadeh and Karimi (2008))

1.3.2. Pretratamiento de la biomasa lignocelulósica

1.3.2.1. Pretratamiento Físico

Trituración mecánica

Materiales lignocelulósicos se pueden triturarse con el objetivo de reducir la cristalinidad de la celulosa. Diferentes tipos de métodos de reducción de tamaño mecánicos, tales como la reducción de tamaño grueso, astillado, trituración y molienda se aplican para mejorar la digestibilidad de la biomasa lignocelulósica. Estas técnicas de pretratamiento aumentan el área de superficie específica, así como disminuyen el grado de polimerización y la cristalinidad de celulosa. Después del astillado, el tamaño de los materiales es de aproximadamente 10-30 mm y después de la molienda o trituración, es 0,2 a 2 mm (Kumar et al., 2009; Leustean, 2009; Sun and Cheng, 2002).

El requisito de potencia de trituración mecánica de los materiales agrícolas depende del tamaño final de partícula y las características de la biomasa. Se requiere más energía para las maderas duras que para los residuos agrícolas (Silverstein et al., 2007). Diferentes estudios han informado de que la molienda puede aumentar los rendimientos de bioetanol, pero debido a su alto requerimiento de energía a escala industrial, no es económicamente sostenible (Sierra et al., 2009). Varios estudios también han evaluado la molienda después del pretratamiento químico (i) reduciendo el consumo de energía en la molienda, (ii) reduciendo el coste de la separación líquido-sólido, (iii) eliminando la energía de mezclado intensivo de las suspensiones en el pretratamiento, (iv) relación de líquido a sólido y (v) el que resulta en menor producción de inhibidores de la fermentación (Wanitwattanarumlug et al., 2012). Los diferentes tipos de procesos de molienda tales como molienda vibratoria, molienda con bolas, molienda de disco, molienda martillo se aplican para mejorar la hidrólisis enzimática (Kim et al., 2009). El molino de bolas vibratorio es más eficaz en la reducción de la cristalinidad de la celulosa de madera de picea y del álamo temblón, que la molienda con bolas normal. El molino de disco, que produce fibras, es más eficaz en la mejora de la hidrólisis de la celulosa, en comparación con un molido de martillo, que produce haces más finos (Behera et al., 2014).

Los requisitos de energía de trituración mecánica se consideran altos para la madera dura, que consume 130 kW h/tonelada para reducir el tamaño de partícula de 1,6 mm. Para reducir el tamaño de rastrojo de maíz con trituración mecánica a 1,6 mm

requiere mucha menos energía, el consumo de sólo 14 kW h/tonelada (Ruffell, 2008). Estas técnicas de pretratamiento mecánicos son procesos costosos que necesitan de mucho tiempo y energía. La molienda de compresión es aparentemente el único proceso de trituración que ha sido probado a gran escala (Wyman, 1996).

La torrefacción suave se presenta con un nuevo sistema de pretratamiento de la biomasa lignocelulósica. Entre otros efectos, la torrefacción de la biomasa mejora la capacidad de molienda de materiales fibrosos, reduciendo así la demanda de energía (necesaria antes de la hidrólisis para aumentar la relación superficie/ volumen), y hace que la biomasa esté más accesible a las enzimas para la hidrólisis (Chiaramonti et al., 2012).

Explosión de vapor

Explosión de vapor es el método más comúnmente utilizado para el pretratamiento de materiales lignocelulósicos. A continuación se resumen los efectos del tratamiento de explosión de vapor reportados en la literatura (Jeoh, 1998): (1) tratamiento de explosión de vapor aumenta la cristalinidad de la celulosa mediante la promoción de la cristalización de las porciones amorfas; (2) la hemicelulosa se hidroliza fácilmente mediante tratamiento de explosión de vapor; (3) hay evidencia de que la explosión de vapor promueve la deslignificación. En este método, la biomasa se trata a alta presión saturada de vapor y entonces la presión se reduce rápidamente, lo que hace que los materiales se someten a una descomposición explosiva.

Explosión de vapor, en comparación con otros métodos de tratamiento previo, ofrece un potencial para la inversión de capital menor, significativamente menor impacto ambiental, mayor potencial de eficiencia energética, productos químicos de procesos menos peligrosos y completa recuperación (Tomas-Pejo et al., 2008). Los métodos mecánicos convencionales requieren un 70% más energía, con respecto a la explosión de vapor para alcanzar la misma reducción del tamaño (Kumar et al., 2009; Prasad et al., 2007). Explosión de vapor se considera la opción más rentable para madera y residuos agrícolas, pero es menos eficaz para maderas blandas (Prasad et al., 2007). Los factores más importantes que afectan a la eficacia de explosión de vapor son tamaño de la partícula, la temperatura, el tiempo de residencia y el efecto combinado de temperatura y tiempo, que se describe por el factor de gravedad (Ro) (Tomas-Pejo et al., 2008). Explosión de vapor se inicia a una temperatura de entre 433 y 533 K con una

presión correspondiente entre los 0,69 y 4,83 MPa durante varios segundos o varios minutos, antes de que el material se exponga a la presión atmosférica para el enfriamiento (Heerah et al., 2008).

Explosión de vapor no catalizada se refiere a una técnica de tratamiento previo en el que la biomasa lignocelulósica se calienta rápidamente por el vapor de alta presión sin la adición de ningún producto químico. La mezcla de biomasa/vapor se mantiene durante un período de tiempo para promover la hidrólisis de hemicelulosa, y se termina por una descompresión explosiva (Mosier et al., 2005). Negro et al. (2003) estudiaron los métodos de explosión de vapor y de agua caliente para el pretratamiento de la biomasa de chopo (*Populus nigra*). La adición de H₂SO₄, o SO₂ o CO₂ en la explosión de vapor puede reducir el tiempo y la temperatura, mejorando la hidrólisis, disminuyendo la producción de compuestos inhibidores, y completando la eliminación de la hemicelulosa (Kumar et al., 2009). H₂SO₄ es un fuerte catalizador que mejora la eliminación hemicelulosa, pero también produce fácilmente sustancias inhibidoras (Balat, 2011).

El vapor caliente hace alcanzar rápidamente la temperatura de biomasa, sin dilución excesiva de los azúcares resultantes (Mosier et al., 2005). Las dos etapas de la explosión de vapor son autohidrólisis y despresurización. Durante la etapa de autohidrólisis, altas temperaturas promueven la formación de ácido acético a partir de grupos acetilo relacionados con hemicelulosa, lo que conduce a la hidrólisis de hemicelulosa. El ácido acético formado además cataliza la hidrólisis de las hemicelulosas. Las principales ventajas de proceso de pretratamiento de explosión de vapor son un menor uso de productos químicos peligrosos, de alta eficiencia energética y bajo impacto ambiental (Martín et al., 2002). Generación de productos químicos tóxicos durante el proceso y la interrupción incompleta de la lignina son los dos principales deficiencias de este proceso.

Pretratamiento de vapor

En este proceso, la biomasa se trata con vapor de alta presión saturado a temperaturas alrededor de 160-240°C y presiones entre 0,7 y 4,8 MPa. Diferentes estudios han reportado que el tratamiento previo de vapor puede hidrolizar eficientemente la hemicelulosa (parcialmente), modificar la lignina, aumentar el área de superficie y disminuir la cristalinidad de celulosa y el grado de polimerización (Ramos, 2003).

Después del pretratamiento de vapor, la inhibición de la hidrólisis se debe en gran parte a hidrófobo unión no específica de la lignina a la unión a celulosa no principal de las enzimas (Palonen et al., 2004). La deslignificación extendida, al aumentar la temperatura, afecta fuertemente a las propiedades de resistencia (Sahin and Young, 2008). El etanol puede ser producido a partir de biomasa lignocelulósica mediante tratamiento previo de vapor seguido por la hidrólisis enzimática y la fermentación. Los rendimientos de azúcar, tanto de la hemicelulosa y la celulosa son parámetros críticos para un proceso de producción de etanol económicamente viable (Öhgren et al., 2007).

1.3.2.2. Pretratamiento químico

Pretratamiento ácido

Pretratamiento ácido de lignocelulosas es un proceso muy eficaz y bien conocido para obtener una estructura adecuada para la hidrólisis enzimática. La producción de etanol lignocelulósico, que implica la hidrólisis ácida seguida de sacarificación enzimática, utilizando la enzima celulasa ha sido reportada por la mayoría de los investigadores (Araque et al., 2008; Saratale and Oh, 2014; Verma et al., 2011). El tratamiento previo con ácido puede operar ya sea bajo una alta temperatura y baja concentración de ácido (tratamiento previo con ácido diluido) o bajo una temperatura baja y alta concentración de ácido (concentrado pretratamiento ácido) (Taherzadeh and Karimi, 2007).

Para el pretratamiento ácido, diferentes estudios se ha realizado utilizando ácido sulfúrico (Chin et al., 2014; Wijaya et al., 2014; Yunus et al., 2010), clorhídrico (Zhou et al., 2012), ácido fosfórico (Tong et al., 2013) y ácido nítrico (Rodríguez-Chong et al., 2004). El pretratamiento con ácido sulfúrico ha sido ampliamente estudiado debido a su alta actividad catabólica (Yat et al., 2008). Varios científicos han informado de que el

tratamiento previo con ácido mejora la hidrólisis de las hemicelulosas y la parte amorfa de la celulosa y por lo tanto, aumenta la producción monómeros de hemicelulosas en la fracción de líquido de la hemicelulosas y en la fracción sólida de celulosa digerible (Linde et al., 2008; Sassner et al., 2008; Yang and Wyman, 2008). Aunque, los ácidos concentrados tales como ácido sulfúrico y ácido clorhídrico son poderoso agente, generalmente no se usan, debido a que los ácidos concentrados son tóxicos, corrosivos y peligrosos en la naturaleza. En la Tabla 1.5, están las ventajas (Silverstein, 2005) y desventajas (Zheng et al., 2009) de usar el ácido sulfúrico como agente catalizador en la hidrólisis ácida.

El pretratamiento ácido requiere alta temperatura y presión para un pretratamiento eficaz. El proceso más eficaz para pretratamiento de materiales lignocelulósico es el uso de ácidos diluidos, ya que genera menor cantidad de productos de degradación, comparándolo con los pretratamientos ácidos concentrados (Pingali et al., 2010; Wyman et al., 2005). Las altas temperaturas y presiones utilizados en los procesos industriales, provocan que la glucosa y la xilosa se degrade a productos tales como furfural y hidroximetilfurfural, respectivamente, y estos a su vez en ácido fórmico y ácido levulínico. Los compuestos fenólicos también se forman durante el pretratamiento mediante la descomposición parcial de la lignina.

Tabla 1.5. Ventajas y desventajas de la hidrólisis ácida.

Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> • Hidrólisis de los componentes de hemicelulosa para producir un jarabe de azúcares monoméricos; • La exposición de la celulosa para la digestión enzimática por la eliminación de la hemicelulosa y parte de la lignina; • La solubilización de metales pesados que pueden contaminar el material de partida. 	<ul style="list-style-type: none"> • Corrosión de materiales caros de construir; • Ácidos prehidrolizados deben neutralizarse antes de proceder a la de fermentación de los azúcares; • La formación de productos de degradación y la liberación de inhibidores de la fermentación • Es necesaria la eliminación de sales de neutralización; • La reducción del tamaño de partícula de la biomasa es necesario.

Fuente: Elaboración propia

Pretratamiento alcalino

También se ha investigado el uso de pH elevados para el pretratamiento de la biomasa. La aplicación de soluciones tales como NaOH, Ca (OH)₂ o amoníaco puede ser útil para eliminar la lignina y una parte de la hemicelulosa. La hidrólisis alcalina también es adecuada para aumentar eficientemente la accesibilidad de la enzima a la celulosa (Chiaramonti et al., 2012). La eficiencia de la hidrólisis alcalina depende de las condiciones del sustrato y tratamiento, siendo más eficaz para la biomasa con bajo contenido en lignina, tales como residuos agrícolas. El hidróxido de sodio aumenta la superficie interna de la celulosa, disminuye el grado de polimerización y la cristalinidad y alterando la estructura de la lignina (McMillan, 1994; Taherzadeh and Karimi, 2008).

El mecanismo de la hidrólisis alcalina está relacionada con la saponificación de enlaces éster intermoleculares de la lignina y parte de la hemicelulosa. La reducción de este reticulación tiende a aumentar la porosidad del material (Tarkow and Feist, 1969). La digestibilidad de la madera dura tratada con NaOH aumentó de 14% a 55% con la disminución del contenido de lignina de 24-55% al 20% (Millett et al., 1976). El pretratamiento mediante NaOH diluido es también eficaz para la hidrólisis de paja con relativamente bajo contenido en lignina de 10-18% (Bjerre et al., 1996). Estos tipos de pretratamiento se pueden realizar a temperaturas bajas pero con un tiempo relativamente largo y con una alta concentración de bases. Entre los pretratamientos químicos, la hidrólisis alcalina resultó ser el método más eficaz para romper los enlaces éster entre la lignina, hemicelulosa y celulosa y evitando la fragmentación de los polímeros de hemicelulosa (Gáspár et al., 2007).

Ozonólisis

El tratamiento con ozono es una forma de reducir el contenido de lignina en los residuos lignocelulósicos (Shatalov and Pereira, 2008). La ozonólisis implica el uso de gas ozono para descomponer la lignina y la hemicelulosa y aumentar la biodegradabilidad de la celulosa. El pretratamiento se lleva a cabo normalmente a temperatura ambiente y es eficaz en la eliminación de lignina sin la formación de subproductos tóxicos (Vidal and Molinier, 1988). Los principales parámetros en ozonólisis son el contenido de humedad de la muestra, tamaño de partícula y la concentración de ozono en el flujo de gas. Tiene la ventaja de que el proceso se lleva a

cabo a temperatura ambiente y presión normal, y no conduce a la formación de cualquier compuesto inhibidor (García-Cubero et al., 2009; Neely, 1984).

La ozonólisis se ha estudiado para degradar la lignina y la hemicelulosa en muchos materiales lignocelulósicos tales como paja de trigo (Ben-Ghedalia and Miron, 1981), centeno paja (García-Cubero et al., 2009), bagazo de caña, heno verde, de cacahuete, de pino (Neely, 1984), paja de algodón (Silverstein et al., 2007) y el serrín de álamo (Kumar et al., 2009). La ozonólisis ha conseguido descomponer el 49% de lignina en tallos de maíz y 55-59% de la lignina libre de hemicelulosa hidrolizada (tallos de maíz) (Williams, 2006). En un estudio de García-Cubero et al. (2009), fueron pretratadas pajas de trigo y centeno con ozono para aumentar el grado de hidrólisis enzimática de los azúcares potencialmente fermentables. En este estudio se obtuvieron rendimientos de hidrólisis enzimática de hasta 88,6% y 57% comparado con el 29% y el 16% en la paja de trigo y el centeno no ozonizada, respectivamente. Sin embargo, ozonólisis requiere una gran cantidad de ozono, que hace que el proceso sea caro (Sun and Cheng, 2002).

Organosolvólisis

En el proceso organosolvólisis se utiliza una mezcla orgánica o una mezcla acuosa de disolventes orgánicos con catalizadores ácidos inorgánicos (HCl o H₂SO₄) para romper los enlaces internos de lignina y hemicelulosa. Los solventes comúnmente utilizados en el proceso son metanol, etanol, acetona, etilenglicol, trietilenglicol, glicerol, fenol acuoso, acuoso n-butanol, alcohol de tetrahydrofurfurilo, etc. (Chum et al., 1988; Taherzadeh and Karimi, 2008; Thring et al., 1990). Ácidos orgánicos tales como el ácido oxálico, el ácido salicílico y acetilsalicílico también se pueden utilizar como catalizadores en el proceso organosolvólisis (Sarkanen and Tillman, 1980). A altas temperaturas (>185°C), la adición de catalizador es innecesario para la satisfactoria deslignificación del material (Aziz and Sarkanen, 1989; Sarkanen and Tillman, 1980). Debido al alto costo de los disolventes, el etanol y el metanol se prefieren sobre alcoholes de puntos de ebullición más altos, tales como etilenglicol, alcohol de tetrahydrofurfurilo, etc (Arato et al., 2005). La temperatura de operación habitual de la organosolvólisis se encuentra en el rango de entre 150 y 200°C.

Este proceso elimina la lignina y promueve la solubilización casi completa de hemicelulosa, mediante la hidrólisis de los enlaces internos de lignina, así como enlaces éster de ácido glucurónico y éter 4-O-metilo entre la lignina y la hemicelulosa y hidroliza los enlaces glicosídicos presentes entre hemicelulosa y celulosa (Zhao et al., 2009). Por lo general, un alto rendimiento de xilosa se puede obtener con la adición de ácido. Los disolventes utilizados en el proceso deben ser drenados desde el reactor, evaporados, condensados y reciclados para reducir el coste. La eliminación de disolventes del sistema es necesaria porque los disolventes pueden ser inhibitorios para el crecimiento de organismos, en la hidrólisis enzimática y la fermentación (Sun and Cheng, 2002).

1.3.2.3. Pretratamiento biológico

Digestión enzimática

El pretratamiento biológico para la deslignificación de los materiales lignocelulosicos es un método seguro y respetuoso con el medio ambiente, que aumenta la susceptibilidad y la digestibilidad de estas materiales frente a la hidrólisis enzimática (Okano et al., 2005; Pan et al., 2006; Zadrazil, 1985). El pretratamiento biológico se basa en el uso de microorganismos capaces de degradar la lignina, la hemicelulosa y la celulosa. La celulosa resultó ser el componente más resistente al ataque biológico. El pretratamiento biológico es un proceso respetuoso del medio ambiente, pero las tasas de los pretratamiento biológico son muy lento para fines industriales (Hatakka, 1983), presentando como desventajas el tiempo de residencia que es de 10 a 14 días, las condiciones de crecimiento, gran cantidad de espacio y el alto coste de las enzimas que realizan este proceso. Además, una parte de la fracción de carbohidratos son consumidos por los microorganismos (Singh et al., 2014). Las principales ventajas de este método son: el alto rendimiento de producto, las condiciones moderadas de la reacción, la poca generación de compuestos tóxicos y una mínima demanda de energía (Kirk and Jeffries, 1996). Algunas bacterias y hongos de podredumbre blanca y parda oxidan completamente la madera, por lo que tienen aplicaciones biotecnológicas en la conversión de los materiales lignocelulosicos a productos de valor industrial (Balan et al., 2008).

1.3.2.4. Pretratamiento físico-químico

Oxidación húmeda

En el proceso de oxidación húmeda el material es tratado con agua y aire u oxígeno a temperaturas superiores a 120°C (McGinnis et al., 1983). La oxidación húmeda aumenta el contenido de celulosa como resultado de la solubilización de hemicelulosa y lignina (Martin et al., 2007). Un problema crítico es la formación durante el proceso de compuestos, haciendo necesaria una etapa de desintoxicación para mejorar la fermentabilidad del hidrolizado (Saha, 2004). Lo mismo ocurre con la fermentación de los hidrolizados de ácido diluido de paja de trigo y cáscaras de arroz (Saha et al., 2005a; Saha et al., 2005b).

Explosión de Fibra de Amonio (AFEX)

El método de pretratamiento AFEX es bastante similar al método de explosión de vapor. En el pretratamiento AFEX, la biomasa lignocelulósica se expone a amoníaco líquido a una temperatura moderada (60-100°C) y alta presión (250-300psi) durante un período de tiempo y luego la presión se reduce de repente. Los parámetros de funcionamiento de AFEX son carga de amoníaco, la temperatura, la carga de agua, purgar la presión, el tiempo y el número de tratamientos (Holtzaple et al., 1991). Las principales ventajas de este método son: alta área superficial, mejorar la digestibilidad y la accesibilidad de la enzima (por ejemplo, celulasa) (Teymouri et al., 2005), no hay productos químicos tóxicos que se generen. Una limitación importante del método de pretratamiento AFEX es que, no elimina significativamente hemicelulosas que pueden reducir la accesibilidad de la enzima y el rendimiento en azúcar reductores totales (Zhang et al., 2007).

Agua caliente

El pretratamiento agua caliente, utiliza agua a temperaturas elevadas y presiones altas para mantener su forma líquida con el fin de promover la integración y la separación del rango de exploración. El rango de temperatura para materiales lignocelulósicos varía desde 160°C a 240°C y en períodos de tiempo que van desde unos pocos minutos hasta una hora, con temperaturas que dominan la formación de azúcar. La recuperación de xilosa es alta (88-98%) y no se necesita ningún catalizador ácido o químico en este proceso, lo que hace que sea económicamente interesante y atractivo

para el medio ambiente (Mosier et al., 2005). Sin embargo, requiere mayor energía debido a altas presiones y una gran cantidad de agua.

1.3.3. Líquidos iónicos

Los líquidos iónicos son sales líquidas a temperatura ambiente (Wasserscheid and Welton, 2008). Los líquidos iónicos han sido objeto de intenso estudio en los últimos años para la comprensión de su papel en la síntesis de productos químicos (Hallett and Welton, 2011), catálisis (Pârvulescu and Hardacre, 2007), biocatálisis (van Rantwijk and Sheldon, 2007), en dispositivos electroquímicos (Hagiwara and Lee, 2007), o como fluidos de ingeniería. Se han encontrado numerosas aplicaciones industriales (Plechkova and Seddon, 2008) y también se han investigado como disolventes para el tratamiento de la biomasa. El uso de líquidos iónicos como disolventes para el pretratamiento de la biomasa lignocelulósica ha recibido una gran atención en la última década (Fukaya et al., 2008; Kosan et al., 2008; Olivier-Bourbigou et al., 2010). Los líquidos iónicos son una nueva clase de disolventes con bajos punto de fusión ($<100^{\circ}\text{C}$), amplia gama de temperatura de líquido, de alta polaridad, con alta estabilidad térmica y química, no inflamable, con presión de vapor insignificante y buenas propiedades de solvatación (Hayes, 2009b; Zavrel et al., 2009).

Líquidos iónicos modernos contienen cationes orgánicos, generalmente iones de amonio cuaternarios aromáticos o alifáticos. Una selección representativa de cationes comunes se muestra en la Figura 1.11.

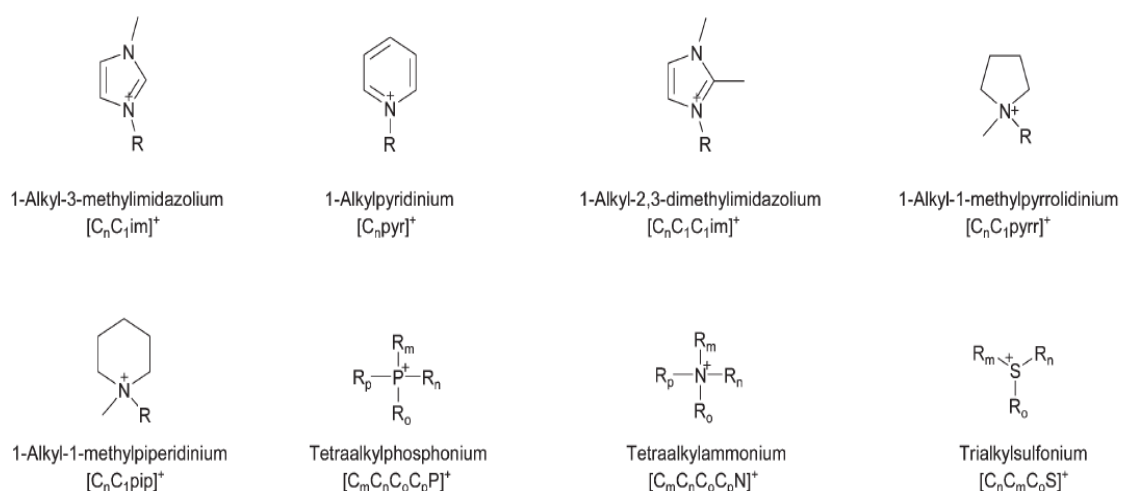


Figura 1.11. Cationes comunes utilizados en líquidos iónicos modernos Fuente: (Brandt et al., 2013)

Líquidos iónicos aniónicos pueden ser tanto inorgánico como orgánico (Figura 1.12). Con la excepción de aniones haluros, por lo general son poliatómicos y la carga negativa se distribuye en varios átomos. Muchos aniones populares son sustituidos por átomos de flúor electroaceptores, tales como trifluorometanosulfonato o tetrafluoroborato, que ayuda a la deslocalización de la carga negativa. Se han desarrollado recientemente debido a su bajo coste y menor toxicidad/impacto medioambiental.

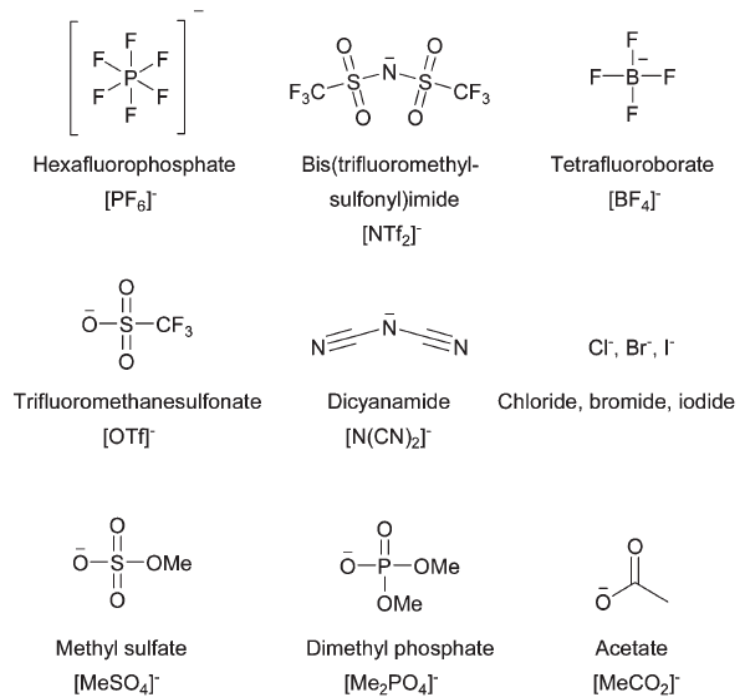


Figura 1.12. Aniones comunes utilizados en líquidos iónicos modernos. Fuente: Brandt et al. (2013)

Los líquidos iónicos están siendo investigados como disolventes para la ruptura de materiales lignocelulósicos debido a diversos factores. Una ventaja importante y ampliamente resaltada del proceso de disolución en líquido iónico, en comparación con otras opciones de pretratamiento, es su capacidad para romper la porción cristalina de la celulosa presente en la biomasa lignocelulósica y simultáneamente alterar la matriz de lignina y hemicelulosa. Mientras que el último es un requisito previo para que la sacarificación enzimática se produzca de forma significativa, la cristalinidad de la celulosa modificada también tiene un impacto positivo en la velocidad de sacarificación (Dadi et al., 2006). Una ventaja de los líquidos iónicos menos mencionada es su baja volatilidad, por lo que es posible pretratar biomasa a presión atmosférica, incluso a temperaturas que superan el punto de ebullición del agua, así como la capacidad de manejar un licor sin olor y relativamente seguro en comparación con disolventes

volátiles o soluciones acuosas que contienen sulfuro. Sin embargo, la deconstrucción con líquido iónico sólo será viable si sus ventajas superan sus inconvenientes, lo más prominente es el coste de los líquidos iónicos en relación con el valor del sustrato procesado (Brandt et al., 2013).

1.3.4. Técnicas de Hidrólisis

Los polímeros de hidratos de carbono en los materiales lignocelulósicos necesitan ser convertidos en azúcares simples antes de la fermentación, a través de un proceso llamado hidrólisis (Taherzadeh and Karimi, 2007). Recientemente se han descrito varios métodos para la hidrólisis de materiales lignocelulósicos. Los métodos más comúnmente aplicados se pueden clasificar en dos grupos: la hidrólisis química (hidrólisis con ácido diluido o concentrado) y la hidrólisis enzimática. Hay algunos otros métodos de hidrólisis en la que se aplican productos químicos o enzimas. Por ejemplo, lignocelulosa puede ser hidrolizada por rayos gamma o irradiación con haz de electrones, o irradiación de microondas. Sin embargo, estos procesos todavía son comercialmente inviables (Balat, 2011).

1.3.4.1. Hidrólisis química

La hidrólisis química implica la exposición de materiales lignocelulósicos a un producto químico durante un período de tiempo a una temperatura específica, generando como resultados monómeros de hidratos de carbono a partir de polímeros de celulosa y hemicelulosa. En la hidrólisis química, el pretratamiento y la hidrólisis pueden llevarse a cabo en un solo paso (Taherzadeh and Karimi, 2007). Hay dos tipos básicos de procesos de hidrólisis ácida: en ácido concentrado o en ácido diluido.

Hidrólisis ácida diluida: Es la tecnología más antigua para la conversión de biomasa de celulosa en bioetanol. Este proceso se lleva a cabo en condiciones de alta temperatura y presión, y tiene un tiempo de reacción en el intervalo de segundos o minutos, lo que facilita el procesamiento continuo. La combinación de ácido, alta temperatura y presión se hace inevitable el uso de materiales especiales de los reactores, con lo cual pueden hacer que el reactor sea caro. La primera reacción convierte los materiales celulósicos a azúcar y la segunda reacción convierte los azúcares a otras sustancias químicas. Por desgracia, las condiciones que hacen que la primera reacción que se produzca también son las condiciones adecuadas para que suceda la segunda reacción (Karunanithy et al., 2008). La hidrólisis ácida diluida se produce en dos etapas

para que la reacción de la hemicelulosa y la celulosa sean más eficientes. La primera etapa se lleva a cabo a baja temperatura para maximizar el rendimiento a partir de la hemicelulosa, y la segunda, la etapa de temperatura más alta está para optimizar la hidrólisis de la porción de la celulosa de la materia prima (Demirbaş, 2005).

Hidrólisis ácida concentrada: Este proceso implica un pretratamiento ácido (diluido o concentrado) para liberar los azúcares de la hemicelulosa, mientras que la etapa subsiguiente requiere la biomasa seca seguido por la adición de ácido sulfúrico concentrado (70 a 90%) (Hayes, 2009a). La concentración de ácido utilizado en el proceso de hidrólisis ácida concentrada está en el intervalo de 10-30% (Iranmahboob et al., 2002). Los tiempos de reacción son típicamente mucho más tiempo que para el proceso de ácido diluido. Este proceso proporciona una conversión completa y rápida de la celulosa a glucosa y hemicelulosas a los azúcares de cinco carbonos con poca degradación. Los factores críticos necesarios para que este proceso sea económicamente viables es la recuperación óptima de azúcar y el coste para la recuperación eficaz del ácido para su futuro reciclado (Demirbas, 2008). En comparación con la hidrólisis ácida diluida, la hidrólisis ácida concentrada conduce a poca degradación de azúcar y da rendimientos de azúcar cercana al 100% (Yu et al., 2007). El proceso ácido concentrado ofrece más potencial de reducción de costes que el proceso de ácido diluido. Sin embargo, los problemas de medio ambiente, de la corrosión, el alto coste del consumo y de la recuperación del ácido, presentan mayores barreras para el éxito económico.

Una comparación entre los métodos de hidrólisis ácida diluida y concentrada se presenta en la Tabla 1.6.

Tabla 1.6. Comparación entre los métodos de hidrólisis ácida concentrado y diluido

<i>Hidrólisis ácida</i>	<i>Ventajas</i>	<i>Desventajas</i>
Ácido concentrado	<ul style="list-style-type: none"> ● operado a baja temperatura ● alto rendimiento en azúcar 	<ul style="list-style-type: none"> ● alto consumo de ácido ● corrosión del equipo ● alto consumo de energía para la recuperación de ácido ● tiempo de reacción más largo (2-6h)
Ácido diluido	<ul style="list-style-type: none"> ● bajo consumo de ácido ● corto tiempo de residencia 	<ul style="list-style-type: none"> ● operado a alta temperatura ● bajo rendimiento en azúcar ● corrosión del equipo ● formación de subproductos indeseables

Fuente: Elaboración propia

1.3.4.2. Hidrólisis enzimática

Cuando la hidrólisis es catalizada por enzimas, el proceso se conoce como hidrólisis enzimática. La hidrólisis ácida tiene una desventaja importante donde los azúcares se convierten en productos de degradación como alquitranes. Esta degradación se puede prevenir mediante el uso de enzimas que favorecen 100% la conversión selectiva de la celulosa en glucosa. (Balat, 2011). La hidrólisis enzimática de materiales lignocelulósicos naturales es un proceso muy lento debido a la hidrólisis de celulosa se ve obstaculizada por los parámetros estructurales del sustrato, tales como el contenido de lignina y de hemicelulosa, área superficial, y la cristalinidad de la celulosa (Pan et al., 2006). El coste de la hidrólisis enzimática es bajo en comparación con la hidrólisis ácida o alcalina, porque la hidrólisis a través de enzima se lleva a cabo normalmente en condiciones suaves (pH 4,8), a bajas temperaturas (318-323 K) y no presentan problemas de corrosión (Sun and Cheng, 2002). La hidrólisis enzimática tiene actualmente altos rendimientos (75-85%) y todavía se proyectan mejoras (85 a 95%), ya que el campo de investigación todavía es joven (Hamelinck et al., 2005).

1.4. Biomaterial: carbón activado

1.4.1. Antecedentes Históricos

Es prácticamente imposible determinar cuándo se comienza a utilizar el carbón activado. Se considera que se aplica por primera vez en medicina y que el producto se preparaba principalmente a partir de madera, que era parcialmente carbonizada.

Los primeros usos datan de 1550 a.C. donde se encontró en Tebas (Grecia) un papiro que describía el uso del carbón vegetal para algunas prácticas médicas. Posteriormente en el año 400 a.C., Hipócrates recomendaba filtraba el agua con carbón vegetal para eliminar los malos olores y sabores, y para prevenir enfermedades. Los barcos fenicios en el año 450 a.C. almacenaban el agua en barriles con la parte interna carbonizada. Y esta práctica continuó hasta el siglo XVIII para prolongar el suministro de agua durante los viajes transoceánicos.

En el año 1793, se documenta la primera aplicación de carbón activo en el tratamiento de corrientes gaseosas, cuando el doctor M. Kehl utiliza el carbón vegetal para eliminar los olores derivados de la gangrena. El mismo doctor recomendando el uso del agua filtrada con carbón vegetal. Un año después, en 1794, aparece el primer uso

industrial del carbón activado, en una industria azucarera Inglesa se utilizó como agente decolorante para los jarabes. Esta aplicación permaneció en secreto durante 18 años hasta que en 1812 apareció la primera patente. En 1854 tiene lugar la primera aplicación a gran escala del carbón activo en tratamiento de corrientes gaseosas, cuando el alcalde de Londres ordena instalar filtros de carbón vegetal en los sistemas de ventilación de las cloacas. En 1872 aparecen las primeras máscaras con filtros de carbón activo utilizadas en la industria química para evitar la inhalación de vapores de mercurio.

El término adsorción solo fue usado en 1881 por Kaiser para describir como los carbones activados era capaz de retener gases. Aproximadamente por estas fechas R. Von Ostrejko, considerado el inventor del carbón activo, desarrolla varios métodos para producir carbón activado tal y como se conoce hoy.

Así, R. Von Ostrejko patentó en 1901 dos métodos diferentes de activación. Uno que consistía en la carbonización de materiales lignocelulósicos con cloruros metálicos; lo que se conocido hoy en día por Activación Química. El segundo correspondía a una gasificación suave de materiales previamente carbonizados con vapor de agua o CO₂, que corresponde a activación física.

Con la Primera Guerra Mundial, se aceleró la necesidad de desarrollar filtros de carbón activo para máscaras de gas. Esto fue el punto partida para la industria del carbón activado con diversas aplicabilidades, no sólo para la adsorción de gases tóxicos sino en la potabilización del agua. A partir de entonces, tuvo lugar al desarrollo de multitud de carbones para las más diversas aplicaciones: depuración de agua y gas , aplicaciones médicas, soporte de catalizadores, abono para el suelo, etc.

1.4.2. Tipos de carbón activado

El termino carbón activado se aplica a un grupo de carbones porosos, con una gran superficie interna y una elevada porosidad. Hernández et al. (2003) define carbón activado como un carbón amorfo que ha sido sometido a tratamientos especiales para aumentar su superficie, aumentando así sus poros.

El carbón activado puede encontrarse en diferentes formatos (Figura 1.13), tales como, polvo, granular, extrusionado, fibra e incluso telas (Reinoso, 2005). Con esta gran variedad de formatos se consiguen satisfacer las posibles necesidades que surjan en las diferentes industrias.

Los carbones activados, se pueden dividirse en dos clases atendiendo a su forma y aplicación (Bansode et al., 2004):

- Carbón de forma granular para la adsorción de gases y vapores.
- Utilizan para la purificación de líquidos, donde el carbón en polvo es lo más utilizado.

Todos los átomos de carbón son capaces de adsorber moléculas de olor, sabor o color indeseables, el carbón activado se diferencia en la cantidad de átomos en la superficie capaces de realizar la adsorción. Es decir, cuando se activa el carbón se multiplica el área superficial, aumentando la cantidad de poros. Con la activación del carbón, se aumenta en 200-300 veces el área superficial (Fombuena and Valentín, 2010).

Así que, el carbón activado es un concepto relacionado a todo tipo de producto derivado de material carbonoso. Presenta un área superficial muy alta y un elevado grado de porosidad, tales características son obtenidas de forma artificial, a través del proceso de carbonización (Fombuena and Valentín, 2010).

Estas características únicas hacen de los carbones activos un producto muy versátiles, que han sido estudiados no sólo como adsorbentes, sino también como catalizadores y soportes de catalizadores utilizados para diferentes propósitos, tales como la eliminación de contaminantes procedentes de fases gaseosas o líquidos y la purificación o recuperación de productos químicos (Derbyshire et al., 2001).

Carbón Activo en forma de polvo



Carbón Activo granular

Troceado



Conformado



Figura 1.13. Formas más comunes del carbón activado. (Fuente: Elaboración propia)

Lo que diferencia entre un tipo y otro de carbón, es el arreglo de sus átomos, de esta forma el carbón activado, presenta en su estructura placas graníticas combinadas, como representada en la Figura 1.14. Estas placas graníticas están separadas y conformadas en distintas orientaciones, por lo que existen espacios entre ellas, que corresponden a los poros, la principal característica del carbón activado. Cuanto mayor el número de poros, mayor será el área superficial y, consecuentemente, su poder adsorbente. El área superficial para los carbones comerciales está entre 500-1500 m²/g (Fombuena and Valentín, 2010).

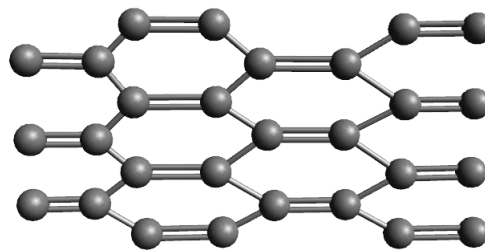


Figura 1.14. Arreglo de los átomos de carbón activado (Adaptado de Fombuena y Valentín, 2010).

Estas características da como resultado un carbón con gran poder de adsorción susceptible de ser utilizado para muy diferentes usos (Reinoso, 2005). Entre estos usos, últimamente han cobrado gran importancia las aplicaciones medioambientales, entre las que se encuentran: la protección del medio ambiente, el tratamiento de aguas residuales, los filtros de gas, etc. (Paraskeva et al., 2008).

La abundancia de material precursor y el bajo costo de fabricación de los carbones activados, también influyen en su gran uso como adsorbente (Barreto, 2005). Carbón activado puede ser producido, teóricamente, a partir de cualquier material carbonoso rico en el elemento carbón. Tradicionalmente, se usa como precursor el carbón, turba y lignito. Pero en los últimos años, se ve el crecimiento en la producción de carbón activado a partir de subproductos y residuos agrícolas. Y por eso, hay varios trabajos utilizando residuos agrícolas como material precursor (Hernández-Montoya and Bonilla-Petriciolet, 2012; Liu et al., 2012).

1.4.3. Características Físicas: Importancia de los poros

El carbón activo presenta una estructura microcristalina que se asemeja en cierta medida a la del grafito. Esta estructura da lugar a una distribución de tamaño de poro bien determinada donde se puede distinguir tres tipos de poros según su radio: macroporos ($r > 50\text{nm}$), mesoporos ($50 > r > 2\text{ nm}$) y microporos ($r < 2\text{ nm}$) (Figura 1.15). El volumen de los poros es en general mayor de $0,2\text{cm}^3/\text{g}$ y el área específica interna correspondiente está generalmente comprendida entre los 300 y los $2.500\text{m}^2/\text{g}$. (Rouquerol et al., 1994).

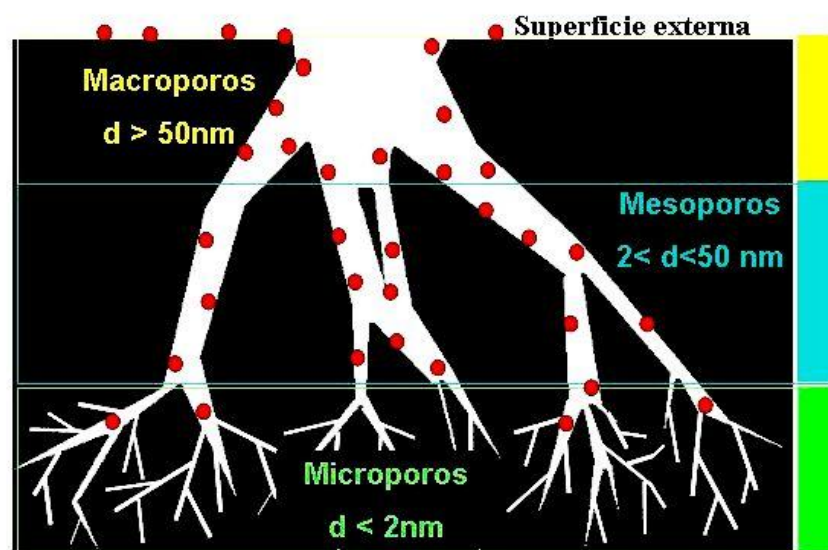


Figura 1.15. Clasificación de los poros según la IUPAC. (Fuente: Sing (1985))

Para la IUPAC los diferentes tipos de poros pueden ser definidos según su forma: los microporos contribuyen para una mayor área superficial que, consecuentemente, proporciona una alta capacidad de adsorción para las moléculas pequeñas, tales como gases y solventes comunes; los mesoporos son importantes para la adsorción de moléculas grandes tales como colorantes y la mayoría de su área superficial es conseguida a través de impregnación con productos químicos; y ya los macroporos son considerados sin importancia para la adsorción y su función básicamente es servir como medio de transporte para las moléculas gaseosas (Rouquerol et al., 1994).

Los poros del carbón activo pueden ser separados también según su función, los cuales serían dos: poros de adsorción y poros de transporte. Los primeros corresponden a espacios vacíos entre las placas graníticas y que poseen diámetro entre una y cinco veces el tamaño de la molécula del adsorbato.

La Figura 1.16 representa la clasificación general, en cuanto a forma, de los tipos de poros de un sólido poroso en cuanto a la accesibilidad. Los poros de un sólido puede ser cerrado (a) o abierta (b, c, d, e, f, g). Los poros cerrados se disponen de manera aislada en relación con sus vecinos y son inaccesibles para los flujos externos líquidos o gaseosos. Sin embargo, una fuerte influencia en las propiedades macroscópicas tales como la densidad, conductividad térmica y resistencia mecánica del material. Los poros abiertos, a su vez, se comunican con la superficie exterior (Rouquerol et al., 1994).

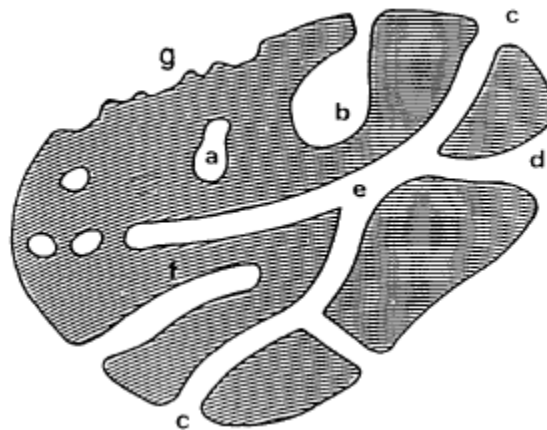


Figura 1.16. Representación de una sección transversal de un material poroso (Fuente: Rouquerol et al. (1994)).

La mayor parte de la adsorción ocurre en los microporos, que corresponden a 90% de todos los poros, sin embargo los mesoporos y macroporos son de extraordinaria importancia, pues permiten el acceso de los adsorbatos que se van a retener (Reinoso, 2005).

1.4.4. Características Químicas: Estructura química del carbón activado

Las propiedades adsorbentes de los carbones activos también son definidas por su naturaleza química. En la estructura del carbón activado se puede encontrar combinado, en mayor o menor proporción, con otros átomos de carbono, resultando en distintos grupos superficiales (Fombuena and Valentín, 2010). Y también, carbones con valencia saturada y grupos funcionales (oxígeno y nitrógeno) y componentes inorgánicos responsables de las cenizas, sin embargo todos ellos con su importancia en el proceso de adsorción (Reinoso, 2005). En la Figura 1.17, están representados algunos de los grupos superficiales del oxígeno.

Los carbones presentan a principio un bajo carácter hidrófobo, que puede ser cambiado por la adición de grupos superficiales polares. Esto es posible por oxidación de agentes oxidantes. Las moléculas de agua son adsorbidas por los grupos oxigenados, y la misma agua adsorberá otras moléculas por puentes de hidrógeno. Esta característica es importante para la adsorción de compuestos inorgánicos en fase acuosa. Cuando se habla de adsorción de gases, donde es más interesante que los poros estén desocupados, esta propiedad no es tan beneficiosa, ya que la retención de agua perjudicaría a la adsorción del carbón (Fombuena and Valentín, 2010).

Otra propiedad química muy importante para el carbón es su carácter anfótero (Reinoso, 2005). Lo cual significa que el carbón por su superficie ácida o básica puede actuar mejor adsorbiendo compuestos básicos o ácidos, respectivamente.

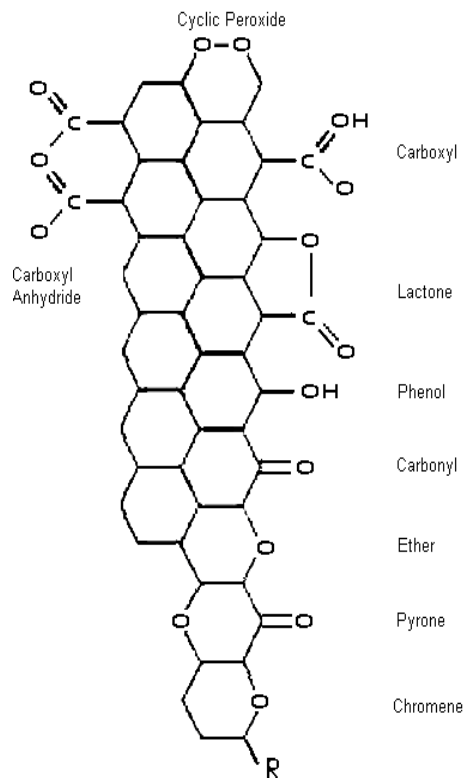


Figura 1.17. Algunos grupos superficiales de oxígeno en carbones activados (Fuente: Reinoso (2005))

Por otro lado, los grupos ácidos tienden a liberar protones, especialmente en los medios básicos, mientras que los grupos básicos tienden a captarlos cuando se encuentran en un medio ácido. De esta forma pueden aparecer cargas positivas o negativas en la superficie del carbón. De forma genérica: si el pH del medio es mayor que el punto de carga cero del carbón (pH_{PZC} , pH en el cual el número de cargas positivas es igual al de cargas negativas de forma tal que la carga neta sobre la

superficie del carbón es cero) (Noh and Schwarz, 1989), tendremos un predominio de las cargas negativas en la superficie del carbón; por el contrario, si $pH < pH_{PZC}$ obtendremos una superficie cargada positivamente. Las condiciones en las que un carbón tenga una carga neta negativa serán preferibles para adsorber cationes y aquellas en las que presente una carga neta positiva lo serán para adsorber aniones (Fombuena and Valentín, 2010).

1.4.5. Procesos de Activación

Existen dos metodologías para la preparación de este tipo de materiales: la activación química y la física. La activación física emplea gases tales como nitrógeno, vapor de agua, dióxido de carbono, aire o mezclas de los anteriores, sin la presencia de un catalizador. La activación química implica un esquema de pretratamiento donde se mezcla el material con un producto químico antes del proceso de activación. Los productos químicos más ampliamente utilizados incluyen H_3PO_4 , H_2SO_4 , KOH, NaOH y $ZnCl_2$ (Paraskeva et al., 2008)

La investigación ha demostrado que las propiedades de carbonos, tales como superficie específica, porosidad, densidad y resistencia mecánica dependen en gran medida de la materia prima utilizada. Sin embargo, puede ser posible modificar estos parámetros cambiando las condiciones en el proceso de pirólisis de los materiales lignocelulósicos. En particular, los parámetros más importantes a tener en cuenta durante la preparación de carbones activados a partir de materiales lignocelulósicos se describen a continuación (Hernández-Montoya and Bonilla-Petriciolet, 2012):

- Agente Activador: El agente activador más utilizado es el H_3PO_4 , siendo sustituto del $ZnCl_2$ por problemas de polución con la deposición de zinc.
- Relación entre agente activador y precursor: La saturación completa del precursor lignocelulósico debe ser suficiente para desarrollar una porosidad adsorbente con el mínimo consumo de agente activador.
- Velocidad de calentamiento: Regularmente, se utiliza rampas de calentamiento con una velocidad baja para la preparación de carbón activado. Esto permite la combustión completa del material precursor y favorece un mejor desarrollo de la porosidad.

- Temperatura de carbonización: Tiene la mayor influencia sobre la calidad del carbón activado durante el proceso de activación. Debe ser por lo menos 400°C para asegurar la completa transformación de compuestos orgánicos (presentes en los precursores lignocelulósicos) en las estructuras de grafeno.
- Tiempo de carbonización: Buscar la optimización con el fin de obtener el máximo desarrollo de porosidad mientras y la mínima pérdida debido a una combustión excesiva del material.
- Velocidad del flujo de gas: Se ha observado que durante la pirolisis, el paso de un gas inerte, tal como N₂ o Ar, favorece el desarrollo de la porosidad del carbón.
- Efecto del proceso de lavado: Durante la pirolisis del residuo lignocelulósico, la presencia de agentes activadores químicos genera átomos de carbono con una estructura más ordenada. La posterior eliminación de agentes activadores químicos, por medio de sucesivos lavados, permitirá un mejor desarrollo de la porosidad.

Activación Física

La activación física se desarrolla normalmente en dos etapas. La primera etapa corresponde a la carbonización del material a altas temperaturas bajo atmosfera inerte. Durante esta fase el material se descompone en carbón, alquitranes y gases. En el proceso de carbonización el material precursor es sometido a temperaturas medias y a baja velocidad de calentamiento, con el fin de reducir las pérdidas del carbón. El segundo paso, se pone el material resultante de la carbonización en contacto con el agente activador (vapor, CO₂, aire), bajo altas temperaturas y por un determinado tiempo específico (Paraskeva et al., 2008). En la Figura 1.18, se presenta un diagrama con los diferentes procesos que pueden tener lugar en una activación física.

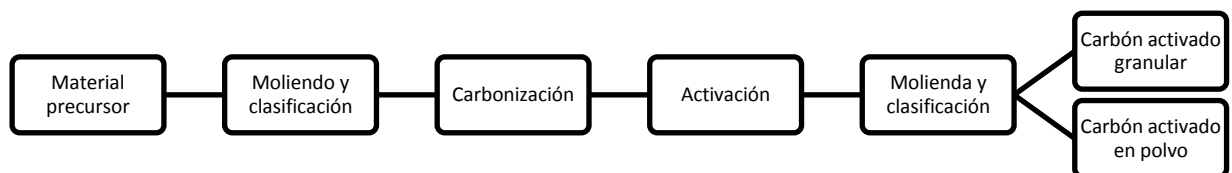


Figura 1.18. Procesos para la producción de carbón activado a través de activación física (Fuente: Adaptado de Fombuena y Valentín, 2010)

El vapor y CO₂ son los dos gases más utilizados en el proceso de activación física de los átomos de carbono. De acuerdo con la literatura, el vapor o el CO₂ reaccionan con las estructuras de carbono para producir CO, CO₂, H₂ o CH₄ (Hernandez-Montoya et al., 2012). El grado de activación, o grado de conversión, es designado por la ecuación abajo (Eq. 1.1) (Claudino, 2003; Hernandez-Montoya et al., 2012):

$$GA = \frac{m_0 - m}{m_0} \times 100 \quad \text{Eq. 1.1}$$

donde, m₀ y m son los pesos inicial y final, respectivamente. Es característico de este proceso un bajo rendimiento, alrededor de 30% (Fombuena and Valentín, 2010).

Existen también investigaciones en la literatura que utilizan solamente una etapa. Así los procesos de carbonización y activación son reproducidos simultáneamente, es proceso combinado fue usado por Sampaio et al. (2010).

En la Tabla 1.7 se muestra un listado de las ventajas y desventajas del proceso físico de activación (Fombuena and Valentín, 2010; Hernandez-Montoya et al., 2012)

Tabla 1.7. Ventajas y desventajas del método físico de activación

<i>Ventajas</i>	<i>Desventajas</i>
Evita la incorporación de impurezas procedentes del agente de activación	Los carbones son obtenidos en dos etapas
El proceso no es corrosivo	Requieren temperaturas más altas (800-1000°C)
No es necesaria una etapa de lavado	Peor control de la porosidad.
Es un método barato	Bajo rendimiento

Fuente: Adaptado de (Fombuena and Valentín, 2010; Hernández-Montoya and Bonilla-Petriciolet, 2012)

Activación Química

En la activación química el agente activador se utilizada antes del proceso de pirolisis. Los agentes activadores más usados son: H₂SO₄ (Gerçel et al., 2007), H₃PO₄ (Al Bahri et al., 2012), KOH (Tseng et al., 2008), NaOH (Cazetta et al., 2011) y ZnCl₂ (Kante et al., 2012), aunque también se han usado sulfuros y tiocianatos de potasio, cloruros de calcio y magnesio, hidróxidos de metales alcalinos, entre otras sustancias. Para la elección del agente activador siempre hay que tener en consideración la materia prima original a utilizar y el tipo de poro se quiera obtener, macro o microporos (Fombuena and Valentín, 2010). En la Tabla 1.8, se presenta los distintos tipos de agentes activadores utilizados en la fabricación de carbón activado.

Tabla 1.8. Activación química usando diferentes agentes activadores

Producto Químico	Referencia
Ácido Fosfórico (H₃PO₄)	(Al Bahri et al., 2012)
	(Moreno-Castilla et al., 2001)
	(Puziy et al., 2002)
	(Puziy et al., 2003)
Cloruro de cinc (ZnCl₂)	(Kante et al., 2012)
	(Ahmed and Theydan, 2012)
	(Khalili et al., 2000)
Ácido Sulfúrico (H₂SO₄)	(Guo et al., 2005)
	(Mohamed et al., 2006)
	(Gerçel et al., 2007)
Hidróxido de Potasio (KOH)	(Kawano et al., 2008)
	(Tseng and Tseng, 2005)
	(Elmouwahidi et al., 2012)
	(Tseng et al., 2008)
Hidróxido de Sodio (NaOH)	(Moreno-Castilla et al., 2001)
	(Tongpoothorn et al., 2011)
	(Sun et al., 2012)
	(Tseng, 2006)
	(Wu and Tseng, 2008)
Carbonato de Potasio (K₂CO₃)	(Cazetta et al., 2011)
	(Hayashi et al., 2002)
	(Miyawaki et al., 2011)
	(Xiao et al., 2012)
Urea	(Mestre et al., 2011)
	(Stavropoulos et al., 2008)
Cloruro Cálxico (CaCl₂)	(Bashkova and Badosz, 2009)
	(Okada et al., 2010)
	(Hernández-Montoya et al., 2011)

Fuente: Elaboración propia

El proceso la impregnación del material precursor se ve afectado por la forma del producto químico, ya sea solida o liquida (Paraskeva et al., 2008). El material resultante de la impregnación, es carbonizado a temperaturas entre 400°-800°C, bajo

atmósfera controlada (Hernández-Montoya and Bonilla-Petriciolet, 2012). La etapa de impregnación puede tardar hasta 24h dependiendo del producto químico usado, del precursor y de los subsiguientes procesos. Aparte de la temperatura y del tiempo de retención, otro punto importante es la proporción del material precursor y del producto químico. Incluir una etapa de lavado, después de la carbonización, también es importante tanto para eliminar los productos químicos residuales del material, ya sea con agua o con un ácido suave (Paraskeva et al., 2008), como para la recuperación del agente activador (Fombuena and Valentín, 2010). Los pasos más comunes del proceso de activación química están descritos en la Figura 1.19

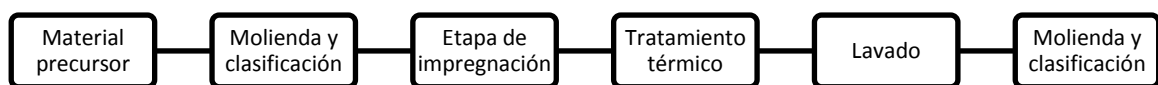


Figura 1.19. Diagrama de la activación química. (Fuente: Adaptado de Fombuena and Valentín (2010))

La activación con $ZnCl_2$ ha sido el método más utilizado hasta la década de 70, en especial para residuos de madera. Sin embargo, su uso ha sido restringido en la actualidad por los problemas medioambientales asociados con los compuestos de zinc (Fombuena and Valentín, 2010).

En los últimos 20 años, el uso de H_3PO_4 como agente activante ha cobrado gran importancia en la fabricación en gran escala del carbón activado, sustituyendo al $ZnCl_2$. El uso de H_3PO_4 presenta una serie de ventajas entre las que destaca: bueno comportamiento ambientales, facilidad de recuperación, bajo coste energético y alto rendimiento de carbono (Zuo et al., 2009). El H_3PO_4 ejerce dos funciones durante la preparación del carbón activo (Zuo et al., 2009):

- H_3PO_4 actúa como un catalizador ácido para promover la ruptura del enlace, hidrólisis, deshidratación y condensación, acompañado de reacciones de reticulación entre el ácido fosfórico y biopolímeros;
- H_3PO_4 puede funcionar como una plantilla porque el volumen ocupado por el ácido fosfórico en el interior del material precursor es coincidente con el volumen de microporos obtenido del carbón activado.

Hidróxidos alcalinos (KOH, NaOH) y carbonatos (K_2CO_3 , Na_2CO_3) son usados como agentes activadores para la producción de carbonos con alta superficie específica

(Hernández-Montoya and Bonilla-Petriciolet, 2012). En la década de 70, KOH fue utilizado para producir los “carbones superactivados” con superficies específicas alrededor de $3000\text{m}^2/\text{g}$ (Fombuena and Valentín, 2010). En la activación con KOH, el producto químico puede ser mezclado con el material precursor de dos formas: en polvo o impregnado con una solución concentrada de KOH (Moreno-Castilla et al., 2001). Sin embargo, KOH y NaOH son dos productos corrosivos y perjudiciales. Y por esta razón, las investigaciones más recientes aconsejan el uso del K_2CO_3 para la activación química en un solo paso. El K_2CO_3 no es un producto perjudicial, siendo usado para los aditivos alimentarios (Hayashi et al., 2002).

La activación con cloruro de calcio (CaCl_2) no ha sido ampliamente estudiada como la activación con ZnCl_2 , H_3PO_4 y KOH. Sin embargo se han realizado algunos trabajos en los que se ha empleado este agente para la producción de materiales carbonosos con desarrollo de mesoporosidad. El uso especies metálicas tales como el hierro y/o calcio para catalizar las reacciones de gasificación del carbono (conduce a materiales carbonosos con una distribución de tamaño de poro más amplio (desarrollo de meso y macroporosidad) (Gryglewicz and Lorenc-Grabowska, 2004; Juárez-Galán et al., 2009; Liu et al., 1999). Sin embargo, el aumento del contenido de Ca puede dificultar su extracción en la etapa de lavado, lo que conduce a un posible colapso de la porosidad y a la disminución de las propiedades texturales.

Basado en todos los factores estudiados, se puede resumir las ventajas y desventajas del proceso de activación químico (Tabla 1.9).

Tabla 1.9. Ventajas y desventajas del método químico de activación

Ventajas	Desventajas
Procedimiento en un solo paso	Es un proceso corrosivo
Reducción de los tiempos de activación	Se requiere una etapa de lavado
Temperaturas bajas para la pirolisis ($400\text{-}800^\circ\text{C}$)	Impurezas inorgánicas
Mejor control de la propiedades texturales	Más caro
Alto rendimiento	-
Gran área superficial del carbón	-
Microporosidad bien desarrollada	-
Buena distribución de los tamaños de poros	-
Reducción del contenido de materia mineral	-

Fuente: Elaboración propia

1.4.6. Adsorción

La adsorción es un proceso en el que las moléculas presente en una fase gaseosa o líquida (solución) se concentran en la superficie de un sólida o líquido. Las moléculas que se unen a la superficie se llaman el adsorbato o sorbato mientras que la sustancia que se utiliza para la adsorción se llama adsorbente. El proceso inverso de la extracción de las moléculas adsorbidas de la superficie del adsorbente se llama desorción. En cualquier líquido o sólido, los átomos en la superficie están sujetos a fuerzas de atracción presentes en la superficie. Con el fin de comprender los fundamentos de la adsorción, es útil distinguir entre la adsorción física y química:

- Fisorción: es la más común para el carbón activado, no existiendo intercambio de electrones entre adsorbentes y adsorbato, o sea es una reacción reversible.
- Quimisorción: ocurre con menor frecuencia, se producen cambios en las estructuras químicas del adsorbente y adsorbato, tornando la reacción irreversible.

En la Tabla 1.10, se describen las principales diferencias entre la adsorción física y la química:

Tabla 1.10. Principales diferencias entre adsorción física y adsorción química

Fisorción	• Quimisorción
Causada por las fuerzas de Van der Waals.	Causada por fuerzas electrostáticas y enlaces covalentes.
No transferencia de electrones.	Hay transferencia de electrones.
Calor de adsorción = 2 - 6 de kcal / mol	Calor de adsorción = 10-200 kcal / mol.
Fenómeno general para cualquier especie.	Fenómeno específico y selectivo.
La capa adsorbida se puede eliminar mediante la aplicación de vacío a temperatura de adsorción.	La capa adsorbida sólo se extirpa mediante la aplicación de un vacío y calentamiento a una temperatura por encima de la adsorción. -
Formación de múltiples capas por debajo de la temperatura crítica.	Sólo hay formación monocapas.
Se produce sólo por debajo de la temperatura crítica.	- También se produce a altas temperaturas.
Lento o rápido.	- Instantánea.
Adsorbente es casi no afectado.	- Superficie de adsorción se modifica.

Fuente: (Teixeira et al., 2001)

Según IUPAC(Sing, 1985), la mayoría de las isotermas de adsorción física se pueden agrupar en seis tipos como se muestra en la Figura 1.20. El eje horizontal muestra la presión relativa P / P_0 y el eje vertical muestra la cantidad adsorbida específica.

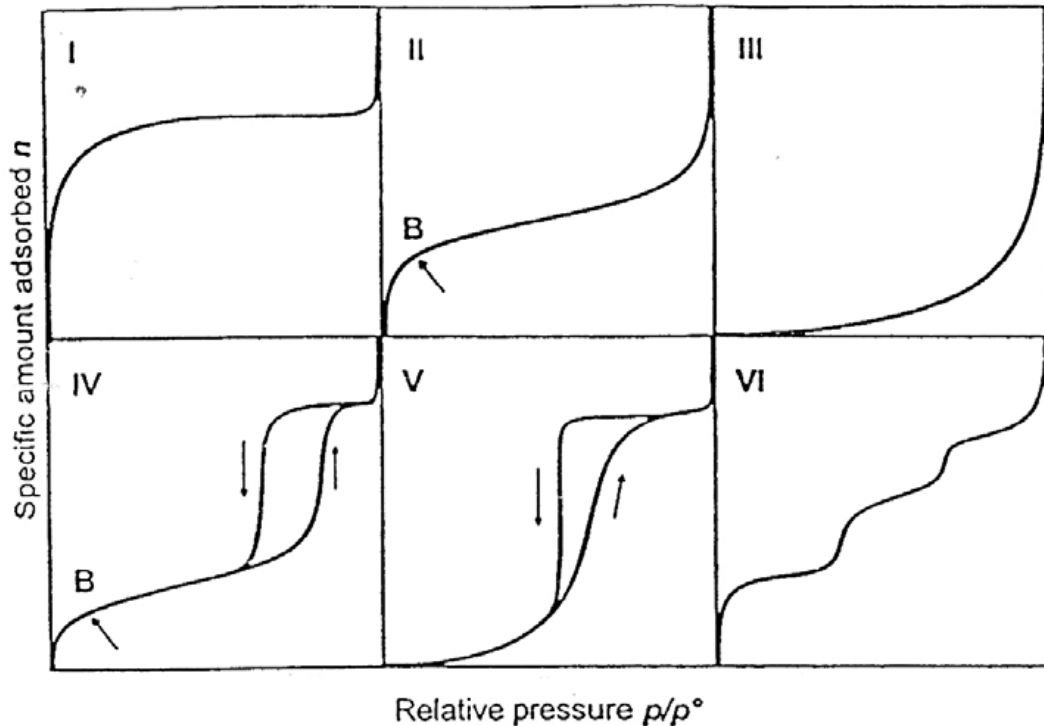


Figura 1.20. Tipos de isotermas de adsorción según IUPAC (Fuente: Sing (1985))

Isotermas de tipo I se da por los sólidos microporosos que tienen superficies externas relativamente pequeñas (por ejemplo, carbonos activados, zeolitas de tamiz molecular y ciertos óxidos porosos), la captación límite está regulada por el volumen de microporos accesible, más que por el área de superficie interna. Cuanto más rectangular es la curva, más estrecha es la distribución de poros. El tipo de isoterma I, también está asociado al fenómeno de adsorción química, donde el valor límite corresponderá a una monocapa en los centros activos. Este tipo de isotermas se llama también Tipo Langmuir.

La isoterma reversible de Tipo II es la forma normal de la isoterma obtenida a partir de un adsorbente no poroso o macroporoso. La isoterma de Tipo II presenta múltiples capas de adsorción. Punto B en la figura, indica el comienzo de la sección casi lineal de la isoterma, se toma a menudo para indicar la fase en la que la cobertura de la monocapa está completa y cuando la adsorción multicapa está a punto de comenzar.

La isoterma reversible Tipo III es convexa al eje p/p_0 sobre toda su gama y por lo tanto, no exhibe un punto B. Isotermas de este tipo no son comunes; mejor ejemplos conocidos se encuentran en la adsorción vapor de agua por carbonos puros no porosas. Sin embargo, hay un número de sistemas (por ejemplo nitrógeno en polietileno) que dan isotermas con una curvatura gradual y punto indistinto B. En tales casos, la interacción adsorbente-adsorbato es débil en comparación con las interacciones adsorbato-adsorbato.

Rasgos característicos de la isoterma de Tipo IV son su bucle de histéresis, que se asocia con la condensación capilar que tiene lugar en sus mesoporos, y limita la absorción en un rango de alta presión. La parte inicial de la isoterma de Tipo IV se atribuye a la formación de monocapa en múltiples capas de adsorción ya que sigue la misma trayectoria que la isoterma de adsorción de un tipo II. Tipo IV isotermas son dados por muchos adsorbentes industriales mesoporosos.

La isoterma de Tipo V es poco común, está relacionada con la isoterma de Tipo III en el que la interacción adsorbente-adsorbato es débil, pero se obtiene con ciertos adsorbentes porosos.

El tipo VI de isoterma de adsorción representa múltiples capas en una superficie uniforme no-porosa. El escalón representa la capacidad de adsorción en monocapa para cada capa adsorbida y, en el caso más simple, se mantiene casi constante durante dos o tres capas de adsorción.

1.4.7. Usos y aplicaciones del Carbón Activado

El carbón activado es un excelente y versátil adsorbente. Entre sus principales aplicaciones se incluyen la eliminación de adsorción de color, olor, sabor, y otras impurezas orgánicas e inorgánicas indeseables de aguas potable; en el tratamiento de aguas residuales industriales; depuración del aire en la elaboración de alimentos y las industrias químicas; en la purificación de muchos productos químicos, alimenticios y farmacéuticos; en respiradores para trabajar en ambientes hostiles; y en una variedad de otras aplicaciones en fase gaseosa. Casi el 80% del total de carbono activado se consume para su aplicación en fase líquida, tanto en forma granular como en polvo (Moreno-Castilla and Rivera-Utrilla, 2001). Por su parte para el tratamiento de flujos gaseosos se utiliza normalmente en forma granular. Su uso industrial se centra en tres sectores fundamentales:

- Industria química: recuperación de disolventes, desodorización del aire, mascarillas de gas, desulfuración de gases industriales, tratamiento de aguas potables y catálisis entre otros. Actualmente el carbón activado se usa principalmente en las industrias químicas farmacéuticas y alimenticias.
- Industria farmacéutica: adsorbente de uso general (para la purificación de antibióticos, vitaminas y otros productos), vehículo excipiente en fármacos, tratamientos contra intoxicaciones, etc.
- Industria alimenticia: decoloración de alimentos (muy importante en la fabricación de azúcares), tratamiento de aguas, tratamiento de bebidas alcohólicas, desodorización de alimentos...

En Tabla 1.11 se muestran diversas aplicaciones de carbón activado para la eliminación de contaminantes, reportados por diferentes autores.

Tabla 1.11: Aplicación de carbón activado para la adsorción de varios contaminantes en fase líquida y gaseosa

Contaminante	Referencia
Dióxido de sulfuro (SO ₂)	(Gao et al., 2011; Ling et al., 1999; Wang et al., 2006)
Óxido de nitrógeno (NO _x)	(Lee et al., 2002; Liu, 2008; Long et al., 2004; Miyawaki et al., 2011)
Sulfuro de hidrogeno (H ₂ S)	(Masuda et al., 1999; Monteleone et al., 2011; Sakanishi et al., 2005);
Compuestos orgánicos volátiles (COV)	(Huang et al., 2003; Li et al., 2011; Navarri et al., 2001)
Colorantes	(Ahmad and Alrozi, 2011; Kadirvelu et al., 2003; Sekaran et al., 1998)
Compuestos fenólicos	(Aber et al., 2009; Daifullah and Girgis, 1998; Ren et al., 2011)
Metales pesados	(Chen and Wu, 2004; Monser and Adhoum, 2009; Scala et al., 2011)
Pesticidas	(Ayranci and Hoda, 2005; Gupta et al., 2011; Humbert et al., 2008)

Fuente: Elaboración propia.

1.5. Referencias

- Aber, S., Khataee, A., and Sheydaei, M. (2009). Optimization of activated carbon fiber preparation from Kenaf using K₂HPO₄ as chemical activator for adsorption of phenolic compounds. *Bioresource Technology* **100**, 6586-6591.
- Ahmad, M. A., and Alrozi, R. (2011). Removal of malachite green dye from aqueous solution using rambutan peel-based activated carbon: Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies. *Chemical Engineering Journal* **171**, 510-516.
- Ahmed, M. J., and Theydan, S. K. (2012). Physical and chemical characteristics of activated carbon prepared by pyrolysis of chemically treated date stones and its ability to adsorb organics. *Powder Technology* **229**, 237-245.
- Al Bahri, M., Calvo, L., Gilarranz, M. A., and Rodriguez, J. J. (2012). Activated carbon from grape seeds upon chemical activation with phosphoric acid: Application to the adsorption of diuron from water. *Chemical Engineering Journal* **203**, 348-356.
- Alvira, P., Tomás-Pejó, E., Ballesteros, M., and Negro, M. (2010). Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: a review. *Bioresource technology* **101**, 4851-4861.
- Araque, E., Parra, C., Freer, J., Contreras, D., Rodríguez, J., Mendonça, R., and Baeza, J. (2008). Evaluation of organosolv pretreatment for the conversion of *Pinus radiata* D. Don to ethanol. *Enzyme and Microbial Technology* **43**, 214-219.
- Arato, C., Pye, E. K., and Gjennestad, G. (2005). The lignol approach to biorefining of woody biomass to produce ethanol and chemicals. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **123**, 871-882.
- Araujo, J., Waldman, W., and De Paoli, M. (2008). Thermal properties of high density polyethylene composites with natural fibres: Coupling agent effect. *Polymer Degradation and Stability* **93**, 1770-1775.
- Ayranci, E., and Hoda, N. (2005). Adsorption kinetics and isotherms of pesticides onto activated carbon-cloth. *Chemosphere* **60**, 1600-1607.
- Aziz, S., and Sarkanen, K. (1989). Organosolv pulping (a review). *Tappi journal* **72**, 169-175.
- Balan, V., da Costa Sousa, L., Chundawat, S. S., Vismeh, R., Jones, A. D., and Dale, B. (2008). Mushroom spent straw: a potential substrate for an ethanol-based biorefinery. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* **35**, 293-301.
- Balat, M. (2011). Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. *Energy conversion and management* **52**, 858-875.
- Bansode, R., Losso, J., Marshall, W., Rao, R., and Portier, R. (2004). Pecan shell-based granular activated carbon for treatment of chemical oxygen demand (COD) in municipal wastewater. *Bioresource technology* **94**, 129-135.
- Bashkova, S., and Bandosz, T. J. (2009). The effects of urea modification and heat treatment on the process of NO₂ removal by wood-based activated carbon. *Journal of Colloid and Interface Science* **333**, 97-103.

- Béguin, P., and Aubert, J. (1994). The biological degradation of cellulose. *FEMS microbiology reviews* **13**, 25.
- Behera, S., Arora, R., Nandhagopal, N., and Kumar, S. (2014). Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **36**, 91-106.
- Ben-Ghedalia, D., and Miron, J. (1981). The effect of combined chemical and enzyme treatments on the saccharification and in vitro digestion rate of wheat straw. *Biotechnology and Bioengineering* **23**, 823-831.
- Bhering, L. (2010). O potencial da macaúba como oleífera para biocombustíveis. *Biodiesel* **18**, 60-61.
- Bjerre, A. B., Olesen, A. B., Fernqvist, T., Plöger, A., and Schmidt, A. S. (1996). Pretreatment of wheat straw using combined wet oxidation and alkaline hydrolysis resulting in convertible cellulose and hemicellulose. *Biotechnology and bioengineering* **49**, 568-577.
- Boas, M. V., Carneiro, A., Vital, B., Carvalho, A., and Martins, M. (2010). Efeito da temperatura de carbonização e dos resíduos de macaúba na produção de carvão vegetal. *Scientia Forestalis, Piracicaba* **38**, 481-490.
- Braga, R. (1976). "Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará," 4/Ed. Universitária-UFRN, Natal.
- Brandt, A., Gräsvik, J., Hallett, J. P., and Welton, T. (2013). Deconstruction of lignocellulosic biomass with ionic liquids. *Green chemistry* **15**, 550-583.
- Carvalho, J. B. d. M. (1982). "Ensaio sobre a Carnaubeira," 2/Ed. EMPARN, Natal.
- Cazetta, A. L., Vargas, A. M. M., Nogami, E. M., Kunita, M. H., Guilherme, M. R., Martins, A. C., Silva, T. L., Moraes, J. C. G., and Almeida, V. C. (2011). NaOH-activated carbon of high surface area produced from coconut shell: Kinetics and equilibrium studies from the methylene blue adsorption. *Chemical Engineering Journal* **174**, 117-125.
- Ciconini, G., Favaro, S., Roscoe, R., Miranda, C., Tapeti, C., Miyahira, M., Bearari, L., Galvani, F., Borsato, A., and Colnago, L. (2013). Biometry and oil contents of *Acrocomia aculeata* fruits from the Cerrados and Pantanal biomes in Mato Grosso do Sul, Brazil. *Industrial Crops and Products* **45**, 208-214.
- Claudino, A. (2003). Preparação de carvão ativado a partir de turfa e sua utilização na remoção de poluentes, Universidades federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- Chen, J. P., and Wu, S. (2004). Simultaneous adsorption of copper ions and humic acid onto an activated carbon. *Journal of Colloid and Interface Science* **280**, 334-342.
- Cherubini, F. (2010). The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. *Energy Conversion and Management* **51**, 1412-1421.
- Chiaromonti, D., Prussi, M., Ferrero, S., Oriani, L., Ottonello, P., Torre, P., and Cherchi, F. (2012). Review of pretreatment processes for lignocellulosic ethanol production, and development of an innovative method. *Biomass and Bioenergy* **46**, 25-35.

- Chin, S. X., Chia, C. H., Fang, Z., Zakaria, S., Li, X. K., and Zhang, F. (2014). A Kinetic Study on Acid Hydrolysis of Oil Palm Empty Fruit Bunch Fibers Using a Microwave Reactor System. *Energy and Fuels* **28**, 2589-2597.
- Chum, H., Johnson, D., Black, S., Baker, J., Grohmann, K., Sarkanen, K., Wallace, K., and Schroeder, H. (1988). Organosolv pretreatment for enzymatic hydrolysis of poplars: I. Enzyme hydrolysis of cellulosic residues. *Biotechnology and bioengineering* **31**, 643-649.
- Dadi, A. P., Varanasi, S., and Schall, C. A. (2006). Enhancement of cellulose saccharification kinetics using an ionic liquid pretreatment step. *Biotechnology and Bioengineering* **95**, 904-910.
- Daifullah, A. A. M., and Girgis, B. S. (1998). REMOVAL OF SOME SUBSTITUTED PHENOLS BY ACTIVATED CARBON OBTAINED FROM AGRICULTURAL WASTE. *Water Research* **32**, 1169-1177.
- Demirbas, A. (2008). The importance of bioethanol and biodiesel from biomass. *Energy Sources, Part B* **3**, 177-185.
- Demirbaş, A. (2005). Bioethanol from cellulosic materials: a renewable motor fuel from biomass. *Energy sources* **27**, 327-337.
- Derbyshire, F., Jagtoyen, M., Andrews, R., Rao, A., Martin-Gullon, I., and Grulke, E. A. (2001). Carbon materials in environmental applications. *Chemistry and physics of carbon*, 1-66.
- Duque, J. G. (1980). Solo e água no polígono das secas. In "Coleção mossoroense", Vol. 142. Banco do Nordeste do Brasil.
- Elmouwahidi, A., Zapata-Benabith, Z., Carrasco-Marín, F., and Moreno-Castilla, C. (2012). Activated carbons from KOH-activation of argan (*Argania spinosa*) seed shells as supercapacitor electrodes. *Bioresource Technology* **111**, 185-190.
- Fady, B., Fineschi, S., and Vendramin, G. (2008). Guía técnica para la conservación y utilización del pino piñonero (*Pinus pinea*). Foresta, Madrid. España.
- Fombuena, M., and Valentín, A. (2010). Manual del carbón activo. *Aguapedia. U. Sevilla*, 1-89.
- Fukaya, Y., Hayashi, K., Wada, M., and Ohno, H. (2008). Cellulose dissolution with polar ionic liquids under mild conditions: required factors for anions. *Green Chemistry* **10**, 44-46.
- Galbe, M., and Zacchi, G. (2002). A review of the production of ethanol from softwood. *Applied microbiology and biotechnology* **59**, 618-628.
- Gao, X., Liu, S., Zhang, Y., Luo, Z., and Cen, K. (2011). Physicochemical properties of metal-doped activated carbons and relationship with their performance in the removal of SO₂ and NO. *Journal of Hazardous Materials* **188**, 58-66.
- García-Cubero, M. T., González-Benito, G., Indacochea, I., Coca, M., and Bolado, S. (2009). Effect of ozonolysis pretreatment on enzymatic digestibility of wheat and rye straw. *Bioresource Technology* **100**, 1608-1613.
- Gáspár, M., Kálmán, G., and Réczey, K. (2007). Corn fiber as a raw material for hemicellulose and ethanol production. *Process Biochemistry* **42**, 1135-1139.

- Gellerstedt, G., and Henriksson, G. (2008). "Lignins: major sources, structure and properties," Amsterdam, the Netherlands: Elsevier.
- Gerçel, Ö., Özcan, A., Özcan, A. S., and Gerçel, H. F. (2007). Preparation of activated carbon from a renewable bio-plant of *Euphorbia rigida* by H₂SO₄ activation and its adsorption behavior in aqueous solutions. *Applied Surface Science* **253**, 4843-4852.
- Gryglewicz, G., and Lorenc-Grabowska, E. (2004). Mesoporous activated carbons from Ca and Fe exchanged sub-bituminous and bituminous coals. *carbon* **42**, 688-691.
- Guo, J., Xu, W. S., Chen, Y. L., and Lua, A. C. (2005). Adsorption of NH₃ onto activated carbon prepared from palm shells impregnated with H₂SO₄. *Journal of Colloid and Interface Science* **281**, 285-290.
- Gupta, V. K., Gupta, B., Rastogi, A., Agarwal, S., and Nayak, A. (2011). Pesticides removal from waste water by activated carbon prepared from waste rubber tire. *Water Research* **45**, 4047-4055.
- Gutiérrez, P. (2007). Análisis del sector de la piña y el piñón y sus aprovechamientos en Andalucía., Universidad de Córdoba, España.
- Hagiwara, R., and Lee, J. S. (2007). Ionic Liquids for Electrochemical Devices (E). *ELECTROCHEMISTRY-TOKYO-* **75**, 23.
- Hallett, J. P., and Welton, T. (2011). Room-temperature ionic liquids: solvents for synthesis and catalysis. 2. *Chemical reviews* **111**, 3508-3576.
- Hamelinck, C. N., Hooijdonk, G. v., and Faaij, A. P. (2005). Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle-and long-term. *Biomass and bioenergy* **28**, 384-410.
- Hatakka, A. (1983). Pretreatment of wheat straw by white-rot fungi for enzymic saccharification of cellulose. *European journal of applied microbiology and biotechnology* **18**, 350-357.
- Hayashi, J. i., Horikawa, T., Takeda, I., Muroyama, K., and Nasir Ani, F. (2002). Preparing activated carbon from various nutshells by chemical activation with K₂CO₃. *Carbon* **40**, 2381-2386.
- Hayes, D. J. (2009a). An examination of biorefining processes, catalysts and challenges. *Catalysis Today* **145**, 138-151.
- Hayes, D. J. (2009b). An examination of biorefining processes, catalysts and challenges. *Catalysis Today* **145**, 138-151.
- Heerah, A. S., Mudhoo, A., Mohee, R., and Sharma, S. K. (2008). Steam pre-treatment of lignocellulosic wastes for biomethanogenesis: a preliminary study. *Rasayan J Chem* **1**, 503-514.
- Henderson, A., Chávez, F., Galeano, G., and Bernal, R. (1995). Field guide to the palms of the Americas. Princeton University Press, New Jersey.
- Hendriks, A., and Zeeman, G. (2009). Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource technology* **100**, 10-18.

- Hernández-Montoya, V., and Bonilla-Petriciolet, A. (2012). "Lignocellulosic precursors used in the synthesis of activated carbon: characterization techniques and applications in the wastewater treatment," Croatia.
- Hernández-Montoya, V., Mendoza-Castillo, D. I., Bonilla-Petriciolet, A., Montes-Morán, M., and Pérez-Cruz, M. (2011). Role of the pericarp of *Carya illinoensis* as biosorbent and as precursor of activated carbon for the removal of lead and acid blue 25 in aqueous solutions. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **92**, 143-151.
- Hernandez-Montoya, V., Ramírez-Montoya, L. A., Bonilla-Petriciolet, A., and Montes-Moran, M. A. (2012). Optimizing the removal of fluoride from water using new carbons obtained by modification of nut shell with a calcium solution from egg shell. *Biochemical Engineering Journal* **62**, 1-7.
- Hernández, J. R. R., Luevano, N. L., Silva, C. I. Z., Muñoz, L. M., and Martínez, G. M. (2003). Obtención del carbón activado a partir de residuos de madera de la industria mueblera del estado de Aguascalientes. *Consciencia tecnológica* **23**.
- Holtzapple, M., Jun, J.-H., Ashok, G., Patibandla, S., and Dale, B. (1991). The ammonia freeze explosion (AFEX) process. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **28-29**, 59-74.
- Huang, Z.-H., Kang, F., Liang, K.-M., and Hao, J. (2003). Breakthrough of methylethylketone and benzene vapors in activated carbon fiber beds. *Journal of Hazardous Materials* **98**, 107-115.
- Humbert, H., Gallard, H., Suty, H., and Croué, J.-P. (2008). Natural organic matter (NOM) and pesticides removal using a combination of ion exchange resin and powdered activated carbon (PAC). *Water Research* **42**, 1635-1643.
- IEA (2008). IEA bioenergy Task 42. Biorefineries: Co-Production of Fuels, Chemicals, Power and Materials from Biomass. . Minutes of the third Task meeting, Copenhagen, Denmark.
- Iranmahboob, J., Nadim, F., and Monemi, S. (2002). Optimizing acid-hydrolysis: a critical step for production of ethanol from mixed wood chips. *Biomass and Bioenergy* **22**, 401-404.
- Jayaraman, K. (2003). Manufacturing sisal–polypropylene composites with minimum fibre degradation. *Composites Science and technology* **63**, 367-374.
- Jeoh, T. (1998). Steam explosion pretreatment of cotton gin waste for fuel ethanol production, Virginia Polytechnic Institute and State University.
- John, M. J., and Thomas, S. (2008). Biofibres and biocomposites. *Carbohydrate polymers* **71**, 343-364.
- Johnson, D. V., and Nair, P. (1985). Perennial crop-based agroforestry systems in Northeast Brazil. *Agroforestry systems* **2**, 281-292.
- Juárez-Galán, J. M., Silvestre-Albero, A., Silvestre-Albero, J., and Rodríguez-Reinoso, F. (2009). Synthesis of activated carbon with highly developed “mesoporosity”. *Microporous and Mesoporous Materials* **117**, 519-521.

- Kadirvelu, K., Kavipriya, M., Karthika, C., Radhika, M., Vennilamani, N., and Pattabhi, S. (2003). Utilization of various agricultural wastes for activated carbon preparation and application for the removal of dyes and metal ions from aqueous solutions. *Bioresource Technology* **87**, 129-132.
- Kamm, B., Gruber, P. R., and Kamm, M. (2006). "Biorefineries—industrial processes and products," Wiley-VCH Verlag, Weinheim (Germany).
- Kante, K., Nieto-Delgado, C., Rangel-Mendez, J. R., and Bandosz, T. J. (2012). Spent coffee-based activated carbon: Specific surface features and their importance for H₂S separation process. *Journal of Hazardous Materials* **201–202**, 141-147.
- Karunanithy, C., Muthukumarappan, K., and Julson, J. (2008). Enzymatic hydrolysis of corn stover pretreated in high shear bioreactor. In "ASABE Annual International Meeting, Rhode Island".
- Kawano, T., Kubota, M., Onyango, M. S., Watanabe, F., and Matsuda, H. (2008). Preparation of activated carbon from petroleum coke by KOH chemical activation for adsorption heat pump. *Applied Thermal Engineering* **28**, 865-871.
- Khalili, N. R., Campbell, M., Sandi, G., and Golaś, J. (2000). Production of micro- and mesoporous activated carbon from paper mill sludge: I. Effect of zinc chloride activation. *Carbon* **38**, 1905-1915.
- Kim, T. H., Gupta, R., and Lee, Y. (2009). Pretreatment of biomass by aqueous ammonia for bioethanol production. In "Biofuels", pp. 79-91. Springer.
- Kirk, T. K., and Jeffries, T. W. (1996). Roles for microbial enzymes in pulp and paper processing. In "ACS Symposium Series", Vol. 655, pp. 2-14. Washington, DC: American Chemical Society,[1974]-.
- Kosan, B., Michels, C., and Meister, F. (2008). Dissolution and forming of cellulose with ionic liquids. *Cellulose* **15**, 59-66.
- Kumar, P., Barrett, D. M., Delwiche, M. J., and Stroeve, P. (2009). Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. *Industrial & Engineering Chemistry Research* **48**, 3713-3729.
- Lee, Y.-W., Choi, D.-K., and Park, J.-W. (2002). Performance of fixed-bed KOH impregnated activated carbon adsorber for NO and NO₂ removal in the presence of oxygen. *Carbon* **40**, 1409-1417.
- Leustean, I. (2009). Bioethanol from lignocellulosic materials. *J Agroalimentary Proc Technol* **15**, 94-101.
- Li, L., Liu, S., and Liu, J. (2011). Surface modification of coconut shell based activated carbon for the improvement of hydrophobic VOC removal. *Journal of Hazardous Materials* **192**, 683-690.
- Linde, M., Jakobsson, E.-L., Galbe, M., and Zacchi, G. (2008). Steam pretreatment of dilute H₂SO₄-impregnated wheat straw and SSF with low yeast and enzyme loadings for bioethanol production. *Biomass and Bioenergy* **32**, 326-332.
- Ling, L., Li, K., Liu, L., Miyamoto, S., Korai, Y., Kawano, S., and Mochida, I. (1999). Removal of SO₂ over ethylene tar pitch and cellulose based activated carbon fibers. *Carbon* **37**, 499-504.

- Liu, Y., Guo, Y., Gao, W., Wang, Z., Ma, Y., and Wang, Z. (2012). Simultaneous preparation of silica and activated carbon from rice husk ash. *Journal of Cleaner Production* **32**, 204-209.
- Liu, Z.-S. (2008). Adsorption of SO₂ and NO from incineration flue gas onto activated carbon fibers. *Waste Management* **28**, 2329-2335.
- Liu, Z., Ling, L., Qiao, W., Lu, C., Wu, D., and Liu, L. (1999). Effects of various metals and their loading methods on the mesopore formation in pitch-based spherical activated carbon. *Carbon* **37**, 1333-1335.
- Long, X.-L., Xin, Z.-L., Wang, H.-X., Xiao, W.-D., and Yuan, W.-K. (2004). Simultaneous removal of NO and SO₂ with hexaminecobalt(II) solution coupled with the hexaminecobalt(II) regeneration catalyzed by activated carbon. *Applied Catalysis B: Environmental* **54**, 25-32.
- Lorenzi, H. (1992). Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. *Nova Odessa: Editora Plantarum 352p.-col. illus. Por Geog* **4**.
- Lorenzi, H. S., H. M.; Medeiros-Costa, J. T.; Cerqueira, L. S. C.; Behr, N. (1996). "Palmeiras do Brasil: exóticas e nativas," Nova Odessa.
- Martín, C., Galbe, M., Nilvebrant, N.-O., and Jönsson, L. J. (2002). Comparison of the fermentability of enzymatic hydrolyzates of sugarcane bagasse pretreated by steam explosion using different impregnating agents. *Applied biochemistry and biotechnology* **98**, 699-716.
- Martin, C., Klinke, H. B., and Thomsen, A. B. (2007). Wet oxidation as a pretreatment method for enhancing the enzymatic convertibility of sugarcane bagasse. *Enzyme and Microbial Technology* **40**, 426-432.
- Masuda, J., Fukuyama, J., and Fujii, S. (1999). Influence of concurrent substances on removal of hydrogen sulfide by activated carbon. *Chemosphere* **39**, 1611-1616.
- McGinnis, G. D., Wilson, W. W., Prince, S. E., and Chen, C. C. (1983). Conversion of biomass into chemicals with high-temperature wet oxidation. *Industrial & engineering chemistry product research and development* **22**, 633-636.
- McMillan, J. D. (1994). Pretreatment of lignocellulosic biomass. In "ACS symposium series (USA)".
- Mestre, A. S., Bexiga, A. S., Proença, M., Andrade, M., Pinto, M. L., Matos, I., Fonseca, I. M., and Carvalho, A. P. (2011). Activated carbons from sisal waste by chemical activation with K₂CO₃: Kinetics of paracetamol and ibuprofen removal from aqueous solution. *Bioresource Technology* **102**, 8253-8260.
- Millett, M. A., Baker, A. J., and Satter, L. D. (1976). Physical and chemical pretreatments for enhancing cellulose saccharification.
- Miranda, I. P. d. A. (2001). "Frutos de palmeiras da Amazônia," Presidência da República, Ministério da Ciência e Tecnologia, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.
- Miyawaki, J., Shimohara, T., Shirahama, N., Yasutake, A., Yoshikawa, M., Mochida, I., and Yoon, S.-H. (2011). Removal of NO_x from air through cooperation of the TiO₂ photocatalyst and urea on activated carbon fiber at room temperature. *Applied Catalysis B: Environmental* **110**, 273-278.

- Mohamed, F. S., Khater, W. A., and Mostafa, M. R. (2006). Characterization and phenols sorptive properties of carbons activated by sulphuric acid. *Chemical Engineering Journal* **116**, 47-52.
- Mohan, D., Pittman, C. U., and Steele, P. H. (2006). Pyrolysis of wood/biomass for bio-oil: a critical review. *Energy & Fuels* **20**, 848-889.
- Monser, L., and Adhoum, N. (2009). Tartrazine modified activated carbon for the removal of Pb(II), Cd(II) and Cr(III). *Journal of Hazardous Materials* **161**, 263-269.
- Monteleone, G., De Francesco, M., Galli, S., Marchetti, M., and Naticchioni, V. (2011). Deep H₂S removal from biogas for molten carbonate fuel cell (MCFC) systems. *Chemical Engineering Journal* **173**, 407-414.
- Montoya, J. (1990). El pino piñonero. *Agroguías mundi-prensa, Madrid*.
- Moreno-Castilla, C., Carrasco-Marín, F., López-Ramón, M. V., and Alvarez-Merino, M. A. (2001). Chemical and physical activation of olive-mill waste water to produce activated carbons. *Carbon* **39**, 1415-1420.
- Moreno-Castilla, C., and Rivera-Utrilla, J. (2001). Carbon Materials as Adsorbents for the Removal of Pollutants from the Aqueous Phase.
- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y., Holtzapple, M., and Ladisch, M. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource technology* **96**, 673-686.
- Motta, P. d., Curi, N., Oliveira-Filho, A. d., and Gomes, J. B. V. (2002). Ocorrência de macaúba em Minas Gerais: relação com atributos climáticos, pedológicos e vegetacionais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **37**, 1023-1031.
- Navarri, P., Marchal, D., and Ginestet, A. (2001). Activated carbon fibre materials for VOC removal. *Filtration & Separation* **38**, 33-40.
- Neely, W. (1984). Factors affecting the pretreatment of biomass with gaseous ozone. *Biotechnology and bioengineering* **26**, 59-65.
- Negro, M. J., Manzanares, P., Ballesteros, I., Oliva, J. M., Cabañas, A., and Ballesteros, M. (2003). Hydrothermal pretreatment conditions to enhance ethanol production from poplar biomass. In "Biotechnology for Fuels and Chemicals", pp. 87-100. Springer.
- Noh, J. S., and Schwarz, J. A. (1989). Estimation of the point of zero charge of simple oxides by mass titration. *Journal of Colloid and Interface Science* **130**, 157-164.
- Novaes, R. F. (1952). Contribuição para o estudo do coco macaúba., Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Öhgren, K., Bura, R., Saddler, J., and Zacchi, G. (2007). Effect of hemicellulose and lignin removal on enzymatic hydrolysis of steam pretreated corn stover. *Bioresource technology* **98**, 2503-2510.
- Okada, K., Nakanome, M., Kameshima, Y., Isobe, T., and Nakajima, A. (2010). Water vapor adsorption of CaCl₂-impregnated activated carbon. *Materials Research Bulletin* **45**, 1549-1553.

- Okano, K., Kitagawa, M., Sasaki, Y., and Watanabe, T. (2005). Conversion of Japanese red cedar (*Cryptomeria japonica*) into a feed for ruminants by white-rot basidiomycetes. *Animal Feed Science and Technology* **120**, 235-243.
- Olivier-Bourbigou, H., Magna, L., and Morvan, D. (2010). Ionic liquids and catalysis: Recent progress from knowledge to applications. *Applied Catalysis A: General* **373**, 1-56.
- Ovando-Chacón, S., and Waliszewski, K. (2005). Preparativos de celulasas comerciales y aplicaciones en procesos extractivos. *Universidad y ciencia* **21**, 113-122.
- Palonen, H., Tjerneld, F., Zacchi, G., and Tenkanen, M. (2004). Adsorption of *Trichoderma reesei* CBH I and EG II and their catalytic domains on steam pretreated softwood and isolated lignin. *Journal of Biotechnology* **107**, 65-72.
- Pan, X., Gilkes, N., and Saddler, J. N. (2006). Effect of acetyl groups on enzymatic hydrolysis of cellulosic substrates. *Holzforschung* **60**, 398-401.
- Paraskeva, P., Kalderis, D., and Diamadopoulos, E. (2008). Production of activated carbon from agricultural by-products. *Journal of chemical technology and biotechnology* **83**, 581-592.
- Pârvulescu, V. I., and Hardacre, C. (2007). Catalysis in ionic liquids. *Chemical Reviews* **107**, 2615-2665.
- Pecoraro, É., Manzani, D., Messaddeq, Y., and Ribeiro, S. J. (2008). Bacterial cellulose from *glucanacetobacter xylinus*: preparation, properties and applications. *Monomers, polymers and composites from renewable resources*, 369.
- Pimentel, L. D. D., L. A. dos S.; Paes, J. M. V.; Sato, A. Y.; Motoike, S. Y. (2011). Diversity in the genus *Acrocomia* and proposed subdivision of the species *Acrocoma aculeata*. *Informe Agropecuário* **32**, 81-87.
- Pingali, S. V., Urban, V. S., Heller, W. T., McGaughey, J., O'Neill, H., Foston, M., Myles, D. A., Ragauskas, A., and Evans, B. R. (2010). Breakdown of cell wall nanostructure in dilute acid pretreated biomass. *Biomacromolecules* **11**, 2329-2335.
- Plechkova, N. V., and Seddon, K. R. (2008). Applications of ionic liquids in the chemical industry. *Chemical Society Reviews* **37**, 123-150.
- Prasad, S., Singh, A., and Joshi, H. (2007). Ethanol as an alternative fuel from agricultural, industrial and urban residues. *Resources, Conservation and Recycling* **50**, 1-39.
- Puziy, A. M., Poddubnaya, O. I., Martínez-Alonso, A., Suárez-García, F., and Tascón, J. M. D. (2002). Synthetic carbons activated with phosphoric acid: I. Surface chemistry and ion binding properties. *Carbon* **40**, 1493-1505.
- Puziy, A. M., Poddubnaya, O. I., Martínez-Alonso, A., Suárez-García, F., and Tascón, J. M. D. (2003). Synthetic carbons activated with phosphoric acid III. Carbons prepared in air. *Carbon* **41**, 1181-1191.
- Ramos, L. P. (2003). The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. *Química Nova* **26**, 863-871.
- Ratter, J., Bridgewater, S., and Ribeiro, J. (2003). Analysis of the floristic composition of the Brazilian cerrado vegetation III: comparison of the woody vegetation of 376 areas. *Edinburgh Journal of Botany* **60**, 57-109.

- Reinoso, F. (2005). Carbón activado: estructura, preparación y aplicaciones. *Revista Uniandes, Colombia*, 66-69.
- Ren, L., Zhang, J., Li, Y., and Zhang, C. (2011). Preparation and evaluation of cattail fiber-based activated carbon for 2,4-dichlorophenol and 2,4,6-trichlorophenol removal. *Chemical Engineering Journal* **168**, 553-561.
- Rodríguez-Chong, A., Alberto Ramírez, J., Garrote, G., and Vázquez, M. (2004). Hydrolysis of sugar cane bagasse using nitric acid: a kinetic assessment. *Journal of Food Engineering* **61**, 143-152.
- Rogalinski, T., Ingram, T., and Brunner, G. (2008). Hydrolysis of lignocellulosic biomass in water under elevated temperatures and pressures. *The Journal of Supercritical Fluids* **47**, 54-63.
- Roscoe, R., Richetti, A., Maranhão, E (2007). Análise de viabilidade técnica de oleaginosas para produção de biodiesel em Mato Grosso do Sul. . *Revista Política Agrícola* **16**, 48-59.
- Rouquerol, J., Avnir, D., Fairbridge, C., Everett, D., Haynes, J., Pernicone, N., Ramsay, J., Sing, K., and Unger, K. (1994). Recommendations for the characterization of porous solids (Technical Report). *Pure and Applied Chemistry* **66**, 1739-1758.
- Ruffell, J. (2008). Pretreatment and hydrolysis of recovered fibre for ethanol production, University of British Columbia.
- Saha, B. C. (2004). Purification and Characterization of a Novel Mannitol Dehydrogenase from *Lactobacillus intermedius*. *Biotechnology Progress* **20**, 537-542.
- Saha, B. C., Iten, L. B., Cotta, M. A., and Wu, Y. V. (2005a). Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of wheat straw to ethanol. *Process Biochemistry* **40**, 3693-3700.
- Saha, B. C., Iten, L. B., Cotta, M. A., and Wu, Y. V. (2005b). Dilute Acid Pretreatment, Enzymatic Saccharification, and Fermentation of Rice Hulls to Ethanol. *Biotechnology Progress* **21**, 816-822.
- Sahin, H. T., and Young, R. A. (2008). Auto-catalyzed acetic acid pulping of jute. *Industrial Crops and Products* **28**, 24-28.
- Sakanishi, K., Wu, Z., Matsumura, A., Saito, I., Hanaoka, T., Minowa, T., Tada, M., and Iwasaki, T. (2005). Simultaneous removal of H₂S and COS using activated carbons and their supported catalysts. *Catalysis Today* **104**, 94-100.
- Sampaio, M. A., Peterlevitz, A. C., Ceragioli, H. J., Luiz Alves Corrêa, W., Damiani, F., Chiquito, A. J., Diagonel, E., and Baranauskas, V. (2010). Electrical properties of diamond films prepared from carbon disulfide and ethanol in hydrogen. *Vacuum* **85**, 180-183.
- Saratale, G. D., and Oh, S. E. (2014). Lignocellulosics to ethanol: The future of the chemical and energy industry. *African Journal of Biotechnology* **11**, 1002-1013.
- Sarkanen, K. V., and Tillman, D. A. (1980). Acid catalysed delignification of lignocellulosics in organic solvents. In "Progress in biomass conversion" (A. Press, ed.), Vol. 2, pp. 129-144. Academic Press., New York.

- Sassner, P., Mårtensson, C.-G., Galbe, M., and Zacchi, G. (2008). Steam pretreatment of H₂SO₄-impregnated Salix for the production of bioethanol. *Bioresource Technology* **99**, 137-145.
- Scala, F., Chirone, R., and Lancia, A. (2011). Elemental mercury vapor capture by powdered activated carbon in a fluidized bed reactor. *Fuel* **90**, 2077-2082.
- Sekaran, G., Shanmugasundaram, K. A., and Mariappan, M. (1998). Characterization and utilisation of buffing dust generated by the leather industry. *Journal of Hazardous Materials* **63**, 53-68.
- Shatalov, A. A., and Pereira, H. (2008). Arundo donax L. reed: New perspectives for pulping and bleaching. 5. Ozone-based TCF bleaching of organosolv pulps. *Bioresource Technology* **99**, 472-478.
- Sierra, R., Granda, C. B., and Holtzapfle, M. T. (2009). Lime pretreatment. In "Biofuels", pp. 115-124. Springer.
- Sifontes, M. C., and Domine, M. E. (2013). Lignina, estructura y aplicaciones: métodos de despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industrial. *Avances en Ciencias e Ingeniería* **4**, 15-46.
- Silva, D. B. S., A. S.; Junqueira, N. T. V.; Andrade, R. M. (2001). "Frutas do Cerrado," 1ª/Ed., Brasília.
- Silva, S., and Tassar, H. (1996). "Frutas no Brasil," Empresa das Artes, São Paulo.
- Silverstein, R. A. (2005). A comparison of chemical pretreatment methods for converting cotton stalks to ethanol.
- Silverstein, R. A., Chen, Y., Sharma-Shivappa, R. R., Boyette, M. D., and Osborne, J. (2007). A comparison of chemical pretreatment methods for improving saccharification of cotton stalks. *Bioresource Technology* **98**, 3000-3011.
- Sing, K. S. W. (1985). Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity (Recommendations 1984). In "Pure and Applied Chemistry", Vol. 57, pp. 603.
- Singh, R., Shukla, A., Tiwari, S., and Srivastava, M. (2014). A review on delignification of lignocellulosic biomass for enhancement of ethanol production potential. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **32**, 713-728.
- Sobarzo, V. (2004). Evaluación de la rentabilidad económica del manejo de un bosque de *Pinus pinea* en Sierra Morena, España., Universidad de Concepción, Concepción.
- Spiridon, I., and Popa, V. I. (2008). Hemicelluloses: major sources, properties and applications. *Monomers, polymers and composites from renewable resources* **1**, 289.
- Stavropoulos, G. G., Samaras, P., and Sakellariopoulos, G. P. (2008). Effect of activated carbons modification on porosity, surface structure and phenol adsorption. *Journal of Hazardous Materials* **151**, 414-421.
- Sun, R. (2010). "Cereal straw as a resource for sustainable biomaterials and biofuels: chemistry, extractives, lignins, hemicelluloses and cellulose," Elsevier.
- Sun, Y., and Cheng, J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology* **83**, 1-11.

- Sun, Y., Yue, Q., Gao, B., Li, Q., Huang, L., Yao, F., and Xu, X. (2012). Preparation of activated carbon derived from cotton linter fibers by fused NaOH activation and its application for oxytetracycline (OTC) adsorption. *Journal of Colloid and Interface Science* **368**, 521-527.
- Taherzadeh, M. J., and Karimi, K. (2007). Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: a review. *BioResources* **2**, 472-499.
- Taherzadeh, M. J., and Karimi, K. (2008). Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review. *International journal of molecular sciences* **9**, 1621-1651.
- Tarkow, H., and FEIST, W. C. (1969). A mechanism for improving the digestibility of lignocellulosic materials with dilute alkali and liquid ammonia.
- Teixeira, V. G., Coutinho, F. M., and Gomes, A. S. (2001). Principais métodos de caracterização da porosidade de resinas à base de divinilbenzeno. *Química Nova* **24**, 808-818.
- Teymouri, F., Laureano-Perez, L., Alizadeh, H., and Dale, B. E. (2005). Optimization of the ammonia fiber explosion (AFEX) treatment parameters for enzymatic hydrolysis of corn stover. *Bioresource Technology* **96**, 2014-2018.
- Thring, R. W., Chornet, E., and Overend, R. P. (1990). Recovery of a solvolytic lignin: Effects of spent liquor/acid volume ratio, acid concentration and temperature. *Biomass* **23**, 289-305.
- Tomas-Pejo, E., Oliva, J., and Ballesteros, M. (2008). Realistic approach for full-scale bioethanol production from lignocellulose: a review. *Journal of Scientific and Industrial Research* **67**, 874.
- Tong, D. S., Xia, X., Luo, X. P., Wu, L. M., Lin, C. X., Yu, W. H., Zhou, C. H., and Zhong, Z. K. (2013). Catalytic hydrolysis of cellulose to reducing sugar over acid-activated montmorillonite catalysts. *Applied Clay Science* **74**, 147-153.
- Tongpoothorn, W., Sriuttha, M., Homchan, P., Chanthai, S., and Ruangviriyachai, C. (2011). Preparation of activated carbon derived from *Jatropha curcas* fruit shell by simple thermo-chemical activation and characterization of their physico-chemical properties. *Chemical Engineering Research and Design* **89**, 335-340.
- Trigo, E., Regúnaga, M., Aquaroni, M., Giménez, F., and Farinaccia, J. P. (2012). Biorrefinerías en la República Argentina: análisis del mercado potencial para las principales cadenas de valor. . (MINCyT, ed.), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, R. Argentina.
- Tseng, R.-L. (2006). Mesopore control of high surface area NaOH-activated carbon. *Journal of Colloid and Interface Science* **303**, 494-502.
- Tseng, R.-L., and Tseng, S.-K. (2005). Pore structure and adsorption performance of the KOH-activated carbons prepared from corncob. *Journal of Colloid and Interface Science* **287**, 428-437.
- Tseng, R.-L., Tseng, S.-K., Wu, F.-C., Hu, C.-C., and Wang, C.-C. (2008). Effects of micropore development on the physicochemical properties of KOH-activated carbons. *Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers* **39**, 37-47.
- van Rantwijk, F., and Sheldon, R. A. (2007). Biocatalysis in ionic liquids. *Chemical reviews* **107**, 2757-2785.

- Vázquez, G., González, J., Freire, S., and Antorrena, G. (1997). Effect of chemical modification of lignin on the gluebond performance of lignin-phenolic resins. *Bioresource Technology* **60**, 191-198.
- Verma, A., Kumar, S., and Jain, P. (2011). Key pretreatment technologies on cellulosic ethanol production. *Journal of Scientific Research* **55**, 57-63.
- Vidal, P. F., and Molinier, J. (1988). Ozonolysis of lignin — Improvement of in vitro digestibility of poplar sawdust. *Biomass* **16**, 1-17.
- Wang, J., Zhao, F., Hu, Y., Zhao, R., and Liu, R. (2006). Modification of Activated Carbon Fiber by Loading Metals and Their Performance on SO₂ Removal. *Chinese Journal of Chemical Engineering* **14**, 478-485.
- Wanitwattananarumlug, B., Luengnaruemitchai, A., and Wongkasemjit, S. (2012). Characterization of corn cobs from microwave and potassium hydroxide pretreatment. *World Academy Sci. Eng. Technol* **64**, 592-596.
- Wasserscheid, P., and Welton, T. (2008). "Ionic liquids in synthesis," Wiley Online Library.
- Wijaya, Y. P., Putra, R. D. D., Widayaya, V. T., Ha, J.-M., Suh, D. J., and Kim, C. S. (2014). Comparative study on two-step concentrated acid hydrolysis for the extraction of sugars from lignocellulosic biomass. *Bioresource technology* **164**, 221-231.
- Williams, K. C. (2006). Subcritical water and chemical pretreatments of cotton stalk for the production of ethanol.
- Wu, F.-C., and Tseng, R.-L. (2008). High adsorption capacity NaOH-activated carbon for dye removal from aqueous solution. *Journal of Hazardous Materials* **152**, 1256-1267.
- Wyman, C. (1996). "Handbook on bioethanol: production and utilization," CRC press.
- Wyman, C. E., Dale, B. E., Elander, R. T., Holtzapple, M., Ladisch, M. R., and Lee, Y. (2005). Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies. *Bioresource technology* **96**, 1959-1966.
- Xiao, H., Peng, H., Deng, S., Yang, X., Zhang, Y., and Li, Y. (2012). Preparation of activated carbon from edible fungi residue by microwave assisted K₂CO₃ activation—Application in reactive black 5 adsorption from aqueous solution. *Bioresource Technology* **111**, 127-133.
- Yang, B., and Wyman, C. E. (2008). Characterization of the degree of polymerization of xylooligomers produced by flowthrough hydrolysis of pure xylan and corn stover with water. *Bioresource technology* **99**, 5756-5762.
- Yat, S. C., Berger, A., and Shonnard, D. R. (2008). Kinetic characterization for dilute sulfuric acid hydrolysis of timber varieties and switchgrass. *Bioresource Technology* **99**, 3855-3863.
- Yu, Y., Lou, X., and Wu, H. (2007). Some Recent Advances in Hydrolysis of Biomass in Hot-Compressed Water and Its Comparisons with Other Hydrolysis Methods†. *Energy & Fuels* **22**, 46-60.
- Yunus, R., Salleh, S. F., Abdullah, N., and Biak, D. R. A. (2010). Effect of ultrasonic pre-treatment on low temperature acid hydrolysis of oil palm empty fruit bunch. *Bioresource technology* **101**, 9792-9796.

- Zadrazil, F. (1985). Screening of fungi for lignin decomposition and conversion of straw into feed. *Angewandte Botanik* **59**, 433-452.
- Zavrel, M., Bross, D., Funke, M., Büchs, J., and Spiess, A. C. (2009). High-throughput screening for ionic liquids dissolving (ligno-) cellulose. *Bioresource Technology* **100**, 2580-2587.
- Zhang, Y.-H. P., Ding, S.-Y., Mielenz, J. R., Cui, J.-B., Elander, R. T., Laser, M., Himmel, M. E., McMillan, J. R., and Lynd, L. R. (2007). Fractionating recalcitrant lignocellulose at modest reaction conditions. *Biotechnology and Bioengineering* **97**, 214-223.
- Zhao, X., Cheng, K., and Liu, D. (2009). Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis. *Applied Microbiology and Biotechnology* **82**, 815-827.
- Zheng, Y., Pan, Z., and Zhang, R. (2009). Overview of biomass pretreatment for cellulosic ethanol production. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering* **2**, 51-68.
- Zhou, N., Zhang, Y., Gong, X., Wang, Q., and Ma, Y. (2012). Ionic liquids-based hydrolysis of *Chlorella* biomass for fermentable sugars. *Bioresource technology* **118**, 512-517.
- Zuo, S., Yang, J., Liu, J., and Cai, X. (2009). Significance of the carbonization of volatile pyrolytic products on the properties of activated carbons from phosphoric acid activation of lignocellulosic material. *Fuel Processing Technology* **90**, 994-1001.



2. MARCO Y OBJETIVOS DE LA TESIS

2.1. Marco de referencia del proyecto de tesis

Actualmente, el mundo se encuentra en un periodo de crisis energética, ya que dentro de algunos años, la producción mundial de petróleo convencional empezará a disminuir, al haber alcanzado actualmente el límite de producción, mientras que la demanda mundial no deja de aumentar. Como alternativas se están barajando multitud de opciones, desde las energías alternativas o renovables hasta las energías de fusión nucleares, y que precisan estudios de viabilidad económica.

En la actualidad, los recursos fósiles no se consideran sostenibles y son cuestionables desde el punto de vista económico, ecológico y del medio ambiente. La quema de combustibles fósiles contribuye al aumento del nivel de CO₂ en la atmósfera y se asocia directamente con el calentamiento global observado en las últimas décadas. Por lo tanto, se ha convertido en una prioridad en los últimos años, la búsqueda de fuentes sostenibles de energía y respetuosas con el medio ambiente y por consiguiente, existe un interés en la producción de combustibles a partir de plantas o de desechos orgánicos ya que el CO₂ liberado en la quema es igual al CO₂ absorbido por la planta durante la fotosíntesis y por lo tanto no aumenta el CO₂ neto en la atmósfera. Además, los biocombustibles junto con la producción de bioproductos pueden proporcionar nuevas oportunidades de ingresos y empleo en las zonas rurales.

Actualmente el sector del transporte produce alrededor del 25% de las emisiones mundiales de CO₂ y representa aproximadamente el 50% del consumo mundial de petróleo. Los biocombustibles son vistos como una de las opciones más viables para reducir las emisiones de carbono en el sector del transporte, junto con las mejoras en la eficiencia del combustible.

Durante la última década, la producción mundial de biocombustibles se incrementó rápidamente, siendo representados casi en su totalidad por biocombustibles de primera generación (principalmente en forma de etanol a partir de caña de azúcar y maíz) (IEA, 2009b). Los Estados Unidos es actualmente el mayor productor de biocombustibles, seguido por Brasil y la Unión Europea. La producción de biocombustibles de segunda generación se encuentra aún en la etapa de planta piloto, y aún no está operando eficientemente desde el punto de vista comercial. El principal obstáculo para los biocombustibles de segunda generación son los altos costes de inversión inicial, así como mayores costes para la obtención del producto final en

comparación con los combustibles fósiles o de muchos biocombustibles de primera generación.

La presente tesis se basa en la investigación y desarrollo de procesos que utilizan la biomasa como materia prima para la producción de biocombustibles y bioproductos y que sirva de base para el desarrollo de las futuras biorrefinerías integradas. El concepto básico del sistema de biorrefinería es producir biocombustibles y bioproductos a partir de biomasa. Una biorrefinería es un centro que integra los procesos y equipos de conversión de biomasa para la producción de combustibles, productos químicos y energía. La conversión de la biomasa requiere profundo conocimiento de la tecnología de producción, la química, la tecnología de conversión de biomasa, la economía y las cuestiones relacionadas con el medio ambiente (Fernando et al., 2006).

La presente tesis doctoral ha contado con la financiación de un proyecto de la Junta de Castilla y León, Proyecto VA036A12-2 y la colaboración del GIRTADRUS y el CT ITAGRA y las empresas BioWatt Ibérica, HMF S.L. para la puesta en marcha de una planta piloto y el tratamiento de residuos lignocelulósicos procedentes de empresas agroalimentarias y agroforestales.

En la Figura 2.1, se observa el planteamiento general de la tesis. Los capítulos 3 y 4, se refieren al estudio de nuevos métodos de solvólisis/pirolisis de la biomasa para la obtención de productos energéticos, y en concreto la obtención de compuestos furanos y de azúcares reductores totales. Estos productos son importantes para la obtención de biocombustibles, siendo el HMF/furfural sus principales precursores y los azúcares reductores totales pueden servir para la producción de bioetanol o de otros biocombustibles y bioproductos. El capítulo 5, se caracteriza por la formación de bioproducto, la obtención de carbones activados de origen vegetal, y su estudio por métodos físico-químicos, y donde se estudia los mecanismos de adsorción de contaminantes como la Rodamina-B por estudios cinéticos, construcción de isothermas y métodos termodinámicos. El capítulo 6, representa un estudio integrado de los dos procesos, adsorción de colorantes seguido por un segundo proceso de hidrólisis para la producción de azúcares reductores totales. La adsorción del colorante se lleva a cabo por el material natural (reducido a polvo y sin carbonizar) y luego se estudia su viabilidad en la conversión de azúcares reductores totales a través de un proceso de hidrólisis enzimática.

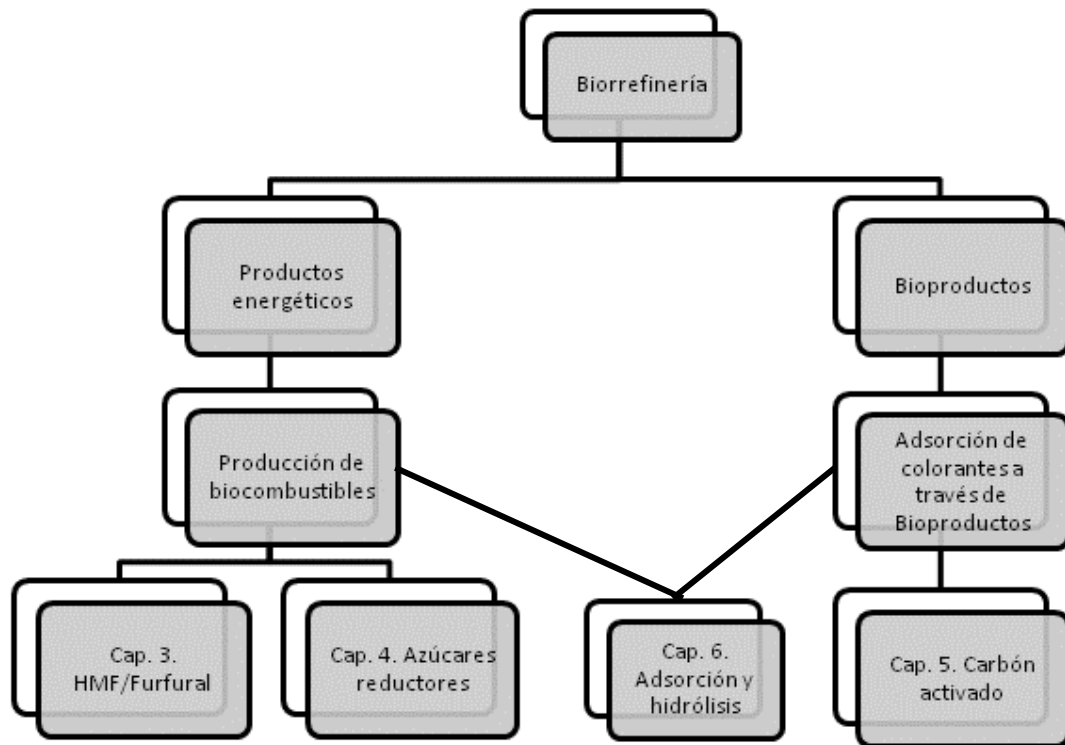


Figura 2.1. Esquema resumido de los temas investigados en la tesis, separados por capítulos

2.1.1. Elección del material lignocelulósico

En este contexto, se han desarrollado nuevos procedimientos de síntesis para que se pueda llevar a cabo una producción eficiente de biocombustibles de segunda generación y de bioproductos con un alto valor añadido. Para ello se precisa inicialmente disponer de biomasa residual que proporcione el material lignocelulósico necesario para su posterior conversión en diferentes subproductos que permitan ser explotados como recurso energético para la obtención de biocombustibles y como recursos para la obtención de bioproductos o carbones activos. Se han seleccionado tres especies de diferentes cultivos con diferentes contenidos en celulosa, hemicelulosa y lignina y de diferentes procedencias: dos palmeras procedentes de Brasil, y de las cuáles se ha optado para el estudio la hoja de carnaúba desprovista de cera o bagazo, la cáscara, pulpa y endocarpio de la macaúba y por último un residuo de Castilla y León de alto valor energético como es la cáscara del piñón del pino piñonero. Seguidamente se presentan estas tres especies y las ventajas de su utilización para los objetivos que se persiguen en la presente tesis.

La carnaúba (*Copernicia prunifera* (Miller) H.E.Moore) es una de las especies más dominantes y frecuentes en la zona semiárida de Nordeste de Brasil. La carnauba

puede llegar a producir 60 hojas por árbol, lo que suele ocurrir en años lluviosos con buena precipitación. Carvalho y Gomes (2008), estudiando la ecoeficiencia de la carnaúba encontraron que se producen entre 0,05 y 0,03 kg de cera por cada kg de bagazo. Según el Instituto Brasileiro de Geografía y Estadística (IBGE), en el año 2013 la producción de cera de carnauba fue alrededor de 3.190 toneladas, por lo que se estima una producción de 63.800 toneladas del subproducto (bagazo). Por consiguiente se precisa desarrollar un sistema que permita un mejor aprovechamiento de esta biomasa residual para la obtención de productos de alto valor añadido.

La macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.) posee una amplia distribución geográfica, produciéndose a lo largo de los trópicos americanos, desde México hasta Argentina, Bolivia, Paraguay y Antillas, excepto Ecuador y Perú. La macaúba es una planta de gran importancia desde el punto de vista ecológico, debido a su aprovechamiento como alimento para los animales silvestres, contribuyendo al desarrollo del ecosistema. La planta posee también una gran producción de frutos con alto contenido de aceite en la pulpa y la almendra (Lorenzi, 1996). Este alto contenido en aceite otorga a la macaúba un gran potencial a la hora de su aplicación en el sector industrial y/o energético. Los subproductos generados a partir del procesamiento de la pulpa, para la obtención de aceite, pueden ser utilizados en la nutrición animal y/o como fertilizante (Motta et al., 2002). Este aceite se ha encontrado principalmente en la pulpa (59,8%) y en el almendro (55,6%), presentando también pequeñas cantidades en la cáscara de la macaúba (6,5%). Los subproductos generados tras el proceso de extracción del aceite son la cáscara, el bagazo de la pulpa, el bagazo del almendro y el endocarpio (que no presenta ningún contenido de aceite). El creciente aumento del uso de estos frutos, para la obtención de aceite, ha provocado la necesidad de una gestión adecuada de la gran cantidad de subproductos generados. Otro importante subproducto es el endocarpio del fruto, que puede ser utilizado como carbón vegetal debido a su alto poder calorífico (Boas et al., 2010).

El *Pinus pinea* L., llamado “pino piñonero”, es una especie originaria del mediterráneo que puede vivir unos 120 años. España es el principal productor de estos piñones, con un 45% de la producción mundial (30.000 ton/año), seguido de Portugal y Turquía. Los piñones de esta especie son comestibles y, una vez pelados, se utilizan en repostería, en sustitución de avellanas o nueces. Tiene un elevado potencial como alimento saludable y como fuente para obtener compuestos bioactivos (fitoesteroles,

ácidos grasos, fibra dietética, polifenoles, otros) que pueden incorporarse en alimentos funcionales procesados. En el año 2003 la US FDA (Food and Drug Administration) recomienda el consumo de las semillas ya que previenen del riesgo de enfermedades cardiovasculares, y se reduce los niveles de colesterol y por ello las dietas saludables incluyen los frutos secos y su demanda se ha incrementado significativamente. Por otra parte los residuos del Pino piñonero, como la cáscara, constituye un material de alto valor calorífico en calderas y en el presente trabajo se recomienda ampliar su utilización para la producción de biocombustibles y bioproductos.

2.1.2. Elección de los métodos síntesis para la producción de furanos y azúcares reductores totales

En los capítulos 3 y 4 de la tesis, que llevan por título: “Estudio cinético sobre la conversión asistida por microondas de celulosa y residuos de lignocelulosa en HMF/furfural” e “Hidrólisis ácida eficiente en líquidos iónicos, asistida por microondas, de materiales lignocelulósicos en azúcares reductores totales” se abordan la producción de biocombustibles a través de métodos de solvólisis o hidrólisis ácida de los materiales lignocelulósicos asistida por un tratamiento de pirolisis en un reactor de microondas. El capítulo 3, tiene como objetivo principal la producción de precursores de biocombustibles, o nuevos materiales “building blocks” que utilizan como unidades fundamentales el 5-hidroximetilfurfural (HMF) y el furfural. El capítulo 4, se centra en la producción de azúcares reductores totales, para obtención de bioalcoholes u otros biocombustibles por fermentación (Figura 2.2).

La estrategia que hemos seguido para la elección de los métodos de síntesis se basa en el análisis de la extensa bibliografía especializada disponible sobre producción de biocombustibles y en el estudio en el laboratorio de los métodos de pretratamiento o hidrólisis ácida para la posterior producción de etanol y furfural de residuos lignocelulósicos (Figura 2.2). La conversión ácida de celulosa y hemicelulosa (fundamentalmente xilano) a azúcares o HMF y furfural, puede ser catalizada por una amplia variedad de ácidos incluyendo sulfúrico, clorhídrico, fluorhídrico y ácido nítrico. El proceso consiste en la transformación de celulosa a glucosa y seguidamente a HMF y material carbonoso de descomposición. Por otra parte los xilanos procedentes de la hemicelulosa se convierten en xilosa, furfural y posible material carbonoso (humínico) procedente de la descomposición de la materia prima.

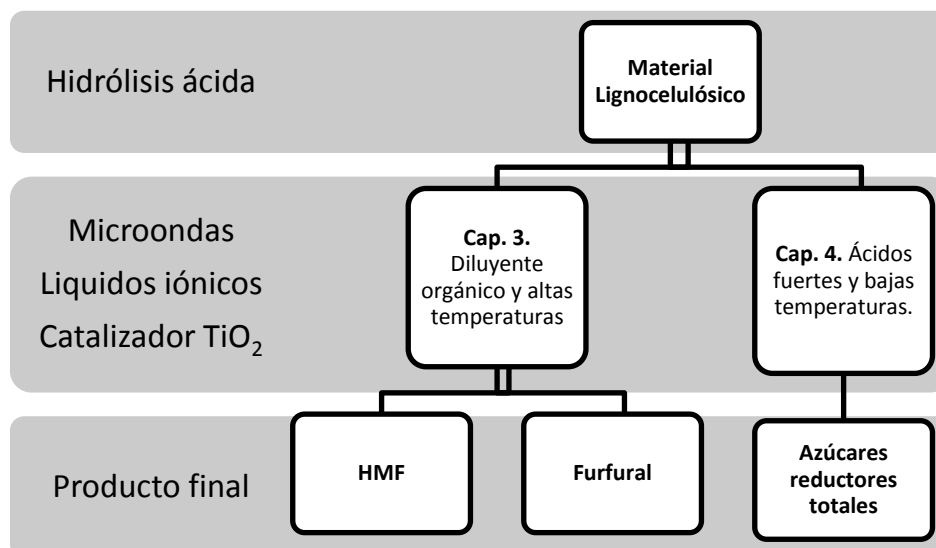


Figura 2.2. Esquema de parámetros de reacción de los capítulos 3 y 4

La transformación de la biomasa se llevó a cabo inicialmente en placas calefactoras con agitación magnética y por métodos de solvólisis con diversos disolventes y catalizadores capaces de producir la disolución de la biomasa. También se han utilizado diferentes tipos de reactores de media y baja presión en vasos de acero o reactores tipo Parr, y por último se vienen usando tecnologías punta como el empleo de ultrasonidos y la tecnología de microondas. La tecnología de ultrasonidos se utiliza en muchas aplicaciones, tales como homogeneizadores, desintegración, sonoquímica, limpieza o desgasificación. Mediante sonicadores, trabajando a 20kHz, es posible desintegrar las fibras constituyentes del material lignocelulósico en partículas finas y llegar a romper las paredes de la estructura celular e inclusive el material intracelular, tales como almidón o azúcar en el líquido. La tecnología de microondas se caracteriza por ser una radiación electromagnética no ionizante, que no causa cambios en la estructura molecular pero que producen movimiento molecular, por migración de iones y rotación de dipolos, y que genera fricción por las colisiones moleculares, lo que hace que el material se caliente. Tienen un rango de frecuencia desde 300 MHz a 300 GHz y la correspondiente longitud de onda de 1 m a 1 mm. La frecuencia más usada a nivel industrial y doméstico es la 2,45 GHz y tiene la capacidad de penetración en entornos acuosos y en disolventes apróticos polares y miscibles con el agua y su uso es hoy muy atractivo para el pretratamiento de la biomasa celulósica (Stuhler and Wyman, 2003; Yang and Wyman, 2008). Varios investigadores han evaluado que el pretratamiento con microondas en combinación con ácidos resulta beneficioso para el pretratamiento de la paja de arroz (Curreli et al., 2002; Zhu et al., 2005) frente a cuando se opera con una

calefacción convencional (Hu and Wen, 2008). Hoy en día, se recomienda el uso de la tecnología de microondas para la producción de azúcares a partir de la biomasa lignocelulósica (Zhou et al., 2012b).

Para la elección de los líquidos iónicos nos hemos basado en los estudios ya existentes y consultados en la bibliografía especializada. Los líquidos iónicos (LIs) más utilizados se basan en las sales de imidazolio o piridonio, debido fundamentalmente a su estabilidad térmica, insignificante presión de vapor, no inflamabilidad y sus efectos catalíticos en diferentes tipos de reacciones en síntesis orgánica (Pârvulescu and Hardacre, 2007; Wasserscheid and Welton, 2008). Otros líquidos iónicos son las conocidas mezcla eutéctica (líquidos iónicos profundos) o DES (*Deep eutectic solvent*), mezcla de dos sólidos con elevados puntos de fusión (Zhang et al., 2014). Hoy se recomienda el uso de los DES como medios de reacción baratos y con bajo impacto medioambiental en procesos de síntesis orgánica catalizados por complejos de metales de transición, y es un campo que permanece prácticamente inexplorado (Abbott et al., 2011).

La sal más comúnmente usada es el cloruro de trimetiletanolamonio o cloruro de colina (ChCl), punto de fusión 302 °C. En nuestro caso hemos elegido para la producción de compuestos furanos, las mezclas ChCl: Urea (1:1), ChCl: ácido oxálico (1,5:1), ChCl:betaína (3:1) y TEAC (capítulo 3, Tabla 3.2). Para la producción de azúcares se eligieron dos mezclas eutécticas (ChCl: Urea (1:1), ChCl: ácido oxálico (1,5:1)) y dos líquidos iónicos convencionales (TEAB y TEAC) (capítulo 4, Tabla 4.2).

Para la producción de HMF y furfural, se han venido utilizando recientemente diferentes catalizadores con el objetivo de aumentar la velocidad de reacción y de mejorar los rendimientos de producción de compuestos furanos. En la Tabla 2.1 se presentan diferentes tipos de catalizadores: catalizadores a base de cromo; zirconio y titanio; y lantano. Zhang and Zhao (2010) obtienen compuestos furanos a través de microondas con diferentes tipos de biomasa, como la caña de maíz, paja de arroz y madera de pino y utilizando $\text{CrCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ como catalizador y con rendimientos de HMF que oscilan del 45-52%. Qi et al. (2010) sintetizan HMF a partir de fructosa y glucosa con TiO_2 y ZrO_2 como catalizadores en agua y con radiación de microondas (200°C) como fuente de calentamiento. Los catalizadores heterogéneos presentan la ventaja frente a los catalizadores homogéneos (tales como HCl o H_2SO_4) de su bajo poder de corrosión y de una fácil separación. En la Tabla 2.1 se ofrece los rendimientos de

producción de HMF y nuestras investigaciones se han orientado a operar con diferentes tipos de catalizadores ácidos y básicos y anfóteros para la producción de HMF y furfural, en el capítulo 3.

Tabla 2.1. Diferentes catalizadores para la conversión de HMF y furfural

Biomass	Solvent	Catalyst	Temperature	Time	HMF selectivity %	Ref.
Corn stalk	[BMIM][Cl]	CrCl ₃	200°C (MW)	3min	45.0	(Zhang and Zhao, 2010)
Rice Straw	[BMIM][Cl]	CrCl ₃	200°C (MW)	3min	47.0	(Zhang and Zhao, 2010)
Pine Wood	[BMIM][Cl]	CrCl ₃	200°C (MW)	3min	52.0	(Zhang and Zhao, 2010)
Cellulose	[EMIM][Cl]	CrCl ₂	120°C	6h	89.0	(Zhang et al., 2010)
Fructose	H ₂ O	ZrO ₂	200°C (MW)	5min	30.6	(Qi et al., 2010)
Fructose	H ₂ O	TiO ₂	200°C (MW)	5min	38.1	(Qi et al., 2010)
Fructose	H ₂ O	ZrO ₂	200°C (MW)	5min	10.0	(Qi et al., 2010)
Fructose	H ₂ O	TiO ₂	200°C (MW)	5min	18.6	(Qi et al., 2010)

En la Tabla 2.2, se ofrece un resumen de los principales parámetros o variables que se introducen en los capítulos 3 y 4 para la producción de furanos o de azúcares reductores totales. En el capítulo 3 y para la producción de furanos los objetivos de la investigación se dirigen al estudio de la dosis de agua necesaria para llevar a cabo los procesos de hidrólisis y deshidratación de la glucosa a HMF (Qi et al., 2009). Recientemente, Tao et al. (2014) ha encontrado que la dosis óptima de agua para una conversión de glucosa (96.5%) fue de 0,5 ml. Durante nuestra investigación se ha variado la dosis de agua de 1-5ml para tratar de encontrar los valores óptimos de producción de HMF y furfural.

Tabla 2.2. Parámetros analizados en los capítulos 3 y 4, para la producción de biocombustibles

Parámetros	Cap. 3. Producción de HMF/Furfural	Cap. 4. Producción de azúcares reductores	Importancia
Líquidos iónicos	ChCl: Urea (1:1), ChCl: ácido oxálico (1,5:1), ChCl:betaína (3:1) y TEAC	ChCl: Urea (1:1), ChCl: ácido oxálico (1,5:1), TEAB y TEAC	Buen disolvente de la biomasa y las mezclas eutécticas son más económicos que los líquidos iónicos convencionales
Ácidos y dosis de ácidos	-	H ₂ SO ₄ (5%), HCl (6%), HNO ₃ (10%), H ₃ PO ₄ (10%) and TsOH (5%). Dosis: 5-15%	Importante catalizador de la reacción, ampliamente usado en la producción de azúcares
Dosis de agua	1ml, 2ml, 3ml y 5ml	-	La dosis óptima de agua es importante debido a que su uso influencia en el rendimiento de la producción de compuestos furanos.
Temperatura	120, 140, 160, 180 y 200°C	120, 130 y 140°C	Un aumento de temperatura aumenta la velocidad de la reacción, siendo importante conocer el punto óptimo donde se produce los mejores rendimientos y una menor degradación del producto
Tiempo	5, 15, 30, 45 y 60 minutos	5, 15, 30, 45 y 60 minutos	Igual que la temperatura, el tiempo es importante debido a que es posible obtener el punto óptimo donde se produce los mejores rendimientos y una menor degradación del producto final
Cinética	Modelo de Saeman	Modelo de Saeman	Es importante el estudio de modelos simplificados que determinen la cinética de reacción y que verifiquen la temperatura y tiempos óptimos de producción de biocombustibles
Pretratamiento	Ultrasonidos	-	Reduce significativamente el tamaño de la celulosa microcristalina, incrementa la velocidad de reacción, y mejora los rendimientos y reduce el gasto en energía
Microondas con agitación	Microondas con agitación a 50% del máximo permitido	-	La agitación hace que la solución sea más homogénea y que los sustratos sean más fácilmente atacables.

En el capítulo 4 para la producción de azúcares reductores totales se estudia el uso de ácidos fuertes en el proceso de hidrólisis (Tabla 2.2). Los ácidos son importantes catalizadores de la reacción de hidrólisis y son ampliamente usados en la producción de monosacáridos. En la Tabla 2.3, se presentan los diferentes ácidos y sustratos que se vienen usando en la hidrólisis ácida. Los mayores rendimientos de azúcares reductores totales se presentan para el H₂SO₄ concentrado, con rendimientos superiores a 80g/L (Wijaya et al., 2014). Los ácidos HCl, HNO₃ y H₃PO₄, presentan rendimientos inferiores en la producción de azúcares reductores totales (Rodríguez-Chong et al.,

2004; Tong et al., 2013; Zhou et al., 2012a). Nosotros hemos ensayado con 5 ácidos: H_2SO_4 , HCl, HNO_3 , H_3PO_4 y el p-toluensulfónico (TsOH).

Tabla 2.3. Hidrólisis ácida utilizando diferentes ácidos para la producción de azúcares reductores

Substrate	Amount	Pretreatment method	Acid	Reaction temperature	Reaction time	Reducing sugar	Reference
Microcrystalline cellulose	0,25g	-	H_3PO_4 10%	200°C	10h	16,9%	Tong et al. (2013)
Chlorella biomass	15.2 mg	[Emim]Cl	HCl 7%	105°C	3h	90%	Zhou et al. (2012a)
Sugarcane bagasse		-	HNO_3 2%	128°C	180min.	20,1g/L	Rodríguez-Chong et al. (2004)
Olive stones	50g	-	H_2SO_4 0,025M	195°C	5min	89,70%	Saleh et al. (2014)
Oak wood	2 wt%	Decrystallization	H_2SO_4 75%	80°C	30min	90,39g/L	Wijaya et al, 2014
Pine wood	2 wt%	Decrystallization	H_2SO_4 80%	80°C	30min	87,48 g/L	Wijaya et al, 2014
Empty fruit bunch	2 wt%	Decrystallization	H_2SO_4 80%	80°C	30min	88,20g/L	Wijaya et al, 2014
Empty fruit bunch	30g	Ultrasonic	H_2SO_4 2%	140°C	200min	58%	Yunus et al, 2010
Wheat straw	1g	-	H_2SO_4 2%	130°C	29,3min	25,5kg/m3	Guerra-Rodríguez et al, 2012
Empty fruit bunch	0,2g	-	H_2SO_4 0,5N	180°C	10min	10,03g/L	Chin et al, 2014

Para ambos capítulos 3 y 4 hemos utilizado líquidos iónicos como medio de reacción y el microondas como tecnología de pirólisis. La principal diferencia en la obtención de furanos (capítulo 3) y en la obtención de azúcares reductores totales (capítulo 4) se encuentra en la temperatura de reacción. De acuerdo con los resultados obtenidos en estudios anteriores, y cuando se opera a altas temperaturas (>140°C) la producción de compuestos furanos es elevada, y no se producen apenas azúcares reductores totales. Cuando se opera a temperaturas inferiores a 120°C, la producción de azúcares es elevada y es baja la producción de furanos. Por consiguiente se decide programar la reacción de producción de furfural e HMF en el intervalo de 120°C a 200°C y para la producción de azúcares reductores totales operar en el rango de 120-140°C. En ambos casos se elige un tiempo de tratamiento entre 5-60 min.

Otro aspecto objeto de estudio ha sido el estudio cinético, que es importante debido a que modelos simplificados pueden determinar la cinética de reacción y así verificar la temperatura y los tiempos óptimos de producción de los biocombustibles. El modelo de Saeman es ampliamente estudiado para el ajuste cinéticos de la producción de HMF/furfural o azúcares reductores totales en función del tiempo de reacción (Chin et al., 2014b; Guerra-Rodríguez et al., 2012; Rodríguez-Chong et al., 2004). Se caracteriza por presentar dos reacciones de primer orden pseudo-homogénea,

irreversibles y consecutivas (Rodríguez-Chong et al., 2004) y en donde aparecen dos fases: una fase representada por la producción de azúcares o compuestos furanos y una segunda fase, que representa la degradación de estos productos a HMF/furfural o ácido levulínico/fórmico, respectivamente.

Por último, se estudió en el capítulo 3 de producción de furanos utilizando dos tipos de tecnologías: la primera representada por el pretratamiento por ultrasonidos y la segunda por la incorporación de agitación al reactor de microondas. Varios autores han estudiado el efecto del ultrasonido como pretratamiento para la producción de biocombustibles (Imai et al., 2004; Leaes et al., 2013; Nakayama and Imai, 2013; Reddad et al., 2002; Yunus et al., 2010). Nakayama and Imai (2013) e Imai et al. (2004) demuestran que la tecnología de ultrasonidos, como pretratamiento para la hidrólisis enzimática a partir de la celulosa, facilita su conversión en glucosa y ello se debe a que la introducción de ultrasonidos durante el pretratamiento reduce significativamente el tamaño de la celulosa microcristalina y la hace más accesible para su conversión a HMF (Toma et al., 2001). La incorporación de la agitación a la tecnología de microondas es un factor importante debido a que la agitación hace que la solución sea más homogénea y que los sustratos sean más fácilmente atacables. Por consiguiente la agitación influye notablemente en la disponibilidad del agua para la deshidratación de la fructosa y la rehidratación del HMF (Jiang et al., 2014).

2.1.3. Producción de carbón activado a partir de residuos lignocelulósicos.

En la Figura 2.3, se representan los procesos realizados para la producción, caracterización y estudio del carbón activado de origen vegetal y los principales objetivos de estudio del capítulo 5. Para la producción del carbón activado se ha empleado la hoja de carnaúba, el endocarpio de macaúba y la cáscara del piñón. La carbonización del material precursor se efectúa en una mufla a una temperatura de 500°C, durante 1h. Se ha elegido la Rodamina-B como contaminante en los procesos de adsorción por ser ampliamente usada en la literatura (Khan et al., 2011; Li et al., 2012; Wang et al., 2013; Yan et al., 2010).

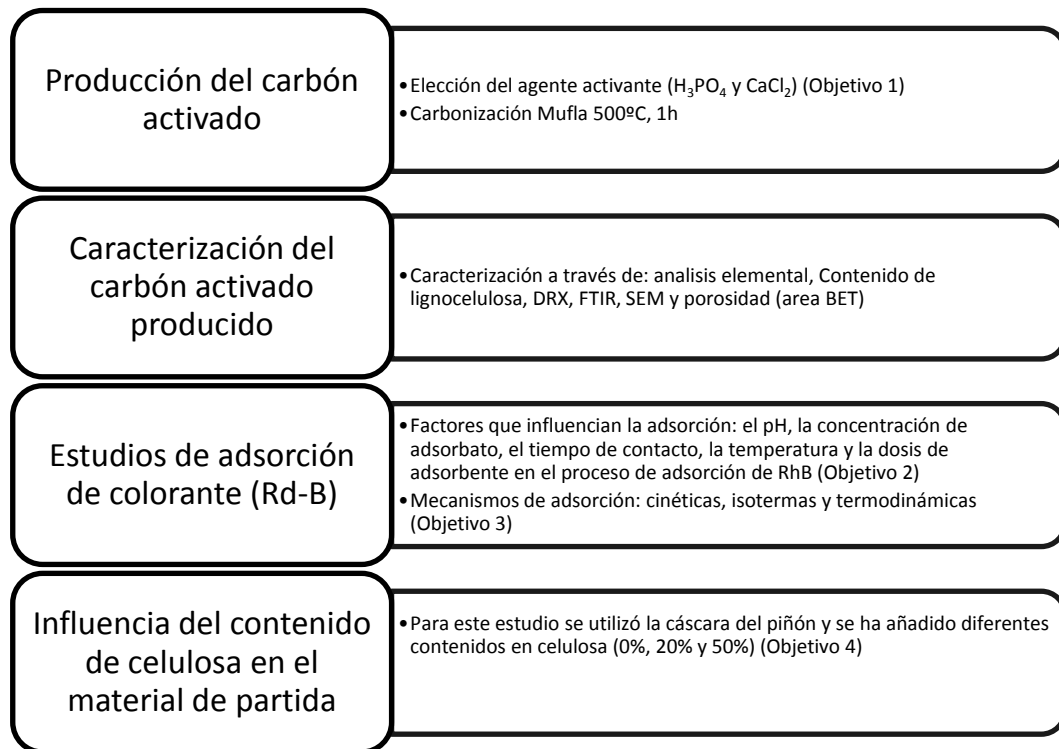


Figura 2.3. Procesos realizados en la producción, caracterización y estudio del carbón activado, con los objetivos y fases de estudio (capítulo 5)

Para la producción de carbón activado, el proceso se inicia con la elección del agente activante. Las sustancias que más se utilizan son el ácido fosfórico (H_3PO_4) (Toma et al., 2001), cloruro de zinc ($ZnCl_2$) (Nakayama and Imai, 2013), ácido sulfúrico (H_2SO_4) (Kroh, 1994), aunque también se han usado sulfuros y tiocianatos de potasio, cloruros de calcio y magnesio, hidróxidos de metales alcalinos, entre otras sustancias, siempre en función de la materia prima y el mayor o menor volumen de poros de un tipo o de otro que se quiera obtener (micro o mesoporo). En los últimos 20 años, el uso de H_3PO_4 como agente activante ha cobrado gran importancia en la fabricación en gran escala del carbón activado, el H_3PO_4 presenta una serie de ventajas entre las que destaca: buen comportamiento ambiental, facilidad de recuperación, bajo coste energético y alto rendimiento de carbono (Holtzapple et al., 1991). También se utilizan hidróxidos alcalinos (KOH, NaOH) y carbonatos (K_2CO_3 , Na_2CO_3) como agentes activadores para la producción de carbonos con alta superficie específica (Hernández-Montoya and Bonilla-Petriciolet, 2012). Sin embargo, KOH y NaOH son dos productos corrosivos y perjudiciales y por ello, las investigaciones más recientes aconsejan el uso del K_2CO_3 que se usa también aditivos alimentario (Wayman et al., 1984).

El carbón activado es un sólido que tiene dos propiedades que lo han hecho muy útil en el tratamiento de aguas. La primera consiste en que atrapa todo tipo de contaminantes orgánicos en su superficie, y la segunda, es que destruye el cloro libre residual y viene siendo desde hace muchos años la tecnología más rentable en el tratamiento de aguas contaminadas y por ello, prácticamente todas las industrias que requieren agua potable utilizan carbón activo como uno de los procesos básicos de purificación (Fombuena and Valentín, 2010).

De acuerdo con lo expuesto anteriormente, es necesario llevar a cabo un estudio sobre los factores que influyen en el proceso de adsorción de los contaminantes presentes en el medio acuoso. Las variables o parámetros más importantes son: el pH, la concentración de adsorbato, el tiempo de contacto, la temperatura y la dosis de adsorbente en el proceso de adsorción de RhB.

El pH del agua es importante debido a que los compuestos ácidos se eliminan más fácilmente a pH bajos. Otro factor importante del estudio del pH es la adsorción de compuestos cuyos cromóforos dependen del pH (Chen et al., 2010). Nuestras investigaciones con los carbones sintetizados han estudiado la adsorción de Rodamina-B a pH de 2 a 10. Seguidamente es necesario trabajar con distintas dosis de adsorbato para obtener las isothermas de adsorción, o variación de la concentración del contaminante a temperatura constante (de Luna et al., 2013). Las dosis de colorante elegidas en nuestro estudio han estado comprendidas entre 65 a 140mg/L. Otro parámetro importante ha sido el tiempo de contacto, o tiempo de equilibrio, y que corresponde al punto en que el carbón ya no adsorbe moléculas de colorante. Se ha llevado a cabo un estudio de la cinética de la adsorción del colorante, hasta adsorción constante (Chen et al., 2010; Zhu et al., 2010). También se ha seleccionado para el estudio la temperatura de adsorción, ya que define si el proceso es endotérmico o exotérmico. Un aumento de la capacidad de adsorción con el aumento de la temperatura se produce cuando el proceso es endotérmico, y en ese caso ocurre un aumento de la velocidad de difusión intrapartículas del colorante en los poros o sitios de adsorción (Karthikeyan et al., 2005). Se han elegido como temperaturas de trabajo las siguientes: 25, 35 y 45°C. También se elige la concentración del carbón necesario para eliminar la mayor concentración posible de colorante y en nuestro caso se han estudiado concentraciones de carbón de 2-8g/L (Fombuena and Valentín, 2010).

Por último se han estudiado los mecanismos de adsorción: cinética, isothermas y termodinámicas para los carbones activados producidos a partir de los materiales lignocelulósicos. Los modelos cinéticos analizan la adsorción del colorante en función del tiempo, mientras que para las isothermas el estudio se basa en adsorción en función de la variación de concentración del contaminante. Por último, los estudios termodinámicos analizan la adsorción del colorante en función de la temperatura.

La velocidad de adsorción de contaminantes en fase líquida sobre el carbón activado se puede considerar que es una reacción química entre el contaminante y los sitios activos del carbón. El estudio cinético proporciona una información importante sobre el mecanismo de adsorción de la Rodamina-B sobre la superficie del carbón, lo cual representa la velocidad de adsorción del adsorbato y el control del tiempo residual de todo el proceso de adsorción (Zhu et al., 2010). Los modelos cinéticos más utilizados para el estudio de los procesos de adsorción son aquellos que emplean ecuaciones de pseudo-primero orden (Mestre et al., 2011), pseudo-segundo orden (Theydan and Ahmed, 2012), de Elovich (Herrejón and Rodríguez, 2008) y difusión intra-partícula (Zhu et al., 2010). Se ha elegido en nuestra investigación, los modelos cinéticos de pseudo-primero y pseudo-segundo orden para la representación del proceso de adsorción en función del tiempo, por ser los más comúnmente usados.

Una isoterma de adsorción describe el equilibrio de la adsorción de un material en una superficie a temperatura constante. Representa la cantidad de material unido a la superficie como una función del material presente en la fase gas o en la disolución. Las isothermas más frecuentemente usadas son: las de Freundlich (Zhu et al., 2010), las de Langmuir (Chen et al., 2010), las de Temkin (de Luna et al., 2013) y las de Gibbs (Raabe et al., 2013). Para los análisis de las isothermas de adsorción de la presente tesis se adoptó los modelos de Langmuir y de Freundlich. La isoterma de adsorción de Freundlich o ecuación de Freundlich es una isoterma de adsorción, que es una curva que relaciona la concentración de un soluto en la superficie de un adsorbente, con la concentración del soluto en el líquido con el que está en contacto. Por su parte, la isoterma de adsorción de Langmuir se desarrolló adoptando las siguientes hipótesis: la primera, que indica que existe un número fijo de puntos accesibles disponibles en la superficie adsorbente, todos los cuales poseen la misma energía; y la segunda hipótesis es que la adsorción es reversible (Fombuena and Valentín, 2010).

Para evaluar el efecto de la temperatura en el proceso de adsorción se precisa efectuar un estudio termodinámico. Los parámetros termodinámicos se representan por la energía libre de Gibbs (ΔG^0), la entalpía (ΔH^0) y la entropía (ΔS^0) (Zhu et al, 2010) (Singh, 1988). Las temperaturas estudiadas fueron de 25, 35 y 45°C.

Durante la carbonización de los materiales lignocelulósicos, la hemicelulosa, la celulosa y la lignina se descomponen a un ritmo diferente y dentro de rangos de temperatura diferentes (Cagnon et al., 2009). Anteriores estudios sobre el tema observan que los diferentes contenidos en lignocelulosa influyen en la formación de poros, con una mejor producción de mesoporos para la celulosa (Cagnon et al., 2009; Khezami et al., 2005). Nuestros materiales de partida presentan diferentes contenidos de hemicelulosa, celulosa y lignina, por lo cual se precisaba conocer cómo afectaba el contenido de estos elementos en la preparación del carbón. La elección del material de partida ha sido en este caso la cáscara del piñón y el estudio se ha efectuado con diferentes contenidos en celulosa (0%, 20% y 50%).

2.1.4. Estudio integrado de adsorción de colorantes y hidrólisis enzimática

El capítulo 6, presenta un estudio integrado en dos pasos, con el primer paso representado por la adsorción de colorantes seguido por un segundo paso de hidrólisis enzimática del material lignocelulósico (Figura 2.4). Como se comentó anteriormente (Marco del capítulo 5) el colorante elegido ha sido la rodamina-B.

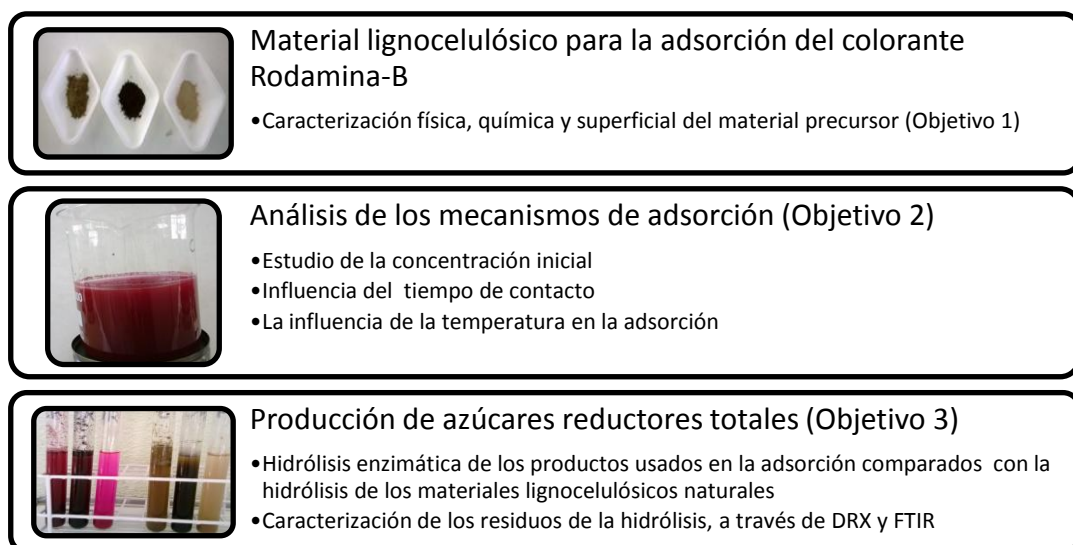


Figura 2.4. Esquema de los pasos realizados en el estudio integrado (adsorción e hidrólisis) en el capítulo 6

La adsorción es provocada por las interacciones entre el sólido y las moléculas en la fase fluida (Rouquerol et al., 2014). Siendo muy importante conocer las características físico-químicas del material lignocelulósico pues, influencia en su capacidad como adsorbente. El Objetivo 1 de este capítulo se basa en la caracterización del material precursor, a través del estudio del punto de carga cero (pHpzc), análisis superficial por medio del método Boehm, análisis elemental, identificación de los índices de yodo y azul de metileno, y por último, el área superficial.

El objetivo 2 de este capítulo, investiga los procesos de adsorción de los materiales lignocelulósicos naturales. Los factores de adsorción estudiados son: la concentración inicial del colorante, la influencia del tiempo de contacto y la influencia de la temperatura.

Los métodos convencionales para la eliminación de contaminantes a partir de soluciones acuosas incluyen química de precipitación, intercambiadores de iones, la oxidación química/reducción, ósmosis inversa, electro diálisis, ultrafiltración etc (Gardea-Torresdey et al., 1998). Sin embargo, estas técnicas convencionales tienen sus propias limitaciones inherentes. Otra tecnología de gran alcance es la adsorción de metales pesados a través de carbón activado para el tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales (Hosea et al., 1986). Sin embargo, el alto costo de carbón activado y su pérdida durante la regeneración restringe su aplicación. Desde de 1990 la adsorción de colorantes por materiales orgánicos renovables de bajo coste ha cobrado impulso (Rao et al., 2002). La utilización de algas, mohos, levaduras, otros materiales de biomasa microbiana y residuos agrícolas han sido explorado para la eliminación de metales pesados (Sudha Bai and Abraham, 2003). Recientemente la atención se ha desviado hacia los biomateriales que son subproductos o desechos de las operaciones industriales a gran escala y materiales de desecho agrícolas. Las principales ventajas de biosorción sobre los métodos de tratamiento convencionales incluyen: bajo coste, alta eficiencia, minimización de los lodos químico o biológico, ningún requisito adicional de nutrientes, y la regeneración de biosorbentes y la posibilidad de recuperación de metal (Sud et al., 2008).

Por su parte la hidrólisis implica la ruptura de los polímeros de celulosa y hemicelulosa en sus monómeros. La hidrólisis completa de los resultados de celulosa en glucosa, mientras que la hemicelulosa da lugar a varias pentosas y hexosas. (Karimi et al., 2006). En este capítulo se estudió la hidrólisis enzimática para la producción de

azúcares reductores totales (Objetivo 3). En la Tabla 2.4 están representadas diferentes tipos de biomásas tratadas enzimáticamente para la obtención de azúcares reductores totales. Se observa el incremento de los rendimientos de azúcares reductores totales cuando se realiza un pretratamiento con líquidos iónicos (Chin et al., 2014a).

Existen varias ventajas y desventajas entre el método enzimático y el termoquímico. El método enzimático se lleva a cabo bajo condiciones suaves, mientras que hidrólisis ácida se requiere una alta temperatura y un pH bajo, lo que resulta en condiciones corrosivas (Taherzadeh and Karimi, 2007). Además, varios compuestos inhibidores se forman durante la hidrólisis ácida (Guerra-Rodríguez et al., 2012), mientras que este problema no es tan grave en la hidrólisis enzimática.

Se analizó la influencia del primer paso (adsorción) en la hidrólisis enzimática. Para eso, se realizará dos ensayos distintos, donde el primer ensayo se utilizará el material lignocelulósico después de la adsorción y, a nivel comparativo, un segundo ensayo con el material lignocelulósico sin uso previo como adsorbente (natural).

Tabla 2.4. Rendimientos de azúcares reductores totales cuando se utiliza hidrólisis enzimática

Substrate	Amount	Pretreatment method	Enzyme	Amount	Temperature and Time	Reducing sugar	Reference
<i>Eucheuma cottonii</i>	2 wt%	-	Celluclast 1.5 L	15 FPU/g	50°C - 72h	19,97g/L (100%)	Tan & Lee, 2014
Corn stalks	313.45g	2% NaOH	NS22086	5 g enzyme/ 100 g cellulose	50°C - 48h	17,88%	Neo et al, 2013
Wheat straw	287.06g	2% NaOH	NS22086	6 g enzyme/ 100 g cellulose	50°C - 48h	20,50%	Neo et al, 2013
Cellulose	1,0g	[BMIM]Cl	Cellulase	0,015g	50°C - 5h	100%	Xiao et al, 2012
Cellulose	1,0g	[EMIM][OAc]	Cellulase	0,015g	50°C - 5h	90,72%	Xiao et al, 2012
Cellulose	1,0g	[BMIM][HCOO]	Cellulase	0,015g	50°C - 5h	88,92%	Xiao et al, 2012
Beech wood	10g	Organosolv-treated	NS22086, NS22083 AND NS22118	6 mg/g, 0,25mg/g and 0,6mg/g, resp	50°C - 48h	80%	TippKotter et al, 2014
Olive stones	3g	0,025M, H ₂ SO ₄	Celluclast 1,5L	40 FPU/g	50°C - 72h	56%	Saleh et al, 2014
Olive tree	200g	H ₂ O ₂ , 1%	Celluclast 1.5 L	15 FPU/g	50°C - 3h	52,0g/L (64%)	Cara et al, 2007
Hardwood	10wt%	SO ₂ -ethanol-water	Cellic CTec2 and Cellic HTec2	40 FPU/mL	50°C - 72h	100%	Yamamoto et al, 2014
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	10wt%	Hydrothermal hydrolysis	Viscozyme L and Cellic CTec2 (1:1)	10%	45°C - 48h	20,1g/L	Kim et al, 2014
Sugarcane bagasse	5g	[BMIM]Cl and HCl 1,2%	Accellerase	20FPU/g	50°C - 72h	92,1%	Zhang et al, 2012

2.2. Objetivos

En base a los antecedentes anteriormente expuestos y en especial al nuevo panorama que se abre en el campo de la revalorización de subproductos agrícolas y en el desarrollo de las nuevas biorrefinerías integradas, nuestra tesis presenta como objetivo general el aprovechamiento de los subproductos de carnaúba (*Copernicia prunifera* (Miller) H.E.Moore), macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart) y piñón (*Pinus pinea* L.), para la producción de precursores de biocombustible y/o nuevos building blocks (HMF y furfural y azúcares reductores totales), y para la utilización de bioproductos (o carbones activos) como material adsorbente para eliminar contaminantes.

Para conseguir este objetivo general hemos planificado la tesis en cuatro estudios o líneas de investigación que tienen sus objetivos específicos y hemos redactado cuatro *full paper* que han sido remitidos a revistas especializadas para su evaluación.

Dos artículos científicos se refieren a la síntesis y producción de los nuevos precursores o materiales *building block* (furanos y azúcares reductores totales) haciendo especial hincapié en las tecnologías de microondas y se desarrollan seguidamente en los capítulos 3 y 4 y que llevan por título: “*Estudio cinético sobre la conversión asistida por microondas de celulosa y residuos de lignocelulosa en HMF/furfural*” e “*Hidrólisis ácida eficiente en líquidos iónicos, asistida por microondas, de materiales lignocelulósicos en azúcares reductores totales*”

Se han elaborado otros dos artículos científicos y que son relativos a la obtención y al empleo de los carbones activos de origen vegetal para la adsorción de contaminantes. Estos aspectos se tratan en el capítulo 5 de la memoria: “*Remoción de residuos lignocelulósicos con carbones activados obtenidos de materiales lignocelulósicos*” y el segundo es relativo a la reutilización o a un doble uso de estos materiales lignocelulósicos, primero para actuar directamente como adsorbentes, sin ningún tipo de remoción y en segundo lugar para la formación de azúcares reductores y una vez purificados poder ser utilizados para la síntesis de bioalcoholes. El artículo descrito en el capítulo 6 desarrolla estos temas y lleva por título: “*Un ejemplo de reutilización de residuos en dos etapas consecutivas: adsorción del contaminante e hidrólisis enzimática*”.

A continuación se exponen los objetivos específicos de acuerdo al marco de referencia previamente descrito y al hilo conductor que nos ha conducido a su definición.

Artículo 1, capítulo 3: A kinetic study on microwave-assisted conversion of cellulose and lignocellulosic waste into HMF/furfural

Los objetivos específicos en relación con la línea de investigación sobre la obtención de furanos como nuevos materiales *building blocks*: “Estudio cinético sobre la conversión asistida por microondas de celulosa y residuos de lignocelulosa en HMF/furfural”, se ha llevado a cabo seleccionando previamente los parámetros más idóneos para la obtención de un mayor rendimiento o producción de biocombustibles.

Objetivos específicos.

- 3.1. Estudiar las diferentes mezclas eutécticas o análisis de diferentes líquidos iónicos profundos (DES): cloruro de colina/urea, cloruro de colina/ácido oxálico, cloruro de colina/betaína, frente a los líquidos iónicos convencionales como el cloruro de tetraetilamonio (TEAC).
- 3.2. Analizar la mejor mezcla eutéctica, frente a diferentes catalizadores y disolventes orgánicos, trabajando con celulosa en un equipo de microondas convencional (MW).
- 3.3. Estimar para la mejor mezcla eutéctica la dosis óptima de agua para la obtención de furfural y HMF con los sustratos seleccionados
- 3.4. Conocer la influencia de las variables tiempo y temperatura al objeto de precisar las mejores condiciones de reacción y la mejor producción conjunta de furanos a partir de los diferentes sustratos seleccionados
- 3.5. Efectuar un estudio cinético para conocer los mejores rendimientos o producción por separado de HMF y furfural de acuerdo al modelo propuesto por Saeman.
- 3.6. Estimar la influencia de la incorporación de la agitación en la tecnología de microondas y de la influencia de un pretratamiento previo de las muestras con ultrasonidos y con el fin de incrementar la producción de los compuestos furanos.

Comentario: Es preciso destacar que durante la realización de este estudio se observó que cuando se trabajaba a bajas temperaturas la producción de compuestos furanos era muy baja y el contenido en azúcares era elevado, por consiguiente, se efectuó el diseño de un nuevo estudio de síntesis de azúcares a bajas temperaturas (artículo 2 o capítulo 4 de la memoria).

Artículo 2, Capítulo 4: Efficient microwave-assisted acid hydrolysis of lignocellulosic materials into total reducing sugars in ionic liquids.

Los objetivos específicos en relación con la línea de investigación sobre la obtención de azúcares reductores totales como nuevos materiales *building blocks*: “Hidrólisis ácida eficiente en líquidos iónicos, asistida por microondas, de materiales lignocelulósicos en azúcares reductores totales”, se ha llevado a cabo seleccionando previamente los parámetros más idóneos para la obtención de un mayor rendimiento o producción de azúcares fermentables, de diferentes materiales lignocelulósico y comparar los resultados con los obtenidos para la celulosa nativa.

Se definen los siguientes objetivos específicos de acuerdo con el marco de referencia:

- 4.1. Evaluar la idoneidad de diversos líquidos iónicos como medios de reacción.
- 4.2. Estudiar el efecto de los diferentes ácidos y su concentración en la solución.
- 4.3. Analizar los tiempos de reacción y las opciones de temperatura para una mejor eficiencia de la hidrólisis asistida por microondas.
- 4.4. Estudiar la cinética de proceso de hidrólisis, con el objetivo de explicar las variaciones en la producción de azúcares reductores totales con respecto a la variación del tiempo.

Comentario: Los dos estudios anteriormente mencionados proporcionaron diferentes opciones para el aprovechamiento eficientes de los residuos lignocelulósicos, pero dirigidos a la producción de biocombustibles. Por consiguiente se pensó que la segunda parte de la Tesis debería ir dirigida a un aprovechamiento más orientado hacia la formación de bioproductos. Tras un amplio estudio de revisión bibliográfica se optó

por la síntesis de carbones activos y su aprovechamiento para la eliminación de contaminantes.

Artículo 3, Capítulo 5: Rhodamine B removal with activated carbons obtained from lignocellulosic waste.

Se trata de encontrar una forma eficiente de producir, caracterizar y utilizar carbones activados, a partir de tres materiales lignocelulósicos (hoja de carnauba, endocarpio de macauba y cascara de piñón), y con la finalidad de depurar contaminantes. Se elige en primer lugar como contaminante de referencia la Rodamina-B (RhB) y se preparan seguidamente los carbones activos de acuerdo con la metodología y los parámetros objeto de estudio. De acuerdo con lo señalado anteriormente se definen los objetivos específicos.

- 5.1. Estudiar el efecto de la impregnación con H_3PO_4 y $CaCl_2$ para cada material lignocelulósico;
- 5.2. Evaluar el impacto de las variaciones en el pH, concentración de adsorbato, tiempo de contacto, temperatura y dosis de adsorbente en el proceso de adsorción de RhB.
- 5.3. Analizar los mecanismos de adsorción de la Rodamina-B a través de isothermas, cinética y estudios termodinámicos.
- 5.4. Estudiar el efecto del contenido de celulosa de los materiales precursores en la capacidad de absorción de los carbones activados resultantes.

Comentario: En este punto de la investigación y tras comprobar la existencia de múltiples opciones para la revalorización de los residuos lignocelulósicos, se plantea como última experiencia, aprovechar los conocimientos anteriormente adquiridos, y presentar un ejemplo de reutilización de residuos lignocelulósicos en dos etapas consecutivas: una de sorción e inmediatamente después la hidrólisis enzimática de los residuos lignocelulósicos.

Artículo 4, Capítulo 6: An example lignocellulosic waste reuse in two consecutive steps: sorption of contaminants and enzymatic hydrolysis

Para este último estudio se presenta un ejemplo de reutilización de residuos lignocelulósico de forma consecutiva o por etapas: primero un estudio de adsorción de Rodamina-B y en segundo lugar un estudio posterior de hidrólisis enzimática, con

objeto de obtener de azúcares fermentables. Para ello, se plantearon una serie de objetivos específicos de acuerdo con el marco de referencia previamente descrito

- 6.1 Caracterizar los materiales naturales o sustratos objeto de estudio: textura, grupos funcionales superficiales, cristalinidad, composición química.
- 6.2 Estudiar cómo afecta la concentración inicial, el tiempo de contacto y la temperatura a este proceso de adsorción.
- 6.3 Estudiar la producción de azúcares, por hidrólisis enzimática, después del proceso de adsorción y en comparación con el material de partida sin haber experimentado ningún proceso de adsorción

2.3. Referencias

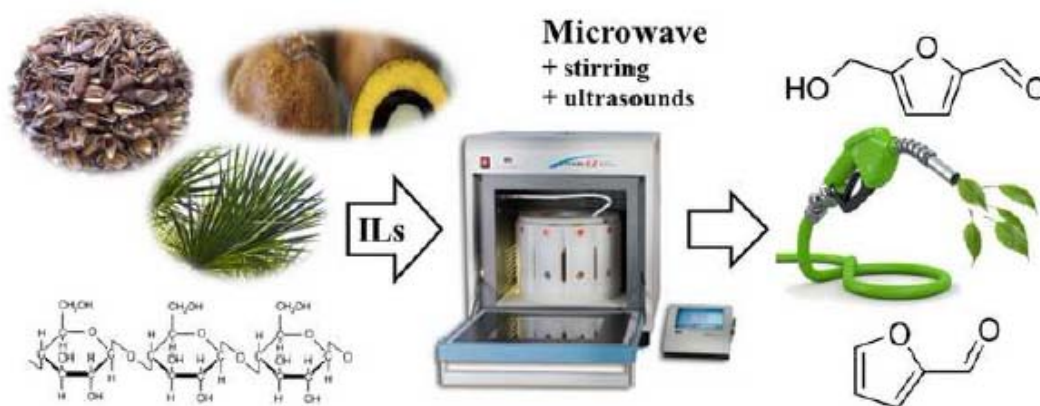
- Abbott, A. P., Harris, R. C., Ryder, K. S., D'Agostino, C., Gladden, L. F., and Mantle, M. D. (2011). Glycerol eutectics as sustainable solvent systems. *Green Chemistry* **13**, 82-90.
- Boas, M. V., Carneiro, A., Vital, B., Carvalho, A., and Martins, M. (2010). Efeito da temperatura de carbonização e dos resíduos de macaúba na produção de carvão vegetal. *Scientia Forestalis, Piracicaba* **38**, 481-490.
- Cagnon, B., Py, X., Guillot, A., Stoeckli, F., and Chambat, G. (2009). Contributions of hemicellulose, cellulose and lignin to the mass and the porous properties of chars and steam activated carbons from various lignocellulosic precursors. *Bioresource Technology* **100**, 292-298.
- Curreli, N., Agelli, M., Pisu, B., Rescigno, A., Sanjust, E., and Rinaldi, A. (2002). Complete and efficient enzymic hydrolysis of pretreated wheat straw. *Process Biochemistry* **37**, 937-941.
- Chen, S., Zhang, J., Zhang, C., Yue, Q., Li, Y., and Li, C. (2010). Equilibrium and kinetic studies of methyl orange and methyl violet adsorption on activated carbon derived from *Phragmites australis*. *Desalination* **252**, 149-156.
- Chin, S. X., Chia, C. H., Fang, Z., Zakaria, S., Li, X. K., and Zhang, F. (2014a). A Kinetic Study on Acid Hydrolysis of Oil Palm Empty Fruit Bunch Fibers Using a Microwave Reactor System. *Energy & Fuels* **28**, 2589-2597.
- Chin, S. X., Chia, C. H., Fang, Z., Zakaria, S., Li, X. K., and Zhang, F. (2014b). A Kinetic Study on Acid Hydrolysis of Oil Palm Empty Fruit Bunch Fibers Using a Microwave Reactor System. *Energy and Fuels* **28**, 2589-2597.
- de Luna, M. D. G., Flores, E. D., Genuino, D. A. D., Futralan, C. M., and Wan, M.-W. (2013). Adsorption of Eriochrome Black T (EBT) dye using activated carbon prepared from waste rice hulls—Optimization, isotherm and kinetic studies. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* **44**, 646-653.

- Fernando, S., Adhikari, S., Chandrapal, C., and Murali, N. (2006). Biorefineries: current status, challenges, and future direction. *Energy & Fuels* **20**, 1727-1737.
- Fombuena, M., and Valentín, A. (2010). Manual del carbón activo. *Aguapedia. U. Sevilla*, 1-89.
- Gardea-Torresdey, J. L., Gonzalez, J. H., Tiemann, K. J., Rodriguez, O., and Gamez, G. (1998). Phytofiltration of hazardous cadmium, chromium, lead and zinc ions by biomass of *Medicago sativa* (Alfalfa). *Journal of Hazardous Materials* **57**, 29-39.
- Guerra-Rodríguez, E., Portilla-Rivera, O. M., Jarquín-Enríquez, L., Ramírez, J. A., and Vázquez, M. (2012). Acid hydrolysis of wheat straw: A kinetic study. *Biomass and Bioenergy* **36**, 346-355.
- Hernández-Montoya, V., and Bonilla-Petriciolet, A. (2012). "Lignocellulosic precursors used in the synthesis of activated carbon: characterization techniques and applications in the wastewater treatment," Croatia.
- Herrejón, M., and Rodríguez, B. (2008). Cinética e isothermas de adsorción de Pb (II) en suelo de Monterrey. *Ingenierías* **41**, 24-31.
- Holtzapple, M., Jun, J.-H., Ashok, G., Patibandla, S., and Dale, B. (1991). The ammonia freeze explosion (AFEX) process. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **28-29**, 59-74.
- Hosea, M., Greene, B., McPherson, R., Henzl, M., Dale Alexander, M., and Darnall, D. W. (1986). Accumulation of elemental gold on the alga *Chlorella vulgaris*. *Inorganica Chimica Acta* **123**, 161-165.
- Hu, Z., and Wen, Z. (2008). Enhancing enzymatic digestibility of switchgrass by microwave-assisted alkali pretreatment. *Biochemical Engineering Journal* **38**, 369-378.
- Imai, M., Ikari, K., and Suzuki, I. (2004). High-performance hydrolysis of cellulose using mixed cellulase species and ultrasonication pretreatment. *Biochemical Engineering Journal* **17**, 79-83.
- Jiang, N., Qi, W., Huang, R., Wang, M., Su, R., and He, Z. (2014). Production enhancement of 5-hydroxymethyl furfural from fructose via mechanical stirring control and high-fructose solution addition. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* **89**, 56-64.
- Karimi, K., Kheradmandinia, S., and Taherzadeh, M. J. (2006). Conversion of rice straw to sugars by dilute-acid hydrolysis. *Biomass and Bioenergy* **30**, 247-253.
- Karthikeyan, T., Rajgopal, S., and Miranda, L. R. (2005). Chromium(VI) adsorption from aqueous solution by Hevea Brasilinesis sawdust activated carbon. *Journal of Hazardous Materials* **124**, 192-199.
- Khan, T. A., Sharma, S., and Ali, I. (2011). Adsorption of Rhodamine B dye from aqueous solution onto acid activated mango (*Magnifera indica*) leaf powder: Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences* **3**, 286-297.
- Khezami, L., Chetouani, A., Taouk, B., and Capart, R. (2005). Production and characterisation of activated carbon from wood components in powder: Cellulose, lignin, xylan. *Powder Technology* **157**, 48-56.

- Kroh, L. W. (1994). Caramelisation in food and beverages. *Food Chemistry* **51**, 373-379.
- Leaes, E. X., Zimmermann, E., Souza, M., Ramon, A. P., Mezadri, E. T., Dal Prá, V., Terra, L. M., and Mazutti, M. A. (2013). Ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis of cassava waste to obtain fermentable sugars. *Biosystems Engineering* **115**, 1-6.
- Li, Y., Zhou, X., Chen, W., Li, L., Zen, M., Qin, S., and Sun, S. (2012). Photodecolorization of Rhodamine B on tungsten-doped TiO₂/activated carbon under visible-light irradiation. *Journal of Hazardous Materials* **227-228**, 25-33.
- Lorenzi, H. S., H. M.; Medeiros-Costa, J. T.; Cerqueira, L. S. C.; Behr, N. (1996). "Palmeiras do Brasil: exóticas e nativas," Nova Odessa.
- Mestre, A. S., Bexiga, A. S., Proença, M., Andrade, M., Pinto, M. L., Matos, I., Fonseca, I. M., and Carvalho, A. P. (2011). Activated carbons from sisal waste by chemical activation with K₂CO₃: Kinetics of paracetamol and ibuprofen removal from aqueous solution. *Bioresource Technology* **102**, 8253-8260.
- Motta, P. d., Curi, N., Oliveira-Filho, A. d., and Gomes, J. B. V. (2002). Ocorrência de macaúba em Minas Gerais: relação com atributos climáticos, pedológicos e vegetacionais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **37**, 1023-1031.
- Nakayama, R.-i., and Imai, M. (2013). Promising ultrasonic irradiation pretreatment for enzymatic hydrolysis of Kenaf. *Journal of Environmental Chemical Engineering* **1**, 1131-1136.
- Pârvulescu, V. I., and Hardacre, C. (2007). Catalysis in ionic liquids. *Chemical Reviews* **107**, 2615-2665.
- Qi, X., Watanabe, M., Aida, T. M., and Smith, J. R. L. (2009). Efficient process for conversion of fructose to 5-hydroxymethylfurfural with ionic liquids. *Green Chemistry* **11**, 1327-1331.
- Qi, X., Watanabe, M., Aida, T. M., and Smith, R. L. (2010). Fast Transformation of Glucose and Di-/Polysaccharides into 5-Hydroxymethylfurfural by Microwave Heating in an Ionic Liquid/Catalyst System. *ChemSusChem* **3**, 1071-1077.
- Raabe, D., Ponge, D., Kirchheim, R., Assadi, H., Li, Y., Goto, S., Kostka, A., Herbig, M., Sandlöbes, S., Kuzmina, M., Millán, J., Yuan, L., and Choi, P.-P. (2013). Interface Segregation in Advanced Steels Studied at the Atomic Scale. In "Microstructural Design of Advanced Engineering Materials", pp. 267-298. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Rao, M., Parwate, A. V., and Bhole, A. G. (2002). Removal of Cr⁶⁺ and Ni²⁺ from aqueous solution using bagasse and fly ash. *Waste Management* **22**, 821-830.
- Reddad, Z., Gerente, C., Andres, Y., and Le Cloirec, P. (2002). Adsorption of several metal ions onto a low-cost biosorbent: kinetic and equilibrium studies. *Environmental science & technology* **36**, 2067-2073.
- Rodríguez-Chong, A., Alberto Ramírez, J., Garrote, G., and Vázquez, M. (2004). Hydrolysis of sugar cane bagasse using nitric acid: a kinetic assessment. *Journal of Food Engineering* **61**, 143-152.

- Rouquerol, F., Rouquerol, J., Sing, K. S. W., Maurin, G., and Llewellyn, P. (2014). 1 - Introduction. In "Adsorption by Powders and Porous Solids (Second Edition)" (F. R. R. S. W. S. L. Maurin, ed.), pp. 1-24. Academic Press, Oxford.
- Saleh, M., Cuevas, M., García, J. F., and Sánchez, S. (2014). Valorization of olive stones for xylitol and ethanol production from dilute acid pretreatment via enzymatic hydrolysis and fermentation by *Pachysolen tannophilus*. *Biochemical Engineering Journal* **90**, 286-293.
- Stuhler, S., and Wyman, C. (2003). Estimation of Temperature Transients for Biomass Pretreatment in Tubular Batch Reactors and Impact on Xylan Hydrolysis Kinetics. In "Biotechnology for Fuels and Chemicals" (B. Davison, J. Lee, M. Finkelstein and J. McMillan, eds.), pp. 101-114. Humana Press.
- Sud, D., Mahajan, G., and Kaur, M. P. (2008). Agricultural waste material as potential adsorbent for sequestering heavy metal ions from aqueous solutions – A review. *Bioresource Technology* **99**, 6017-6027.
- Sudha Bai, R., and Abraham, T. E. (2003). Studies on chromium(VI) adsorption–desorption using immobilized fungal biomass. *Bioresource Technology* **87**, 17-26.
- Taherzadeh, M. J., and Karimi, K. (2007). Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: a review. *BioResources* **2**, 472-499.
- Tao, F.-R., Zhuang, C., Cui, Y.-Z., and Xu, J. (2014). Dehydration of glucose into 5-hydroxymethylfurfural in SO₃H-functionalized ionic liquids. *Chinese Chemical Letters* **25**, 757-761.
- Theydan, S. K., and Ahmed, M. J. (2012). Adsorption of methylene blue onto biomass-based activated carbon by FeCl₃ activation: Equilibrium, kinetics, and thermodynamic studies. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **97**, 116-122.
- Toma, M., Vinatoru, M., Paniwnyk, L., and Mason, T. J. (2001). Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. *Ultrasonics Sonochemistry* **8**, 137-142.
- Tong, D. S., Xia, X., Luo, X. P., Wu, L. M., Lin, C. X., Yu, W. H., Zhou, C. H., and Zhong, Z. K. (2013). Catalytic hydrolysis of cellulose to reducing sugar over acid-activated montmorillonite catalysts. *Applied Clay Science* **74**, 147-153.
- Wang, Q., Chen, X., Yu, K., Zhang, Y., and Cong, Y. (2013). Synergistic photosensitized removal of Cr(VI) and Rhodamine B dye on amorphous TiO₂ under visible light irradiation. *Journal of Hazardous Materials* **246–247**, 135-144.
- Wasserscheid, P., and Welton, T. (2008). "Ionic liquids in synthesis," Wiley Online Library.
- Wayman, M., Tallevi, A., and Winsborrow, B. (1984). Hydrolysis of biomass by sulphur dioxide. *Biomass* **6**, 183-191.
- Wijaya, Y. P., Putra, R. D. D., Widayana, V. T., Ha, J.-M., Suh, D. J., and Kim, C. S. (2014). Comparative study on two-step concentrated acid hydrolysis for the extraction of sugars from lignocellulosic biomass. *Bioresource technology* **164**, 221-231.

- Yan, S. C., Li, Z. S., and Zou, Z. G. (2010). Photodegradation of Rhodamine B and Methyl Orange over Boron-Doped g-C₃N₄ under Visible Light Irradiation. *Langmuir* **26**, 3894-3901.
- Yang, B., and Wyman, C. E. (2008). Pretreatment: the key to unlocking low-cost cellulosic ethanol. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* **2**, 26-40.
- Yunus, R., Salleh, S. F., Abdullah, N., and Biak, D. R. A. (2010). Effect of ultrasonic pre-treatment on low temperature acid hydrolysis of oil palm empty fruit bunch. *Bioresource technology* **101**, 9792-9796.
- Zhang, L.-X., Yu, H., Yu, H.-B., Chen, Z., and Yang, L. (2014). Conversion of xylose and xylan into furfural in biorenewable choline chloride–oxalic acid deep eutectic solvent with the addition of metal chloride. *Chinese Chemical Letters* **25**, 1132-1136.
- Zhang, Y., Du, H., Qian, X., and Chen, E. Y. X. (2010). Ionic Liquid–Water Mixtures: Enhanced Kw for Efficient Cellulosic Biomass Conversion. *Energy & Fuels* **24**, 2410-2417.
- Zhang, Z., and Zhao, Z. K. (2010). Microwave-assisted conversion of lignocellulosic biomass into furans in ionic liquid. *Bioresource Technology* **101**, 1111-1114.
- Zhou, N., Zhang, Y., Gong, X., Wang, Q., and Ma, Y. (2012a). Ionic liquids-based hydrolysis of Chlorella biomass for fermentable sugars. *Bioresource Technology* **118**, 512-517.
- Zhou, S., Liu, L., Wang, B., Xu, F., and Sun, R. (2012b). Microwave-enhanced extraction of lignin from birch in formic acid: Structural characterization and antioxidant activity study. *Process Biochemistry* **47**, 1799-1806.
- Zhu, H. Y., Jiang, R., Xiao, L., and Zeng, G. M. (2010). Preparation, characterization, adsorption kinetics and thermodynamics of novel magnetic chitosan enwrapping nanosized γ -Fe₂O₃ and multi-walled carbon nanotubes with enhanced adsorption properties for methyl orange. *Bioresource Technology* **101**, 5063-5069.
- Zhu, S., Wu, Y., Yu, Z., Liao, J., and Zhang, Y. (2005). Pretreatment by microwave/alkali of rice straw and its enzymic hydrolysis. *Process Biochemistry* **40**, 3082-3086.



3. A KINETIC STUDY ON MICROWAVE-ASSISTED CONVERSION OF CELLULOSE AND LIGNOCELLULOSIC WASTE INTO HMF/FURFURAL

A kinetic study on microwave-assisted conversion of cellulose and lignocellulosic waste into HMF/furfural

Viviane da Silva Lacerda^a, M.Sc.; Juan B López-Sotelo^a, PhD; Adriana Correa-Guimarães^a, PhD; Salvador Hernández-Navarro^a, PhD; Mercedes Sánchez-Báscones^a, PhD; Luis M Navas-Gracia^a, PhD; Pablo Martín-Ramos^a, PhD; Eduardo Pérez-Lebeña^a; Jesús Martín-Gil^a

^aDepartment of Agricultural and Forestry Engineering, Higher Technical School of Agricultural Engineering, University of Valladolid. Avenida de Madrid 44, 34004 Palencia, Spain

* Corresponding author: jesusmartingil@gmail.com

(Disponible en línea el 31 Diciembre 2014 en Bioresource Technology. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.12.089>, Article Type: Original research paper)

3.1. Abstract

Native cellulose, lignocellulosic materials from Brazil (carnauba palm leaves and macauba pulp and shell) and pine nut shell from Spain have been studied as substrates for the production of HMF and furfural in a conventional microwave oven. In order to promote the dissolution of native cellulose, several ionic liquids (ILs), catalysts, organic solvents and water doses have been assessed. The most suitable mixture (5 mL choline chloride/oxalic acid, 2 mL of sulfolane, 2 mL of water, 0.02 g of TiO₂ and 0.1 g of substrate) has been chosen so as to conduct kinetic studies at different reaction times (5-60 min) and various temperatures (120-200°C) and to evaluate the best HMF+furfural production, either separately or in a combined manner, according to Seaman's model. The best production yields of HMF + furfural have been attained for native cellulose, with a yield of 53.24% when an ultrasonic pretreatment is used prior to a microwave treatment with stirring.

Keywords: Furan compounds; Ionic liquids; Microwave; Stirring; Ultrasonic treatment

3.2. Introduction

At present, the regular supply of clean and renewable energy has become one of the greatest challenges that Humanity faces. Although improvements are being made as a result of the use of technologies that control the emission of conventional pollutants, CO₂ emissions remain a difficult issue to resolve. Consequently, it is essential to find new fuels to replace existing ones, which can simultaneously meet the energy needs of the population and protect the environment.

Lignocellulosic biomass is the most abundant renewable source of organic carbon and it has a very low cost (Talebna et al., 2010). Lignocellulosic materials can be considered as composed of cellulose fibrils which are held together by a matrix of lignin and hemicellulose. Cellulose is a polymer of D-glucose linked by β -1,4-O-glucoside bonds which is structured into long linear chains (microfibrils), linked by hydrogen bonds and intramolecular van der Waals forces, forming a crystalline structure resistant to hydrolysis and amorphous regions susceptible to enzymatic degradation. Due to these structures, which are difficult to attack, it is necessary to resort to different types of pre-treatments to make the different carbohydrates present in the lignocellulosic material more accessible. Thus, it is necessary to find cheaper and easily recoverable ionic liquids, catalysts and organic solvents, and to carry out the hydrolysis in the presence of an optimal amount of water promote the formation of biofuels such as furfural and HMF.

HMF is considered a key building block in biorefinery, as it is the starting point for the production of 2,5-dimethylfuran, 2,5-diformylfuran, 2,5-furandicarbaldehyde and 2,5-furandicarboxylic acid (Rosatella et al., 2011). HMF and furfural can be obtained from biomass by dissolution (Swatloski et al., 2002), hydrolysis (Tao et al., 2011) or isomerization and dehydration of mono-, di- and polysaccharides, using acid catalysts (Guo et al., 2011) or base catalysts in mild conditions. Nonetheless, HMF production yields are very low and reaction conditions have not yet been fully optimized.

Ionic liquids have been the subject of intense research, and have been used as solvents for the treatment of lignocellulosic biomass and also in chemical synthesis, catalysis, biocatalysis, electrochemical devices and industrial applications. Ionic liquids are a novel class of solvents with low melting points (<100 °C), high liquid temperature,

high polarity, high thermal and chemical stability, non-flammability properties, negligible vapor pressure and good solvating properties (Zavrel et al., 2009).

The aim of this study has been to optimize the conversion of native cellulose and lignocellulosic residues into HMF and furfural in the presence of an ionic liquid. Several eutectic mixtures have been assessed, namely choline chloride:urea, choline chloride:oxalic acid, choline chloride:betaine and tetraethylammonium chloride. In a first stage, different catalysts and organic solvents have been studied in order to find the most suitable eutectic mixture, working with a conventional microwave oven. Subsequently, the optimal dose of water for the production of furfural and HMF has been determined. The impact of different combinations of reaction times and temperatures on the combined HMF + furfural production has then been evaluated, and a kinetic study of the maximum yield has been repeated separately for HMF and furfural, fitting the data to Saeman's model (Saeman, 1945). Finally, the influence of ultrasonic pretreatment of the samples and of the incorporation of stirring to the microwave treatment to increase the furan compounds production has also been studied.

3.3. Materials and methods

3.3.1. Materials

Commercial native cellulose (Merck), carnauba palm (*Copernicia prunifera*) leaves from Ceará (Brazil), macauba palm (*Acrocomia aculeata*) pulp and endocarp from Minas Gerais (Brazil) and European stone pine (*Pinus pinea*) nut shell from Valladolid (Spain) have been selected as lignocellulosic raw materials to be used as substrates. Choline chloride (ChCl), betaine, urea, oxalic acid, tetraethylammonium chloride (TEAC), potassium hydroxide (KOH), sodium hydroxide (NaOH), calcium oxide (CaO), magnesium oxide (MnO), sodium molybdate (Na_2MoO_4), boric acid (H_3BO_3), tungstic acid (H_2WO_4), triethylene glycol (TEG), glycerol carbonate (GC), magnesium carbonate (MgCO_3) and sulfolane were purchased from Panreac. Titanium dioxide (TiO_2 , anatase variety) was supplied by Sigma Aldrich. Halloysite ($\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$) was purchased from Intermark. Sulfonic acid incorporated to an ion-exchange resin was provided by Purolite. 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde 98% (HMF), 2-furfural 98%, glucose, sucrose, xylose and lactose were purchased from Alfa Aesar. Hydrotalcite ($\text{Mg}_6\text{Al}_2\text{CO}_3(\text{OH})_{16}\cdot 4(\text{H}_2\text{O})$) was prepared *in-situ* at the laboratory.

The studied eutectic mixtures were: choline chloride:urea (1:1) (Morrison et al., 2009), choline chloride:oxalic acid (1.5:1) (Biswas et al., 2006), choline chloride:betaine (3:1) and TEAC (Cao et al., 2011). Liquefaction of the eutectic mixtures occurred at 80 °C under stirring in a hot-plate magnetic stirrer for 10 min, in agreement with Biswas et al. (2006).

The lignocellulosic materials were grounded using a Retsch ZM 100 ultra-centrifugal mill and sieved to a particle size <0.250 mm. The heating treatments were carried out in a Milestone Ethos-One microwave oven equipped with a magnetic stirrer system, and a JP Selecta ultrasonic cleaning bath with heating was used for the ultrasonic pretreatment. The UV spectroscopic analysis was conducted in a Hitachi U-2001 spectrophotometer and an Agilent 1200 series HPLC system was used for the chromatographic measurements.

3.3.2. Optimization of the hydrolysis process for HMF and furfural production

In order to optimize the hydrolysis process of native cellulose and aforementioned lignocellulosic materials, various ionic liquids, catalysts, organic solvents, water doses, reaction times and temperatures have been assessed, together with the effect of ultrasonic pretreatment and stirring in the microwave oven (*vs.* the use of a conventional microwave oven, MW).

The first stage involved the selection of the best ionic liquids, organic solvents and catalysts. Native cellulose was chosen as a substrate for these tests, working with a conventional MW system at 170°C for 2 min. The amount of cellulose ranged between 0.18 and 0.20 g, the ionic liquid volume was in the 1.1–1.3 mL range, the amount of catalyst was increased from 0 to 22 mg, H₂O content was studied in the 0–10 mL range and the organic solvent volume was varied from 0.8 to 0.9 mL.

The evaluation of the best water dose in order to optimize HMF and furfural production was conducted both for native cellulose and for the four lignocellulosic waste materials (carnauba leaves, macauba pulp, macauba shell and pine nut shell), using a conventional microwave oven and keeping the temperature constant at 140°C for 30 min. So as to determine the most suitable water dose, different doses were

assessed (1, 2, 3 and 5 mL) in combination with 5 mL of the eutectic mixture (ChCl/ox), 2 mL of sulfolane, 0.02 g of TiO₂ and 0.1 g of substrate.

For the selection of the optimal reaction time and temperature with a view to maximizing the HMF and furfural production, the most favorable reaction medium was kept fixed and different combination of times (5, 15, 30, 45 and 60 min) and temperatures (120, 140, 160, 180 and 200 °C) were studied.

Subsequently, a kinetic study of the hydrolysis reaction was separately conducted for HMF and furfural production as a function of time (5, 15, 30, 45 and 60 min) and temperature (120, 140, 160, 180 and 200 °C), fitting the data to the model proposed by Saeman (1945). This study was performed comparing cellulose and the four lignocellulosic materials, always using a conventional microwave oven and working with the most suitable reaction medium (5 mL of ChCl/ox eutectic mixture, 2 mL of sulfolane, 2 mL of water, 0.02 g of TiO₂ catalyst and 0.1 g of substrate).

Finally, the study was complemented with an evaluation of the impact of ultrasonic pretreatment and stirring on HMF and furfural production. A conventional microwave oven was used as a reference, comparing the results with those obtained resorting only to stirring during the microwave treatment (at 500 rpm) and resorting to a 15 min ultrasonic pretreatment combined with stirring during the microwave treatment. On the basis of the results obtained in previous stages, the most favorable experimental conditions were chosen: 140°C treatment temperature, 30 min reaction time, 0.1 g of substrate, 0.02 g of TiO₂, 5 mL of ChCl/ox eutectic mixture, 2 mL of sulfolane and 2 mL of H₂O.

All determinations were performed in triplicate biological replications, except for the kinetic studies, and all results are in average.

3.3.3. Analytical methods

The determination of furfural and HMF contents was conducted by using two different methods: UV spectroscopy and HPLC. The measurements and analysis by UV spectroscopy were carried out according to the method by (Chi et al., 2009), measuring the absorbance of the sample at 277 nm and at 285 nm, for furfural and HMF, respectively. The HMF and furfural concentrations were calculated using a standard curve obtained with standard substances, with known concentrations of HMF and

furfural. The concentrations of furfural and HMF were also determined with a HPLC spectrophotometer equipped with a UV detector and a Waters ODS-EP C18 reversed-phase column (5 μm , 250 mm \times 4.6 mm). During this process, the column temperature was kept constant at 30°C. The mobile phase was water-acetonitrile 15:85 v/v, at a flow rate of 0.5 mL min⁻¹. The volume of each injection was 10 μL , using acetonitrile as an eluent. The UV detection was conducted at 280 nm for both HMF and furfural (Tao et al., 2011).

The product yields have been calculated from the initial substrate concentration and the resulting concentrations of HMF and furfural, according to Eq. 3.1 and Eq. 3.2, adapted from Ryu et al. (2012):

$$[\text{HMF}] (\%) = \frac{\text{HMF concentration (mg/mL)}}{\text{Initial substrate concentration (mg/mL)}} \times 100 \quad \text{Eq. 3.1}$$

$$[\text{Furfural}] (\%) = \frac{\text{Furfural concentration (mg/mL)}}{\text{Initial substrate concentration (mg/mL)}} \times 100 \quad \text{Eq. 3.2}$$

3.4. Results and discussion

3.4.1. Effect of the ionic liquid, catalyst and organic diluent on the conversion of native cellulose into HMF and furfural

To select the best ionic liquid, organic solvent and catalyst combination, native cellulose was chosen as a representative substrate and a conventional microwave oven was used, conducting the treatment at 170 °C for 2 minutes. Table 3.1 summarizes the behavior of the different eutectic mixtures under study. The best HMF and furfural yields are attained for the ChCl/ox mixture (assays 2, 6 and 10) with values around 32%. These values were lower than the 56% yield obtained by Hu et al. (2009) when operating with the same eutectic mixture at 80 °C using inulin (molecular chains consisting of fructose) as a substrate, but it should be taken into consideration that the reaction time in these experiments was much longer (2 h). Zhang et al. (2014), working also with ChCl/ox mixture, obtained furfural from xylose with a yield of 44%. The oxalic acid present in the eutectic mixture acted as a bifunctional catalyst. The reaction mechanism can be explained by the formation of a transition state or an eight-membered ring (Miljkovic, 2009). Oxalic acid has also been studied for the pretreatment or

hydrolysis of lignocellulosic materials in order to produce ethanol (Lee et al., 2011) and even showed a higher catalytic efficiency than sulfuric acid operating under the same conditions (Lee and Jeffries, 2011).

The ChCl/betaine eutectic mixture led to the second highest HMF and furfural production (17.28%, assay 11) when KOH was used as catalyst, without organic diluents. The ChCl/urea mixture led to very low yields in the conversion of native cellulose (below 2%), and the same happened to TEAC when it operated with basic oxides (assays 4 and 12). On the contrary, the use of acidic oxides acid (such as tungstic acid) with TEAC significantly improved the yield (14.13%) (test 8). This is in agreement with the findings of Cao et al. (2011), who also succeeded in improving the conversion of fructose into HMF using TEAC and an acid catalyst ($\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). A similar behavior was observed for ChCl/betaine ionic liquid, which also had better results when used in combination with sodium molybdate salt (test 3), leading to a 24.76% yield.

ChCl/ox ionic liquid, in the presence of TiO_2 (which is an amphoteric oxide), led to an increase in the HMF and furfural yields. The highest HMF + furfural yield was observed for this combination, with a value of 32.34% (test 2), which indicates that the density of acidic and basic sites is important for the breakdown of cellulose chains and for the dehydration of glucose into HMF, as reported by Siqueira et al. (2013). TiO_2 is known to influence the transformation of glucose into HMF, helping in the isomerization of glucose to fructose (Qi et al., 2011).

Sulfolane was chosen as a solvent in this study because of its polar, aprotic non-volatile character and because it is miscible in water and hydrocarbons. (Kawamoto et al., 2007) also used sulfolane in the pyrolysis of cellulose to produce HMF and furfural, and Caes and Raines (2011) obtained a very high efficiency (>90%) in the conversion of fructose into HMF in mild conditions (100 °C for 1 h) using sulfolane as a diluent.

3. A KINETIC STUDY ON MICROWAVE-ASSISTED CONVERSION OF CELLULOSE AND LIGNOCELLULOSIC WASTE INTO HMF/FURFURAL

Table 3.1. Hydrolysis of native cellulose using different ionic liquids and catalysts. The tests were performed in triplicate, and the standard deviations of triplicate measurements were <5%, except in those cases in which the furan compounds yields were below 2% (in which the standard deviations were higher, up to 8% for test 1).

Test	Cellulose (g)	IL (mL)		Catalyst (mg)		H ₂ O (mL)	Diluent (mL)		HMF (%)	Furfural (%)
1	0.181	ChCl+urea	1.228	boric acid	22.38	9.96	TEG	0.877	0.36	0.35
2	0.185	ChCl+oxalic	1.176	TiO ₂	22.29	8.84	TEG	0.882	22.38	9.96
3	0.191	ChCl+betaine	1.176	Na ₂ MoO ₄	26.71	5.60	TEG	0.882	16.13	8.63
4	0.199	TEAC	1.290	MgO	23.04	4.28	-	-	1.77	2.69
5	0.190	ChCl+urea	1.176	Hydrotalcite	16.13	8.63	GC	0.882	0.87	5.25
6	0.196	ChCl+oxalic	1.290	Halloysite	25.81	3.47	-	-	26.71	5.60
7	0.180	ChCl+betaine	1.176	Ion exchange resin	14.13	3.85	GC	0.882	25.81	3.47
8	0.183	TEAC	1.176	Tungstic acid	1.16	3.93	GC	0.882	14.13	3.85
9	0.190	ChCl+urea	1.176	NaOH	1.77	2.69	Sulf.	0.882	0.23	2.30
10	0.184	ChCl+oxalic	1.176	Ion exchange resin	0.87	5.25	Sulf.	0.882	22.29	8.84
11	0.199	ChCl+betaine	1.290	KOH	0.23	2.30	-	-	23.04	4.28
12	0.189	TEAC	1.176	CaO	0.36	0.35	Sulf.	0.882	1.16	3.93

Consequently, the most suitable starting mixture to be used as a reaction media, when working with a conventional microwave oven, was: ChCl/ox eutectic mixture, 2 mL of sulfolane, 0.02 g of TiO₂ and 0.1 g of substrate.

3.4.2. Effect of water dosage on HMF and furfural production, from native cellulose and lignocellulosic waste

To study the dosage of water, several doses (1, 2, 3 and 5 mL) were assayed in combination with 5 mL of ChCl/ox eutectic mixture, 2 mL of sulfolane, 0.02 g of TiO₂ and 0.1 g of substrate, conducting the treatment in a microwave conventional oven at 140°C for 30 minutes. Native cellulose was taken as a reference, comparing it against the other aforementioned lignocellulosic wastes (carnauba palm leaves, macauba pulp and shell, and pine nut shell).

To determine the influence of water on the dehydration of glucose to HMF it is necessary to know the optimum dose for the reaction. Qi et al. (2009) and Hu et al. (2008), when studying glucose dehydration, found that an increase in the water dosage has a negative effect on the HMF yield. A possible explanation is that the hydrogen bonds of water would be strongly connected to the anions of the ionic liquids, thus reducing their propensity to interact with cellulose. Alternatively, water can also be tightly connected to the hydrogen bonds of cellulose, hindering the coordination of the anions present in the ionic liquids to cellulose (Brandt et al., 2013). On the other hand,

when no water is added to the reaction medium, low HMF production yields are obtained. Therefore, the presence of a small amount of water in the reaction system may promote the process, probably because water increases the solubility of the catalyst (Yuan et al., 2011).

In the assays reported herein (see Figure 3.1), when the dose of water was 1 mL, the HMF and furfural yields were 7.6%, 9.74%, 15.14%, 10.60% and 9.93% for carnauba leaves, macauba shell, macauba pulp, pine nut shell and native cellulose, respectively. Upon increase of the water dose to 2 mL, an increase in the HMF + furfural yield was attained for all lignocellulosic materials except for macauba pulp (for which it was reduced to 11.76%). However, when the water dose was further increased (up to 5 mL), the yield of furan compounds significantly decreased, from 10.23% to 4.08% for carnauba leaves, from 14.99% to 4.94% for macauba shell, from 11.76% to 6.43% for macauba pulp, from 12% to 5.66% for pine nut shell and from 24.53% to 10.25% for native cellulose. This decrease in the yield was associated to the fact that, when the water content was increased, hydration of HMF occurred, resulting in an increase of by-products (e.g., levulinic acid, formic acid, acetic acid...) (Tao et al., 2014).

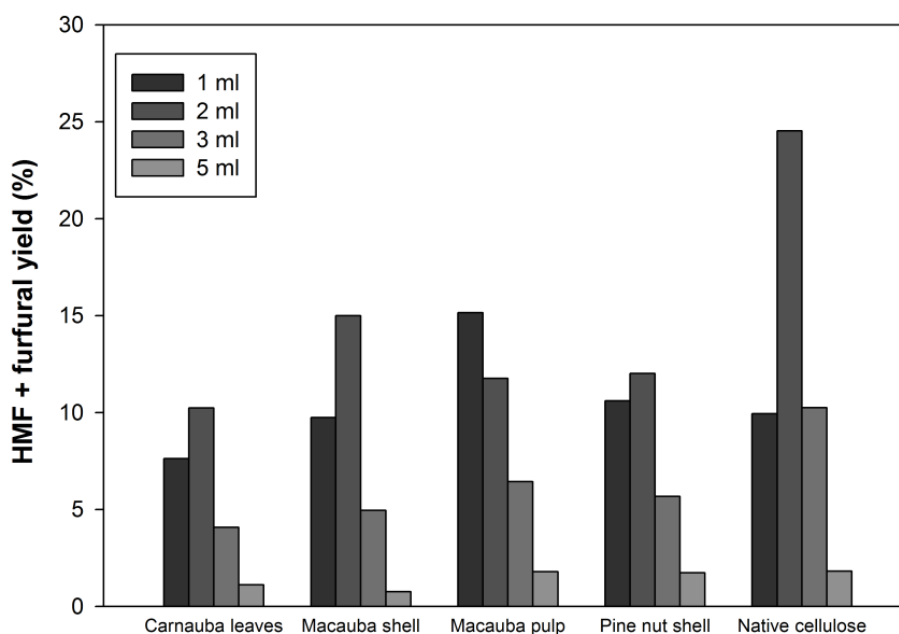


Figure 3.1. HMF + furfural production yields for different water doses (from 1 to 5 mL). Experimental conditions: 0.1 g of substrate, 5 mL of ChCl/ox ionic liquid, microwave treatment at 140 °C for 30 min. The tests were performed in triplicate biological replications, and the standard deviations were <4%.

In the light of these results, the optimal water dose was 2 mL, except for macauba pulp, for which a smaller volume of water (1 mL) improved HMF and furfural production. It can also be concluded that, in the chosen test conditions (0.1 g substrate, 5 mL of ChCl/ox, treatment in a microwave oven at 140 °C for 30 min), the cellulose substrate, with the optimal dose of water (2 mL), was the material that led to the highest furfural + HMF yield (24.53%).

3.4.3. Effect of time and temperature on furan compounds production from native cellulose and lignocellulosic materials

Temperature and time are two crucial parameters that significantly influence the hydrolysis of the lignocellulosic materials. Consequently, their effect was analyzed for each of the five substrates in order to determine the optimal conditions for the combined production of furfural and HMF, assessing the different combinations of five time periods (5, 15, 30, 45 and 60 min) with five temperatures (120, 140, 160, 180 and 200 C).

Two different behaviors may be distinguished (see Figure 3.2): for native cellulose an increase in the production of furfural and HMF was observed as the temperature was increased from 120 to 200 °C, while for lignocellulosic materials the maximum of HMF and furfural production occurred in the 140–160°C range.

A more detailed analysis of lignocellulosic materials behavior shows that the best HMF + furfural yields were attained at low temperatures (140 °C) for 30 min, with yields of 10.01% for carnauba leaves (Figure 3.2a), 15.02% for macauba shell (Figure 3.2b) and 15.94% for macauba pulp (Figure 3.2c), whereas the best yield for pine nut shell occurs at 160 °C for 30 minutes (14.98%, Figure 3.2d). Lignocellulosic materials began to degrade when 200 °C were reached, and various products, such as levulinic acid, acetic acid or formic acid appeared (Tao et al., 2014). Jadhav et al. (2014), when studying the dehydration of fructose in an asymmetric dicationic ionic liquid, reported that HMF production was reduced due to: (i) rehydration of HMF to levulinic acid; (ii) aldol condensation of HMF molecules into soluble polymers; (iii) cross-polymerization between HMF and glucose, forming insoluble humins.

3. A KINETIC STUDY ON MICROWAVE-ASSISTED CONVERSION OF CELLULOSE AND LIGNOCELLULOSIC WASTE INTO HMF/FURFURAL

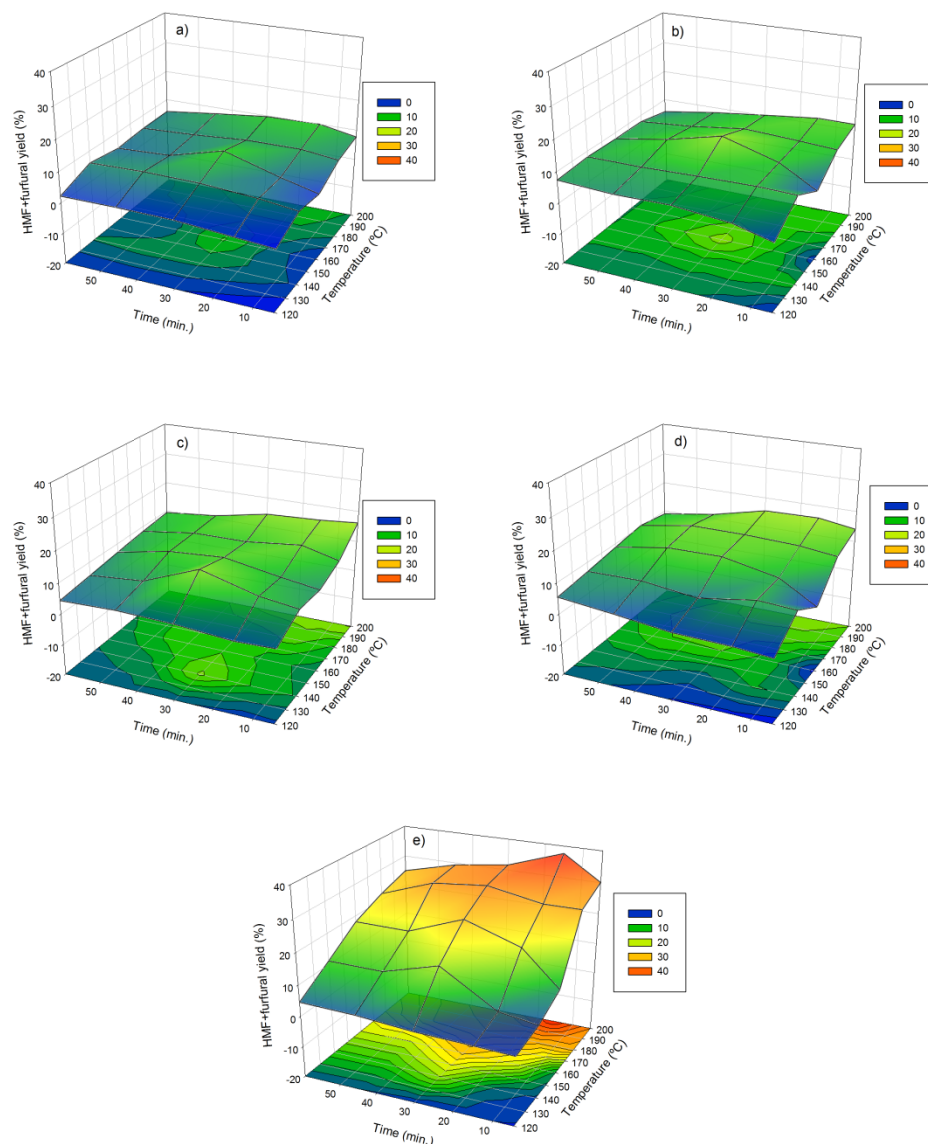


Figure 3.2. Influence of time and temperature on HFM+furfural production yields for: (a) carnauba leaves, (b) macauba shell, (c) macauba pulp, (d) pine nut shell and (e) native cellulose. Experimental conditions: 5 mL of ChCl/ox, 2 mL of water, 20 mg of TiO₂ and 0.1 g of substrate, microwave oven treatment at 140°C for 30 minutes.

The effect of time and temperature on furfural and HMF production for native cellulose is shown in Figure 3.2e. The highest yield (37.70%) was attained at 200 °C for 30 min, which –as noted above – implies that the production of furan compounds increased as the temperature was increased due to the endothermic nature of the dehydration of fructose (Okano et al., 2013). It should also be noted that Qu et al. (2014), when analyzing the conversion of microcrystalline cellulose into HMF in ionic liquids (DMAc/LiCl, i.e., N,N-dimethylacetamide/lithium chloride), obtained a lower yield of 28.63% using mild hydrolysis conditions (132°C during 48 min) in a microwave system.

3.4.4. Kinetic study of the effect of time and temperature on the separate production of furfural and HMF from native cellulose and lignocellulosic materials

A kinetic study was carried out in order to determine the separate HMF and furfural production yields from native cellulose and the four lignocellulosic waste materials. The study was conducted as a function of time (5, 15, 30, 45 and 60 min) and temperature (120, 140, 160, 180 and 200°C), using a conventional microwave oven and previously discussed reaction medium (5 mL of ChCl/ox eutectic mixture, 2 mL of sulfolane, 2 mL of water, 0.02 g of TiO₂ and 0.1g of substrate).

The hydrolysis of lignocellulosic materials is a complex process provided that furfural (pentoses decomposition product), HMF (hexoses decomposition product) and phenolic compounds (decomposition products of lignin) are produced. Consequently, it is necessary to study simplified models so as to determine the reaction kinetics and verify what temperature and time conditions are optimum in terms of the separate production of furfural and HMF. The hydrolysis of the materials under study involved a series of irreversible reactions from the raw material (cellulose chains), to oligosaccharide formation, to HMF/furfural formation and finally to levulinic acid and humic acid. Therefore, the hydrolysis process can be described by two pseudo first order, homogeneous consecutive irreversible reactions, which can be determined from the concentrations of furfural and HMF as a function of time (min) and temperature (°C), and which are shown in the diagrams in Figure 3.3 and Figure 3.4 according to Saeman's model (Saeman, 1945). In this model, the concentrations of HMF (H) and furfural (F) versus time (t) are expressed as follows (Eq. 3.3 and Eq. 3.4).

$$H = H_0 e^{-k_2 t} + H_0 \frac{k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}) \quad \text{Eq. 3.3}$$

$$F = F_0 e^{-k_2 t} + F_0 \frac{k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}) \quad \text{Eq. 3.4}$$

where H is the HMF concentration (g/L), H_0 is the HMF initial concentration (determined by regression, g/L), F is the furfural concentration (g/L), F_0 is the initial furfural concentration (determined by regression, g/L), k_1 is the reaction rate for the

conversion of glucose into HMF/furfural (min^{-1}) and k_2 is the rate of the decomposition reaction of HMF/furfural into 2,5-dimethylfuran (min^{-1}).

3.4.4.1. Kinetic and statistical parameters for HMF

Table 3.2 summarizes the kinetic and statistical parameters for HMF and furfural production from the hydrolysis of cellulose and the four lignocellulosic materials under study. Values of r^2 greater than 0.9 confirm a good fit for the furfural and HMF production, whereas r^2 values below 0.9 should be regarded as unsatisfactory. For example, when HMF production data was fitted with Saeman's model (Eq. 3.3), it may be observed that the hydrolysis into HMF was not feasible ($r^2 < 0.9$) for macauba shell, pine nut shell and native cellulose at temperatures below 140 °C. The values of k_1 and k_2 varied when the temperature was increased, and the k_1 values were systematically higher than those of k_2 , which implies that HMF production was favored over the formation of degradation products, such as levulinic acid and formic acid (Dautzenberg et al., 2011). It may also be noted that, in some cases (carnauba leaves), an increase in the degradation rate of HMF (k_2) occurred when the temperature was increased from 120 to 200 °C. When conducting the hydrolysis of fiber from oil palm empty fruit bunch with sulfuric acid, Chin et al. (2014) also observed such increase in the rate of degradation of HMF (k_2) as the reaction temperature was increased from 120 to 180 °C.

It is also noteworthy that, as the temperature was increased, the initial concentration of HMF (H_0) solution also increased. For native cellulose, the H_0 value increased from 1.008 to 4.163 g/L as the temperature was changed from 120 to 200 °C, due to the great difficulty entailed by the rupture of native cellulose (Guerra-Rodríguez et al., 2012). It can be observed (see Figure 3.3) that the highest HMF production took place at 200 °C: the highest value corresponds to native cellulose (3.622 g/L, Figure 3.3e), followed by macauba pulp (1.365 g/L, Figure 3.3c), pine nut shell (0.973 g/L, Figure 3.3d), carnauba leaves (0.604 g/L, Figure 3.3a) and macauba shell (0.577 g/L, Figure 3.3b).

3. A KINETIC STUDY ON MICROWAVE-ASSISTED CONVERSION OF CELLULOSE AND LIGNOCELLULOSIC WASTE INTO HMF/FURFURAL

Table 3.2. Kinetic parameters for HMF and furfural production from native cellulose and lignocellulosic waste materials

Substrate	T (°C)	HMF				Furfural			
		k_1 (min ⁻¹)	k_2 (min ⁻¹)	H_0 (mg/L)	r^2	k_1 (min ⁻¹)	k_2 (min ⁻¹)	F_0 (mg/L)	r^2
Carnauba leaves	120	0.0216	0.0024	203.27	0.9394	0.0318	0.0056	210.85	0.9713
	140	0.0315	0.0015	233.59	0.9580	0.2326	0.0013	504.89	0.9994
	160	0.0220	0.0219	809.25	0.9555	0.1127	0.0113	533.45	0.9797
	180	0.0827	0.0163	765.61	0.9957	1.0000	0.0093	449.00	0.9975
	200	0.0424	0.0421	1836.48	0.9948	0.5016	0.0134	579.32	0.9926
Macauba shell	120	0.0121	0.0012	112.72	0.9875	0.0810	0.0002	676.45	0.9927
	140	0.0348	0.0117	258.51	0.8289	0.6884	0.0060	925.26	0.9965
	160	0.0216	0.0215	1247.17	0.9879	0.0411	0.0410	1739.18	0.9774
	180	0.0613	0.0159	1118.23	0.9916	0.6467	0.0117	790.07	0.9892
	200	0.1036	0.0214	1133.67	0.9998	1.0000	0.0208	915.22	0.9941
Macauba pulp	120	0.2712	0.0000	305.55	0.9775	0.2729	0.0008	148.20	0.9996
	140	0.0711	0.0398	2606.42	0.9804	1.0000	0.0006	338.43	0.9999
	160	0.0552	0.0241	3527.50	0.9486	0.1010	0.0174	187.50	0.9881
	180	0.2382	0.0093	1314.62	0.9995	1.0000	0.0127	260.50	0.9935
	200	0.4468	0.0111	1625.17	0.9939	0.2381	0.0184	195.94	0.9791
Pine nut shell	120	0.0183	0.0027	115.65	0.9503	0.0076	0.0074	1216.65	0.9503
	140	0.0279	0.0277	367.15	0.8429	0.5962	0.0057	805.51	0.9977
	160	0.0318	0.0149	2337.81	0.9198	0.0515	0.0284	1860.48	0.9380
	180	0.1418	0.0062	979.22	0.9527	0.2831	0.0131	806.45	0.9756
	200	0.1315	0.0190	1695.16	0.9915	0.9722	0.0113	756.58	0.9977
Native cellulose	120	0.0036	0.0000	1008.54	0.9808	0.2670	0.0000	222.36	0.9583
	140	0.0207	0.0206	2901.41	0.8643	0.3249	0.0057	239.92	0.9979
	160	0.0332	0.0326	6030.53	0.9814	0.2154	0.2950	270.21	0.9608
	180	0.4397	0.0046	3062.17	0.9866	0.2085	0.0249	234.58	0.9760
	200	0.2593	0.0089	4162.98	0.9990	1.0000	0.0181	41.74	0.8312

3. A KINETIC STUDY ON MICROWAVE-ASSISTED CONVERSION OF CELLULOSE AND LIGNOCELLULOSIC WASTE INTO HMF/FURFURAL

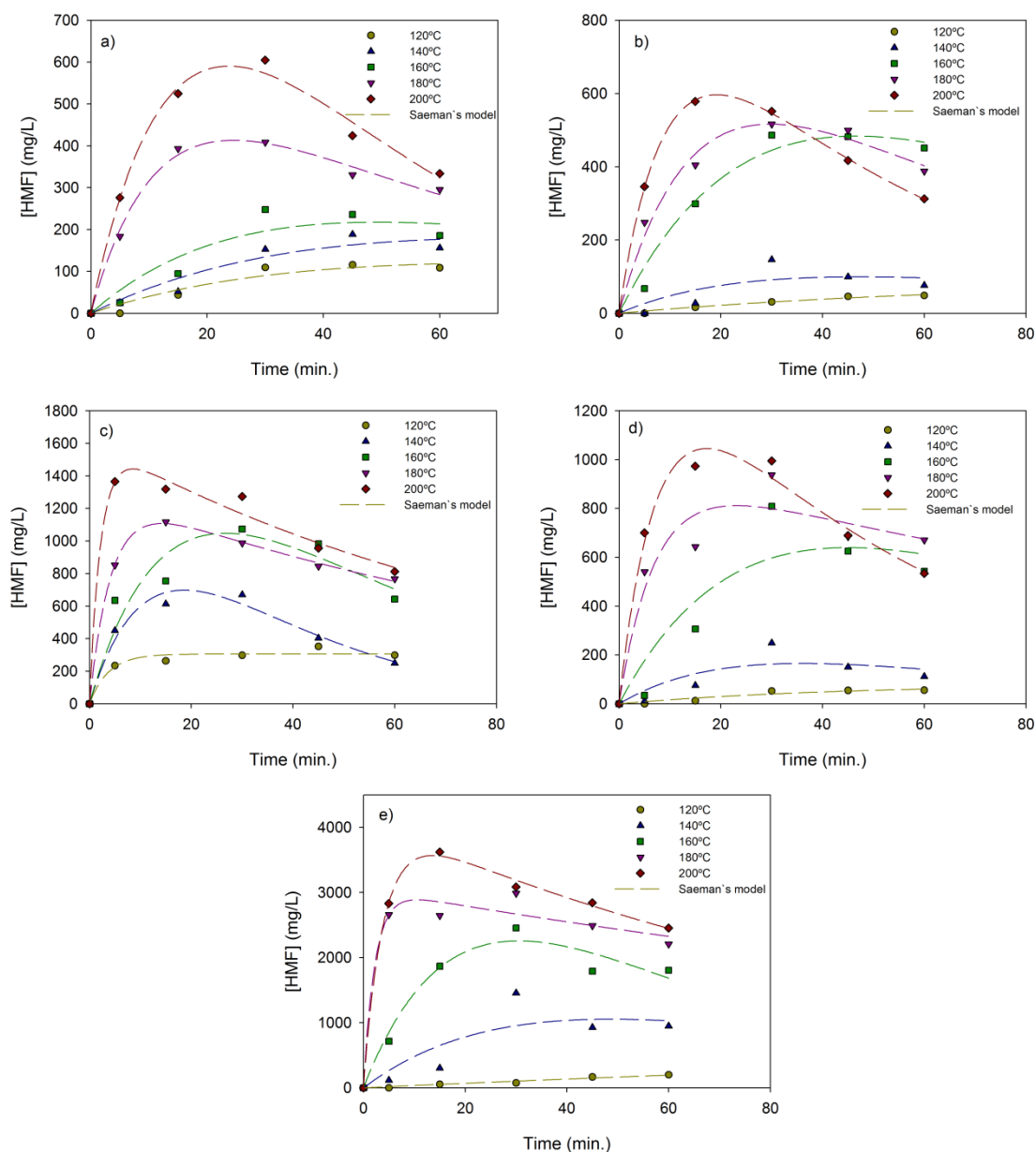


Figure 3.3. HMF production experimental data and fittings to Saeman's model for: (a) carnauba leaves, (b) macauba shell, (c) macauba pulp, (d) pine nut shell and (e) native cellulose.

3.4.4.2. Kinetic and statistical parameters for furfural

Saeman's model shows a good fit for the production of furfural, with r^2 values higher than 0.9 for all tests. The initial concentration of furfural (F_0) for carnauba leaves increases from 0.211 g/L to 0.579 g/L when the temperature is increased from 120 to 200 °C. For the other lignocellulosic waste materials under study, the highest initial furfural concentrations F_0 occur at 140 °C. It is worth noting (see Figure 3.4) that the highest furfural productions were also attained at this temperature (140 °C): the highest value was obtained for macauba shell (0.876 g/L, Figure 3.4b), followed by pine nut

3. A KINETIC STUDY ON MICROWAVE-ASSISTED CONVERSION OF CELLULOSE AND LIGNOCELLULOSIC WASTE INTO HMF/FURFURAL

shell (0.747 g/L, Figure 3.4d), carnauba leaves (0.470 g/L, Figure 3.4a), macauba pulp (0.336 g/L, Figure 3.4c) and native cellulose (0.224 g/L, Figure 3.4e). Furthermore, at this temperature the degradation of furfural was very slow, as it can be corroborated by the low k_2 values (Table 3.2).

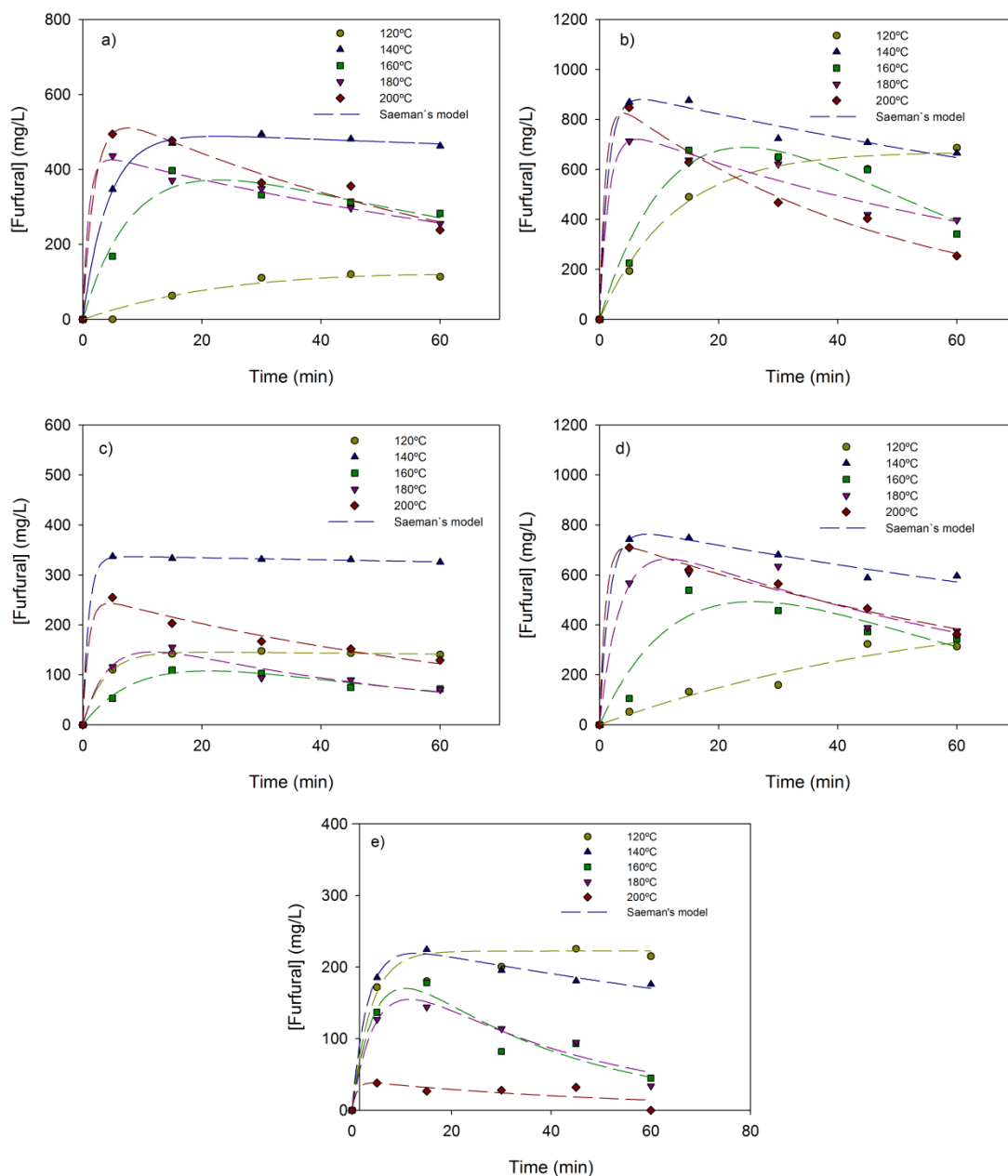


Figure 3.4. Furfural production experimental data and fittings to Saeman's model for: (a) carnauba leaves, (b) macauba shell, (c) macauba pulp, (d) pine nut shell and (e) native cellulose.

According to the kinetic model studied, by analyzing the values obtained for k_1 and k_2 , and the values for F_0 and H_0 , we can conclude that under mild conditions (140 °C for 30 min) the formation of HMF and furfural was optimal and the degradation of these compounds into levulinic acid and formic acid was low.

3.4.5. Changes in the functional parameters of the process: ultrasonic treatment and stirring.

In this section the influence of stirring and ultrasonic pretreatment on HMF and furfural production (Figure 3.5) is studied. On the basis of the results discussed in previous sections, the chosen experimental conditions were: 140 °C, 30 min, 0.1 g of substrate, 0.02 g of TiO₂, 5 mL of ChCl/ox eutectic mixture, 2 mL of sulfolane and 2 mL of H₂O.

When the yields attained using a conventional microwave oven for the hydrolysis treatment (MW) were compared to those obtained using a microwave oven + stirring at 500 rpm (MW stirring), and with those obtained by applying a 15 min pretreatment in an ultrasonic bath followed by microwave heating + stirring (15 U MW stirring), it could be readily confirmed that the yields were significantly increased: 10.23–22.70–27.00% for carnauba laves, 12.00–13.65–25.77% for macauba shell, 14.99–19.78–36.59% for macauba pulp, 11.76–30.24–32.13% for pine nut shell and 24.53–36.70–53.24% for native cellulose (Figure 3.5).

As expected, the use of a microwave oven with stirring positively influenced the production of furan compounds, provided that the stirring made the solution more homogeneous and the substrates were more easily attacked. Jiang et al. (2014), operating at a temperature of 170°C for 30 min and using fructose, reported an increase of HMF yield from 55.0% to 81.7% by resorting to stirring. This dramatic improvement was attributed to the great influence of stirring on the availability of water for fructose dehydration and rehydration of HMF (Jiang et al., 2014).

The HMF + furfural production yields were further enhanced when the microwave heating + stirring was preceded by an ultrasonic pretreatment (15 MW stirring), in particular for native cellulose, for which it increased from 24.53% to 53.24%. This can be explained by the fact that the ultrasonic bath significantly reduced the size of the microcrystalline cellulose and made it more accessible for its ulterior conversion to HMF (Toma et al., 2001). Moreover, the combination of (ultrasonic treatment + microwaves) in chemical processes is known to increase the reaction rate, improve yields and reduce energy costs (Ajavakom et al., 2012), facilitating lignin and hemicellulose separation from the lignocellulosic matrix, and promoting glucose (cellulose) and xylose (hemicellulose) conversion into HMF and furfural (Sun and

Tomkinson, 2002). Nakayama and Imai (2013) also demonstrated that ultrasonic technology, when used as a pretreatment for the enzymatic hydrolysis of cellulose, also facilitates its conversion to glucose.

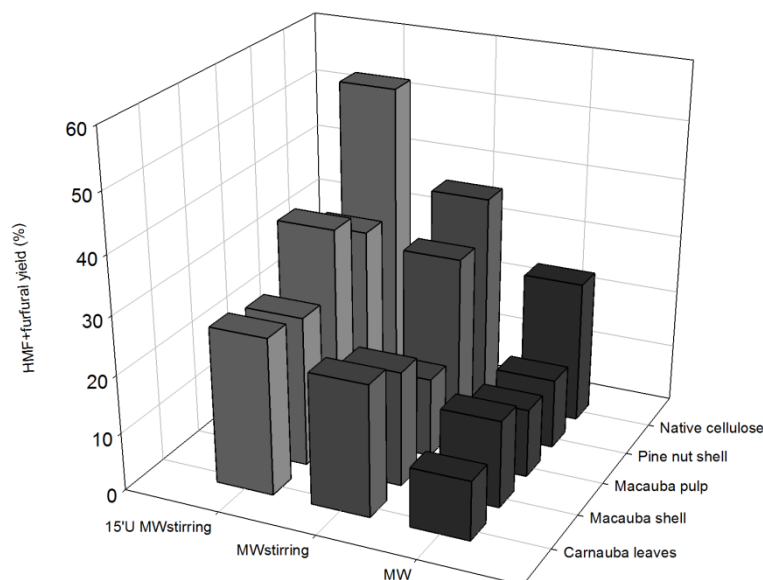


Figure 3.5. Influence of ultrasonic pretreatment and stirring on HMF and furfural production, where MW stands for conventional microwave oven, MWstirring corresponds to microwave with stirring, and 15' U MW stirring refers to 15 minutes of ultrasonic pretreatment + microwave with stirring. Experimental conditions: 140°C, 30 min, 0.1 g of substrate, 0.02 g of TiO₂, 5 mL of ChCl/ox eutectic mixture, 2 mL of sulfolane and 2 mL of H₂O. The tests were performed in triplicate, and the standard deviations were <3.5%.

3.5. Conclusion

It can be concluded that the choline chloride/oxalic acid eutectic mixture, followed by ChCl/betaine, is the most favorable IL. From the kinetic studies conducted for the separate production of HMF and furfural for the different substrates under study, it can be inferred that the highest HMF production yields are obtained at 200°C, whereas the highest furfural productions occur at 140°C. Finally, when stirring is combined with the microwave treatment, and when an additional 15 min ultrasonic pretreatment is also conducted, the HMF+furfural production yields are dramatically increased (vs. regular microwave treatment without stirring).

3.6. Acknowledgements

This work was supported by funds from Junta de Castilla y León under project VA036A12-2. Viviane da Silva would like to thank Universidad de Valladolid for its financial support (“Programa de Formación del Personal Investigador” PhD scholarship).

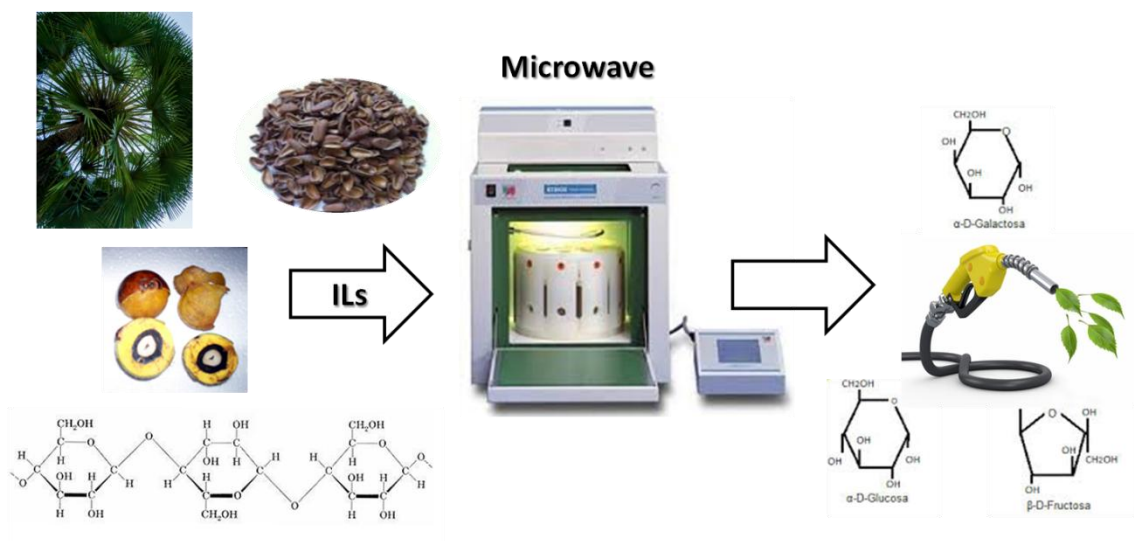
3.7. References

- Ajavakom, A., Supsvetson, S., Somboot, A., and Sukwattanasinitt, M. (2012). Products from microwave and ultrasonic wave assisted acid hydrolysis of chitin. *Carbohydrate polymers* **90**, 73-77.
- Biswas, A., Shogren, R., Stevenson, D., Willett, J., and Bhowmik, P. K. (2006). Ionic liquids as solvents for biopolymers: Acylation of starch and zein protein. *Carbohydrate Polymers* **66**, 546-550.
- Brandt, A., Gräsvik, J., Hallett, J. P., and Welton, T. (2013). Deconstruction of lignocellulosic biomass with ionic liquids. *Green chemistry* **15**, 550-583.
- Caes, B. R., and Raines, R. T. (2011). Conversion of Fructose into 5-(Hydroxymethyl) furfural in Sulfolane. *ChemSusChem* **4**, 353-356.
- Cao, Q., Guo, X., Guan, J., Mu, X., and Zhang, D. (2011). A process for efficient conversion of fructose into 5-hydroxymethylfurfural in ammonium salts. *Applied Catalysis A: General* **403**, 98-103.
- Chi, C., Zhang, Z., Chang, H.-m., and Jameel, H. (2009). Determination of Furfural and Hydroxymethylfurfural Formed From Biomass Under Acidic Conditions. *Journal of Wood Chemistry and Technology* **29**, 265-276.
- Chin, S. X., Chia, C. H., Fang, Z., Zakaria, S., Li, X. K., and Zhang, F. (2014). A Kinetic Study on Acid Hydrolysis of Oil Palm Empty Fruit Bunch Fibers Using a Microwave Reactor System. *Energy and Fuels* **28**, 2589-2597.
- Dautzenberg, G., Gerhardt, M., and Kamm, B. (2011). Bio based fuels and fuel additives from lignocellulose feedstock via the production of levulinic acid and furfural. *Holzforschung* **65**, 439-451.

- Guerra-Rodríguez, E., Portilla-Rivera, O. M., Jarquín-Enríquez, L., Ramírez, J. A., and Vázquez, M. (2012). Acid hydrolysis of wheat straw: a kinetic study. *Biomass and bioenergy* **36**, 346-355.
- Guo, F., Fang, Z., Tian, X.-F., Long, Y.-D., and Jiang, L.-Q. (2011). One-step production of biodiesel from *Jatropha* oil with high-acid value in ionic liquids. *Bioresource Technology* **102**, 6469-6472.
- Hu, S., Zhang, Z., Zhou, Y., Han, B., Fan, H., Li, W., Song, J., and Xie, Y. (2008). Conversion of fructose to 5-hydroxymethylfurfural using ionic liquids prepared from renewable materials. *Green Chemistry* **10**, 1280-1283.
- Hu, S., Zhang, Z., Zhou, Y., Song, J., Fan, H., and Han, B. (2009). Direct conversion of inulin to 5-hydroxymethylfurfural in biorenewable ionic liquids. *Green Chemistry* **11**, 873-877.
- Jadhav, A. H., Chinnappan, A., Patil, R. H., Kostjuk, S. V., and Kim, H. (2014). Green chemical conversion of fructose into 5-hydroxymethylfurfural (HMF) using unsymmetrical dicationic ionic liquids under mild reaction condition. *Chemical Engineering Journal* **243**, 92-98.
- Jiang, N., Qi, W., Huang, R., Wang, M., Su, R., and He, Z. (2014). Production enhancement of 5-hydroxymethyl furfural from fructose via mechanical stirring control and high-fructose solution addition. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* **89**, 56-64.
- Kawamoto, H., Horigoshi, S., and Saka, S. (2007). Pyrolysis reactions of various lignin model dimers. *Journal of wood science* **53**, 168-174.
- Lee, J.-W., Houtman, C. J., Kim, H.-Y., Choi, I.-G., and Jeffries, T. W. (2011). Scale-up study of oxalic acid pretreatment of agricultural lignocellulosic biomass for the production of bioethanol. *Bioresource Technology* **102**, 7451-7456.
- Lee, J.-W., and Jeffries, T. W. (2011). Efficiencies of acid catalysts in the hydrolysis of lignocellulosic biomass over a range of combined severity factors. *Bioresource Technology* **102**, 5884-5890.
- Miljkovic, M. (2009). "Carbohydrates: synthesis, mechanisms, and stereoelectronic effects," Springer.
- Morrison, H. G., Sun, C. C., and Neervannan, S. (2009). Characterization of thermal behavior of deep eutectic solvents and their potential as drug solubilization vehicles. *International journal of pharmaceutics* **378**, 136-139.

- Nakayama, R.-i., and Imai, M. (2013). Promising ultrasonic irradiation pretreatment for enzymatic hydrolysis of Kenaf. *Journal of Environmental Chemical Engineering* **1**, 1131-1136.
- Okano, T., Qiao, K., Bao, Q., Tomida, D., Hagiwara, H., and Yokoyama, C. (2013). Dehydration of fructose to 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in an aqueous acetonitrile biphasic system in the presence of acidic ionic liquids. *Applied Catalysis A: General* **451**, 1-5.
- Qi, X., Guo, H., and Li, L. (2011). Efficient conversion of fructose to 5-hydroxymethylfurfural catalyzed by sulfated zirconia in ionic liquids. *Industrial & Engineering Chemistry Research* **50**, 7985-7989.
- Qi, X., Watanabe, M., Aida, T. M., and Smith, R. L. (2009). Efficient Catalytic Conversion of Fructose into 5-Hydroxymethylfurfural in Ionic Liquids at Room Temperature. *ChemSusChem* **2**, 944-946.
- Qu, Y., Wei, Q., Li, H., Oleskowicz-Popiel, P., Huang, C., and Xu, J. (2014). Microwave-assisted conversion of microcrystalline cellulose to 5-hydroxymethylfurfural catalyzed by ionic liquids. *Bioresource Technology* **162**, 358-364.
- Rosatella, A. A., Simeonov, S. P., Frade, R. F., and Afonso, C. A. (2011). 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) as a building block platform: Biological properties, synthesis and synthetic applications. *Green Chem.* **13**, 754-793.
- Ryu, J., Choi, J.-W., Suh, D. J., Ahn, D. J., and Suh, Y.-W. (2012). Dual catalytic function of 1,3-dialkylimidazolium halide ionic liquid on the dehydration of fructose to 5-hydroxymethylfurfural. *Catalysis Communications* **24**, 11-15.
- Saeman, J. F. (1945). Kinetics of wood saccharification-hydrolysis of cellulose and decomposition of sugars in dilute acid at high temperature. *Industrial and Engineering Chemistry* **37**, 43-52.
- Siqueira, B., Silva, M., and Moraes, C. (2013). Synthesis of HMF from glucose in aqueous medium using niobium and titanium oxides. *Brazilian Journal of Petroleum and Gas* **7**.
- Sun, R., and Tomkinson, J. (2002). Comparative study of lignins isolated by alkali and ultrasound-assisted alkali extractions from wheat straw. *Ultrasonics Sonochemistry* **9**, 85-93.

- Swatloski, R. P., Spear, S. K., Holbrey, J. D., and Rogers, R. D. (2002). Dissolution of Cellulose with Ionic Liquids. *Journal of the American Chemical Society* **124**, 4974-4975.
- Talebna, F., Karakashev, D., and Angelidaki, I. (2010). Production of bioethanol from wheat straw: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation. *Bioresource Technology* **101**, 4744-4753.
- Tao, F.-R., Zhuang, C., Cui, Y.-Z., and Xu, J. (2014). Dehydration of glucose into 5-hydroxymethylfurfural in SO₃H-functionalized ionic liquids. *Chinese Chemical Letters* **25**, 757-761.
- Tao, F., Song, H., and Chou, L. (2011). Catalytic conversion of cellulose to chemicals in ionic liquid. *Carbohydrate Research* **346**, 58-63.
- Toma, M., Vinatoru, M., Paniwnyk, L., and Mason, T. J. (2001). Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. *Ultrasonics Sonochemistry* **8**, 137-142.
- Yuan, Z., Xu, C., Cheng, S., and Leitch, M. (2011). Catalytic conversion of glucose to 5-hydroxymethyl furfural using inexpensive co-catalysts and solvents. *Carbohydrate Research* **346**, 2019-2023.
- Zavrel, M., Bross, D., Funke, M., Büchs, J., and Spiess, A. C. (2009). High-throughput screening for ionic liquids dissolving (ligno-) cellulose. *Bioresource Technology* **100**, 2580-2587.
- Zhang, L.-X., Yu, H., Yu, H.-B., Chen, Z., and Yang, L. (2014). Conversion of xylose and xylan into furfural in biorenewable choline chloride–oxalic acid deep eutectic solvent with the addition of metal chloride. *Chinese Chemical Letters* **25**, 1132-1136.



4. EFFICIENT MICROWAVE-ASSISTED ACID HYDROLYSIS OF LIGNOCELLULOSIC MATERIALS INTO TOTAL REDUCING SUGARS IN IONIC LIQUIDS

Efficient microwave-assisted acid hydrolysis of lignocellulosic materials into total reducing sugars in ionic liquids

Viviane da Silva Lacerda¹, Juan Benito López Sotelo¹, Adriana Correa-Guimarães¹, Pablo Martín-Ramos², Salvador Hernández-Navarro¹, Mercedes Sánchez-Bascones¹, Luis M. Navas-Gracia¹, Eduardo Pérez-Lebeña¹ and Jesús Martín-Gil^{1,*}

¹ Agricultural and Forestry Engineering Department, ETSIIAA, Universidad de Valladolid, Avenida de Madrid 44, 34004 Palencia, Spain.

² Department of Agricultural and Environmental Sciences, Higher Polytechnic School of Huesca, Universidad de Zaragoza, Carretera de Cuarte s/n, 22071, Huesca, Spain

* Corresponding author: jesusmartingil@gmail.com, +34 (979) 108347

(Aceptado el 30-03-2015 en Cellulose Chemistry and Technology. Article Type: Original research paper)

4.1. Abstract

Different types of lignocellulosic materials (carnauba leaves, macauba shell and pine nut shell) and native cellulose have been studied for the production of total reducing sugars (TRS) through microwave-assisted acid-catalyzed hydrolysis in ionic liquids (ILs). Four reaction media have been assessed: two deep eutectic solvents (DES), choline chloride-oxalic acid (ChCl/ox) and choline chloride-urea (ChCl/urea), and two conventional ionic liquids, tetraethylammonium chloride (TEAC) and tetraethylammonium bromide (TEAB). Five acids (H₂SO₄, HCl, HNO₃, H₃PO₄ and *p*-toluenesulfonic acid) have been evaluated in varying concentrations (5-30%) and time intervals (0-60 min), at different temperatures (100-140°C). Significant TRS production yields (as high as 83.7% in ChCl/ox for carnauba leaves) have been attained for both DES in combination with HNO₃ 10%, at 120°C for 30 min, with the additional advantage of low furfural and HMF by-products generation.

Keywords: Acid hydrolysis; deep eutectic solvents; lignocellulosic materials; microwave; total reducing sugars.

4.2. Introduction

Lignocellulosic biomass is a complex biopolymer that is primarily composed of cellulose, hemicellulose, and lignin: it consists of cellulose fibrils which are kept together by a matrix of lignin and hemicellulose (Jayaraman, 2003), which provides mechanical protection and acts as a natural barrier against microbial degradation. The study of lignocellulosic materials as a source for liquid fuels has gained importance in recent years due to the need to find an environmentally sustainable source that can replace fossil fuels. Aforementioned carbohydrates, present in high amounts in lignocellulosic biomass (Bogleter, 1994), are susceptible of conversion into soluble sugars, either in a direct manner through acidic hydrolysis or indirectly by a two-step process involving pre-treatment and enzymatic hydrolysis (Binder and Raines, 2010a, b).

The hydrolysis process of lignocellulosic materials for sugar production is particularly challenging, given the number of factors that can influence it. While the inherent properties of the substrate (namely neutralization capacity, ratio between easily hydrolysable hemicellulose and cellulose, degree of polymerization of cellulose, configuration of the cellulose chains, and how cellulose is associated with other polymeric structures (lignin, pectin, hemicellulose, proteins, etc.)) can be regarded as immutable, it is necessary to finely tune other parameters in order to improve the hydrolysis efficiency. The dependence on the type and concentration of the acid, the liquid to solid ratio, the reaction time and temperature, the diluent and the type of reactor, for example, are amongst the most significant ones (Taherzadeh and Karimi, 2007).

Cellulose is composed of two glucose molecules linked by 1,4- β -glucosidic bonds. Due to these bonds, there is a strong tendency to form crystals, which are completely insoluble in water and in most organic solvents. (Araujo et al., 2008). Several studies have shown that the dissolution of lignocellulosic biomass using ionic liquids promotes rupture, releasing carbohydrates. (Dee and Bell, 2011). Ionic liquids are solvents with low melting points, wide range of fluid temperature, high polarity, high thermal and chemical stability, non-flammability, negligible vapor pressure and good solvation properties (Hayes, 2009; Zavrel et al., 2009). Several of these ionic liquids have been studied in the literature, confirming their positive effect on the pretreatment of

lignocellulosic biomass such as bagasse (Rodríguez-Chong et al., 2004), wood (Wijaya et al., 2014), or olive kernels (Saleh et al., 2014).

The aim of this research is to determine the best conditions for the hydrolysis of The aim of this research is to determine the best conditions for the hydrolysis of different lignocellulosic waste materials and to compare the results with those obtained for native cellulose. In this study three agricultural products have been assayed for the production of total reducing sugars: carnauba leaves, a by-product of carnauba wax extraction; macauba shell, a by-product of oil extraction for biofuels; and pine nut shell, which is used for the production of biogas (da Silva Lacerda et al., 2015a; da Silva Lacerda et al., 2015b). Tests have been conducted to assess the suitability of diverse ionic liquids as reaction media and the effect of the different acids, concentrations, reaction times and temperature choices on the efficiency of the microwave-assisted hydrolysis. The kinetics of hydrolysis process have also been studied, so as to explain the variations in TRS production versus time.

4.3. Material and methods

4.3.1. Raw materials and reagents

Carnauba palm leaves (*Copernicia prunifera*) from Ceará (Brazil), macauba palm endocarp (*Acrocomia aculeata*) from Minas Gerais (Brazil) and European stone pine nut shell (*Pinus pinea*) from Valladolid (Spain) were used as lignocellulosic raw materials. Commercial native cellulose (Merck) was used for comparison purposes. Choline chloride (ChCl), urea, oxalic acid, tetraethylammonium chloride (TEAC), tetraethylammonium bromide (TEAB), H₂SO₄ 98%, HCl 34%, HNO₃ 50%, H₃PO₄ 65%, *p*-toluenesulfonic acid 98% (TsOH) and glucose were purchased from Panreac. Titanium dioxide (TiO₂, anatase variety) was supplied by Sigma Aldrich. 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde 98% (HMF) and 2-furfural 98% were purchased from Alfa Aesar. Choline/chloride:urea (1:1)(Morrison et al., 2009) and choline chloride/oxalic acid (1.5:1)(Biswas et al., 2006) were used as DES. The lignocellulosic materials were grounded using a Retsch ZM 100 ultra centrifugal mill and sieved to a particle size <0.250 mm.

4.3.2. Characterization of the raw lignocellulosic waste

The insoluble lignin content was calculated according to ANSI/ASTM standard (ANASI and ASTM, 1977). Holocellulose (hemicellulose+cellulose) was obtained after delignification of the sample and its content was determined using the technique described by Browning (Browning, 1967). Cellulose was determined according to ANSI/ASTM procedure (ANSI and ASTM, 1977). Hemicellulose content was calculated by subtraction of cellulose content to that of holocellulose.

The different biomass waste materials were characterized by X-ray powder diffraction (XRD) in a Bruker D8 Advance Bragg Brentano diffractometer, in reflection geometry. Fourier transform infrared (FTIR) spectra were registered with a Thermo Nicolet 380 FT-IR apparatus equipped with a Smart Orbit Diamond ATR system. The biomass crystallinity index (CrI) was calculated using to the peak intensity method (Segal et al., 1959).

4.3.3. Microwave-assisted acid-catalyzed hydrolysis procedure

The acid-catalyzed hydrolysis was carried out in a Milestone Ethos-One microwave. 100 mg of substrate, 20 mg of catalyst (TiO_2), 5 mL of DES/IL and 5 mL of acid were mixed in a 10 mL reaction vessel. The mixture was heated under microwave radiation for 30 minutes and, subsequently, it was rapidly cooled down to room temperature (RT).

To assess the effect of the acid choice, five acids (H_2SO_4 (5%), HCl (6%), HNO_3 (10%), H_3PO_4 (10%) and TsOH (5%) were used, using ChCl/urea DES as a reaction medium and keeping concentration, temperature and reaction time constant. Upon selection of the most suitable acid, the acid concentration effect on the hydrolysis was studied by varying the concentration in the 5-15% range, under the same conditions mentioned above. To study the impact of the different DES/ILs, ChCl/Ox, ChCl/Urea, TEAC and TEAB were used, in combination with HNO_3 at temperatures in the 100-120°C range. The effect of temperature was studied at 120°C, 130°C and 140°C for the best combination of previously studied parameters, varying the reaction time from 5 to 60 min. Finally, for the most efficient combination, the hydrolysis kinetic process was fitted with Saeman's (1945) model (Saeman, 1945).

All determinations were performed in triplicate biological replicates and all reported results are in average. A one-way ANOVA was conducted, and Tukey grouping (Tukey's HSD test for an alpha value of 0.05) was used to notice the significance for comparisons among the means.

4.3.4. Analysis

The total amount of reducing carbohydrates was determined using the standard DNS procedure proposed by Miller (Miller, 1959). The DNS reagent was prepared according to IUPAC procedure: 1.0 mL of carbohydrate solution was added to 3.0 mL of DNS reagent, at 100°C for 10 min. Upon cooling, the concentration was measured using a Hitachi U-2001 spectrophotometer at 490 nm, with distilled water as a blank. Glucose was used for the calibration curves. The TRS yield was obtained with the following equation (Eq. 4.1):

$$[\text{TRS}] = \frac{\text{Concentration of TRS (g} \cdot \text{L}^{-1})}{\text{Initial biomass concentration (g} \cdot \text{L}^{-1})} \times 100 \quad \text{Eq. 4.1}$$

The determination of furfural and HMF contents was conducted according to the method by Chi et al. (2009), measuring the absorbance of the samples at 277 nm and at 285 nm, for furfural and HMF, respectively. The concentrations of furfural and HMF were also determined with a HPLC spectrophotometer equipped with a UV detector and a Waters ODS-EP C18 reversed-phase column (5 μm , 250 mm \times 4.6 mm). During this process, the column temperature was kept constant at 30°C. The mobile phase was water-acetonitrile 15:85 v/v, at a flow rate of 0.5 mL min⁻¹. The volume of each injection was 10 mL, using acetonitrile as an eluent. The UV detection was conducted at 280 nm for both HMF and furfural.

4.4. Results and discussion

4.4.1. Characterization of the raw lignocellulosic biomass

The raw lignocellulosic materials were analyzed according to their content of cellulose, hemicellulose and lignin, and their crystallinity indexes. The CrI of the different lignocellulosic materials was measured by two different techniques, XRD and

FTIR (Figure 4.1). The results for the analysis of components and crystalline index are summarized in Table 4.1.7.

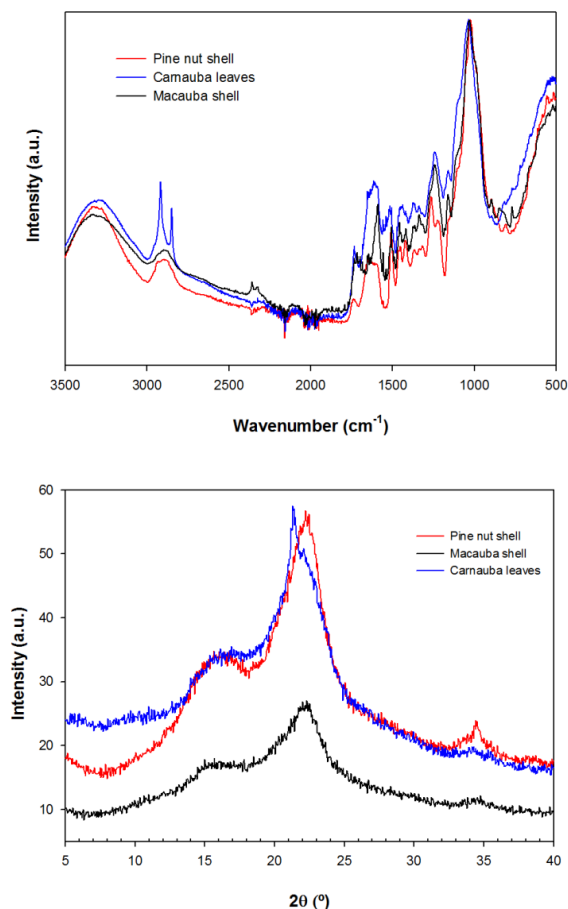


Figure 4.1. FTIR spectra (*top*) and XRD patterns (*bottom*) for the lignocellulosic materials under study.

As expected, while carnauba leaves presented higher values of cellulose and hemicellulose than of lignin, macauba and pine nut shell were characterized by their higher lignin content.

With regard to the crystallinity of the bulk materials, the CrI-XRD was determined by the ratio of the maximum intensity at 22.5° and the minimum intensity corresponding to the amorphous area at 18° in the powder diffractograms. The CrI-XRD values (Table 4.1), indicated that carnauba leaves were the most amorphous material (34.36%) and thus the easiest to attack, while macauba and pine nut shell showed higher crystallinity indexes (42.26 and 42.00%, respectively). Consequently, we could infer that the lower content of cellulose of these later two was actually more crystalline than that of carnauba leaves.

4. EFFICIENT MICROWAVE-ASSISTED ACID HYDROLYSIS OF LIGNOCELLULOSIC MATERIALS INTO TOTAL REDUCING SUGARS IN IONIC LIQUIDS

Table 4.1. Components and crystallinity index for the lignocellulosic materials under study.

<i>Properties</i>	<i>Carnauba leaves</i>	<i>Macauba shell</i>	<i>Pine nut shell</i>
<i>Components analysis</i>			
Cellulose (%)	33.9-41.1	27.6-31.8	29.5-32.4
Hemicellulose (%)	28.5-30.7	26.8-32.3	28.5-30.3
Lignin (%)	10.6-15.3	33.5-36.7	37.6-40.1
<i>Crystallinity index (from XRD data)</i>			
CrI-XRD (%)	34.36	42.26	42.00
<i>Crystallinity index (from FTIR data)</i>			
LOI	1.037	0.790	0.728
HBI	1.002	1.008	1.196

TCI: total crystalline index; LOI: lateral order index; HBI: hydrogen bond intensity.

In order to gain further insight on the specific degree of crystallinity of cellulose, useful information can also be obtained from FTIR data. Since the band at 1430 cm^{-1} is associated with the amount of crystalline structure of cellulose and the band at 898 cm^{-1} is assigned to the amorphous region of cellulose, their ratio -the lateral order index (LOI)- is indicative of the manner in which cellulose is arranged in the biomass. It should be noted that carnauba leaves had the highest associated LOI value (Table 4.1), which would imply that their cellulose content is more ordered than those of macauba and pine nut shell. Nevertheless, this apparent contradiction may be in fact related to the ATR technique, which –in spite of the automatic correction conducted with OMNIC® software- introduces distortion of the relative intensities of bands (Nunn and Nishikida, 2008), and the CrI-XRD should be regarded as more reliable.

On the other hand, the ratio of the absorbance bands at 3400 and 1320 cm^{-1} can be used to study samples of cellulose according to the *hydrogen bond strength* (HBI), provided that the band at 3400 cm^{-1} is due to OH vibrations (Dorado et al., 2001) and the band at 1320 cm^{-1} is associated to symmetrical C-H deformation modes in cellulose (Theerarattananoon et al., 2010). The HBI is closely related with the crystal system and the degree of intermolecular regularity, which in this case was higher for pine nut shell than for the other two samples.

4.4.2. Assessment of the effect of type of acid

The effect of the type of acid on the microwave-assisted hydrolysis of native cellulose, carnauba leaves, macauba shell and pine nut shell was investigated, due to its importance as a catalyst for the reaction (Behera et al., 2014). Five acids were assayed, namely nitric, sulfuric, phosphoric, hydrochloric and *p*-toluensulfonic acid. According to Table 4.2, it could easily be concluded that all acids promoted the formation of

4. EFFICIENT MICROWAVE-ASSISTED ACID HYDROLYSIS OF LIGNOCELLULOSIC MATERIALS INTO TOTAL REDUCING SUGARS IN IONIC LIQUIDS

reducing sugars, being HNO₃ 10% the one which the highest associated TRS yields for all the lignocellulosic materials under study. However, in the case of native cellulose, increased production of sugars was obtained when using H₃PO₄ 10%, in agreement with Li and Zhao (2007), who attained higher TRS yields for H₃PO₄ (54%) acid when compared to HNO₃ (50%), using cellulose as a substrate and 1-butyl-3-methylimidazolium chloride as the reaction medium. Nevertheless, it is worth noticing that the hydrolysis with H₃PO₄ led to the isomerization of glucose to fructose, and thus generated the highest HMF and furfural concentrations (ranging from 45.59 to 73.28 mg·L⁻¹) of all the acids under study. HMF and furfural are not desirable by-products, provided that they affect the fermentation process, which is the following step in bioethanol production.

Table 4.2. Total reducing sugars (TRS) (%) and HMF/Furfural (HMF+Furf) (mg·L⁻¹) yields attained by microwave-assisted acid-catalyzed hydrolysis (120°C, 30 min, ChCl/urea reaction medium)

Acids	<i>Carnauba leaves</i>		<i>Macauba shell</i>		<i>Pine nut shell</i>		<i>Native cellulose</i>	
	TRS	HMF+Furf	TRS	HMF+Furf	TRS	HMF+Furf	TRS	HMF+Furf
HNO ₃ 10%	62.9	0.00	48.3	5.66	59.9	0.00	63.6	72.80
H ₃ PO ₄ 10%	45.2	66.36	40.3	73.28	53.0	45.59	65.8	52.33
HCl 6%	38.2	2.80	39.6	3.39	33.7	0.42	37.7	15.39
H ₂ SO ₄ 5%	42.9	8.02	34.9	20.11	27.3	0.00	52.5	34.06
TsOH 5%	53.3	77.18	41.5	49.76	32.0	0.00	31.6	0.00

Conversely, when the hydrolysis was catalyzed by HNO₃ acid, the formation of fermentation inhibitors (HMF and furfural) was very low (Table 4.2), a behavior has also been reported by Kim et al. (2014). This spares an additional detoxification step aimed at eliminating these by-products. Furthermore, the use of HNO₃ serves as a nitrogen source for the fermentation of yeast (Laopaiboon et al., 2009).

When HCl 6% was assayed as a catalyst, TRS values were very low, ranging from 29.7 to 39.6% (2.97 to 3.96 g·L⁻¹), with slightly better results for macauba shell. These values differ from those reported for *Chlorella* algae biomass by Zhou et al. (2011), who obtained yields of 90% for hydrolysis conducted at 105°C for 3 hours using HCl (7%).

H₂SO₄ 5% acid, which is widely used as a hydrolysis catalyst, shows intermediate TRS production values, ranging from 27.3 to 52.5% (2.73 to 5.25 g·L⁻¹). These results are lower than those reported by Saleh et al. (2014), who obtained a TRS yield of 89.70% at 195°C for 5 min, in the particular case of olive kernels. Slightly higher yields (58%) than those reported herein were also attained by Yunus et al. (2010). for empty

fruit bunch by using an ultrasound pretreatment and conducting the hydrolysis at 140°C for 200 min.

With regard to TsOH 5%, it promotes the formation of TRS with yields ranging from 31.6 to 53.3% (3.16 to 5.33 g·L⁻¹), but also promotes the formation of undesirable products (HMF and furfural) for carnauba leaves and macauba shell (77.18 and 49.76 mg·L⁻¹, respectively). These values are slightly higher than those reported by Amarasekara and Wiredu (2011), who obtained a 32.6% yield for cellulose, at 170°C for 3 hours. The same authors also concluded that TsOH has better yields than H₂SO₄ (32.6% and 22.0%, respectively), a behavior that is corroborated in the study presented herein. This activity enhancement may be a result of the adsorption of *p*-toluenesulfonic acid onto the biomass surface, which is supported by the repulsion of the hydrophobic tolyl group from the bulk of the water phase, thereby pushing into the lignocellulosic structure, which causes the disruption of the cellulose H-bonding network. This repulsion from water, sustained by the hydrophobic group is not possible for sulfuric acid, which explains its relatively weaker activity (Amarasekara and Wiredu, 2011).

4.4.3. Influence of acid concentration

It is important to know the limit of the concentration of acid at which the sugars begin to degrade to HMF and furfural. When a highly concentrated acid is used, the formation of inhibitory products cannot be avoided (Wijaya et al., 2014). The effect of HNO₃ concentration on TRS production by hydrolysis of the different lignocellulosic materials is shown in Figure 4.2.

An increase in total sugar production when the acid concentration was increased from 5 to 10% was observed in all cases, with an associated increase in the production of degradation products. In the particular case of pine nut shell, a larger amount of acid (15%) was required for the sugar degradation process to start. It is also worth noting that the production of HMF from native cellulose was much higher than from the three lignocellulosic materials under study. This can be explained by the fact that cellulose consists of glucose monomers, which are the precursor of HMF.

4. EFFICIENT MICROWAVE-ASSISTED ACID HYDROLYSIS OF LIGNOCELLULOSIC MATERIALS INTO TOTAL REDUCING SUGARS IN IONIC LIQUIDS

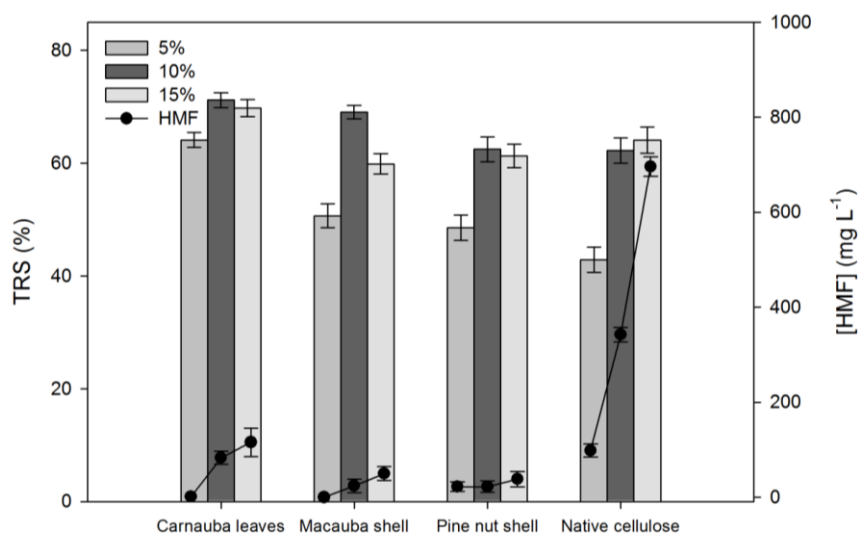


Figure 4.2. TRS and HMF production from carnauba leaves, macauba shell, pine nut shell and native cellulose, for different doses of acid (HNO₃-10%, 120°C, 30 min and ChCl/urea reaction medium).

The highest TRS production occurred at an acid concentration of 10% in all cases, except for native cellulose. The hydrolysis of cellulose required stronger conditions because the β -glycosidic bonds of its glucose moieties are strongly protected by a hermetic structure of cellulose microfibers, hampering the hydrolysis process (Alvira et al., 2010).

When the acid concentration was increased to 15%, a decrease in TRS concentration values took place. Zhou et al. (2011) observed this same behavior when studying different HCl concentrations (0, 3, 7 and 10%), obtaining the best results for HCl 7%. Similarly, when studying sugar cane bagasse hydrolysis with different doses of H₂SO₄ (2, 4, 6 and 8%), Domínguez-Domínguez et al. (2012) found that dilute conditions of the acid (4%) were the optimal choice, since very low acid concentrations were not effective in the hydrolysis and very high acid concentrations resulted in a breakdown of sugars to undesirable by-products. Mateus et al. (2012) also state that the degradation to furfural (pentoses) and HMF (hexoses) was enhanced when acid concentration and temperature are increased.

4.4.4. Impact of the ionic liquid choice

The TRS production yields obtained from lignocellulosic residues and cellulose in four different reaction media at 100°C and 120°C with HNO₃ 10% for 30 min are summarized in Figure 4.3. No sugar production occurred for the ChCl/urea DES at 100°C, but formation of sugars could be attained by rising the temperature to 120°C. At

4. EFFICIENT MICROWAVE-ASSISTED ACID HYDROLYSIS OF LIGNOCELLULOSIC MATERIALS INTO TOTAL REDUCING SUGARS IN IONIC LIQUIDS

this temperature, TRS production yields of 63.6%, 62.9%, 59.9% and 48.3% were attained for native cellulose, carnauba leaves, pine nut shell and macauba shell, respectively.

For the ChCl/oxalic acid eutectic mixture, significant TRS production took place at both temperatures, with yields as high as 83.7% for carnauba leaves, followed by macauba shell (76.8%), native cellulose (46.9%) and pine nut shell (0%, i.e., below detection threshold). When conventional ionic liquids (TEAC and TEAB) were used, TRS production was very low: for TEAC, the highest TRS production took place at 100°C, while for TEAB it occurred at 120°C.

From aforementioned data, it can be inferred that the highest TRS productions are attained when DES is used reaction media. Further, DES have better characteristics than ILs in terms of cost and toxicity (Yang et al., 2013). In comparison to the values reported in the literature, it should be noted that Rinaldi and Dwiatmoko (2012) found lower yields with the use of 1-butyl-3-methylimidazolium chloride in the hydrolysis of starch, cellulose and palm stem, obtaining reducing sugars with yields of about 19.9% at 130°C for 4 h. It should also be clarified that the ionic liquids on their own were unable to efficiently hydrolyze the biomass, requiring an acidic medium to optimize the hydrolysis process.

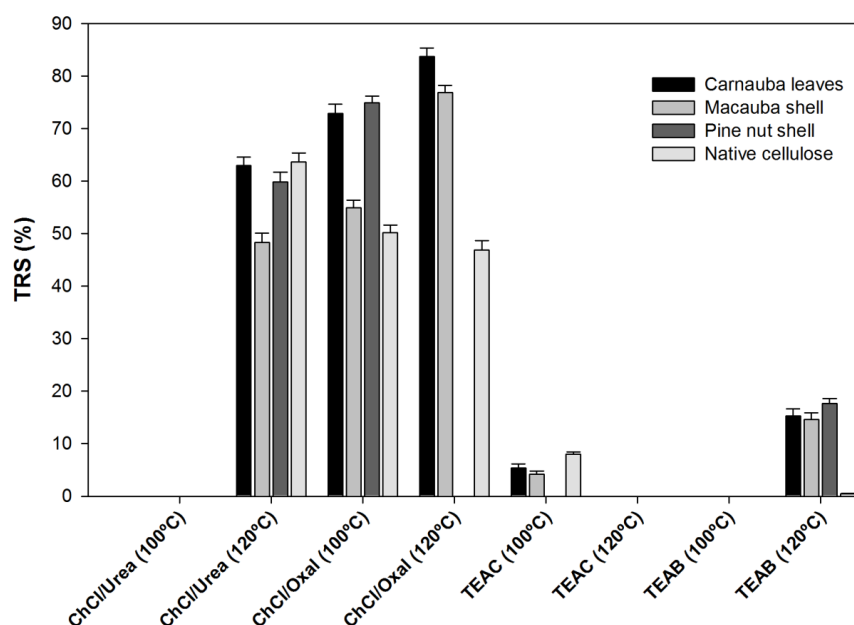


Figure 4.3. Total reducing sugars production in HNO₃ 10% acidic medium, at 100°C/120°C for 30 min.

With regard the HMF/furfural concentrations, they were very low for all reaction media, ranging from 0.069 to 0.10 g·L⁻¹ for ChCl/urea, and from 0.10 to 0.40 g·L⁻¹ for ChCl/ox. Similar values were attained for conventional ionic liquids (TEAB and TEAC), except in the particular case of carnauba leaves with TEAB and HNO₃ 10%, in which the by-products concentration reached 0.7 g·L⁻¹. This value can be regarded as worryingly high, provided that Keating et al. (2006) found that values of HMF and furfural higher than 0.08 g·L⁻¹ affect the fermentation process.

4.4.5. Effects of temperature and time on the reaction yields

The acid-catalyzed hydrolysis was also studied by varying temperatures and reaction times. The effects of these parameters are shown in Figure 4.3. Keeping the reaction temperature fixed at 120°C, it could be observed that the peak production of sugars was attained at 30 min, ranging from 43.6 to 68.8% (4.36 to 6.88 g·L⁻¹). In the case of carnauba leaves and pine nut shell, it is also worth noticing that 120°C was not a sufficiently high temperature to hydrolyze the materials in the first 5 minutes, and more time was required to start the hydrolysis process of the materials (Figure 4.4-a,c). On the other hand, the increase in the reaction temperature entailed an increase in the TRS production yields for all substrates.

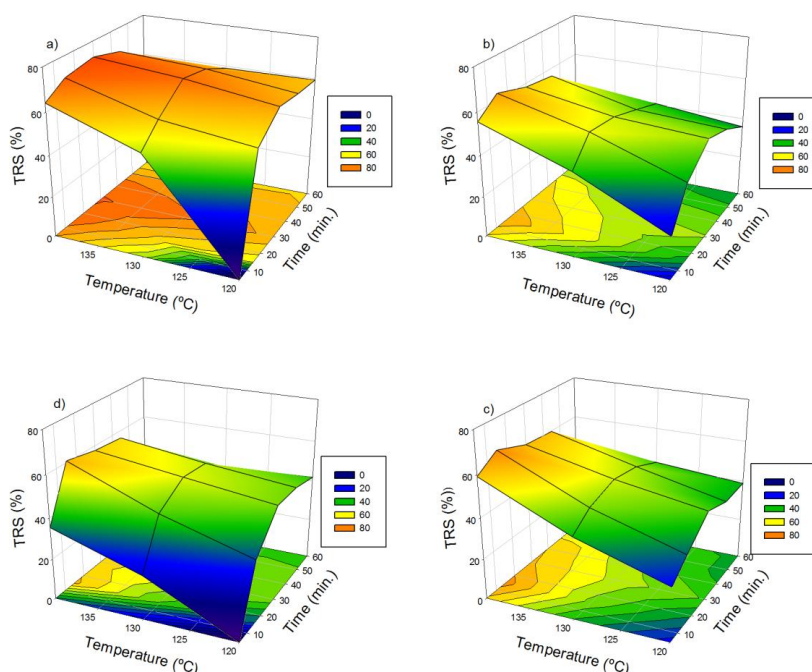


Figure 4.4. TRS production concentrations from carnauba leaves (a), macauba shell (b), pine nut shell (c) and native cellulose (d) at different temperatures (HNO₃ 10%, 30 min and ChCl/urea reaction medium).

The highest yield TRS was obtained for carnauba leaves at 140°C and for reaction times in the 15-30 min range (Figure 4.4-a). This result was consistent with the analysis of the composition of each material (Table 4.1), where a higher proportion of cellulose and hemicellulose and a lower lignin content was observed for this material. Rodríguez-Chong et al. (2004) obtained similar results using HNO₃ (2%), at 128°C for 180 min, whereas Tong et al. (2013) obtained lower yields (ca. 16.9%) at 200°C for 10 hours, using H₃PO₄ (10%). Nonetheless, Wijaya et al. (2014) reported better results (87.48 to 90.39 g·L⁻¹) using more oxidant reaction media by resourcing H₂SO₄ (80%) at 80°C for 30 min.

There was trade-off between temperature and reaction time, as expected: higher reaction temperature required shorter reaction times, and the other way round. In any case, the production process was followed by degradation of TRS to HMF-furfural, with an increased reaction rate at higher temperatures, as noted by Mateus et al. (2012). Therefore, 120°C could be regarded as the most convenient choice, since degradation was minimized versus those at 130°C and 140°C.

For all materials, the appearance of two phases in the reaction could be observed when time was increased: one which corresponded to the formation of sugars and the second one associated to the breakdown of sugars to by-products (HMF and furfural). The later, with continued heating, would lead to levulinic and formic acid production (Saeman, 1945). This same behavior was reported by Wijaya et al. (2014) in the hydrolysis of oak wood, pine wood and empty fruit bunch

4.4.6. Kinetic study of TRS production

Lignocellulosic materials can be hydrolyzed into various products, namely glucose, xylose, furfural and 5-HMF (Chin et al., 2014; Rodríguez-Chong et al., 2004). Since the acid hydrolysis of lignocellulosic materials is a complex process, simplified first order and pseudo-first order models (which are generally used to determine the reaction kinetics) are not applicable, provided that this type of kinetics assume that the formation of intermediates (HMF and furfural) is negligible. Consequently, a dilute acid hydrolysis should be described by two consecutive, irreversible, pseudo-homogeneous first-order reactions, as follows (Eq. 4.2):



where k_1 (min^{-1}) is the rate of conversion of glucan to glucose and k_2 (min^{-1}) is the rate of decomposition of glucose. Decomposition products may be furfural, hydroxymethylfurfural, formic acid, levulinic acid, etc. From this reaction model and solving differential Equations, monomer concentration (M) as a function of time (t) can be represented by (Eq. 4.3):

$$M = M_0 \cdot e^{-k_2 \cdot t} + P_0 \cdot \frac{k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 \cdot t} - e^{-k_2 \cdot t}) \quad \text{Eq. 4.3}$$

where P is the polymer concentration ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) and the subscript 0 indicates the initial conditions. In this work, this equation was applied to model the acid hydrolysis of the different substrates using nitric acid.

The degree and rate of hydrolysis depends on many factors: temperature, biomass concentration, type of organic matter and particle size, for example. The same behavior was observed for all materials: when the hydrolysis time increased, the concentration of sugars was reduced, due to decomposition of sugars into furfural, HMF and levulinic acid.

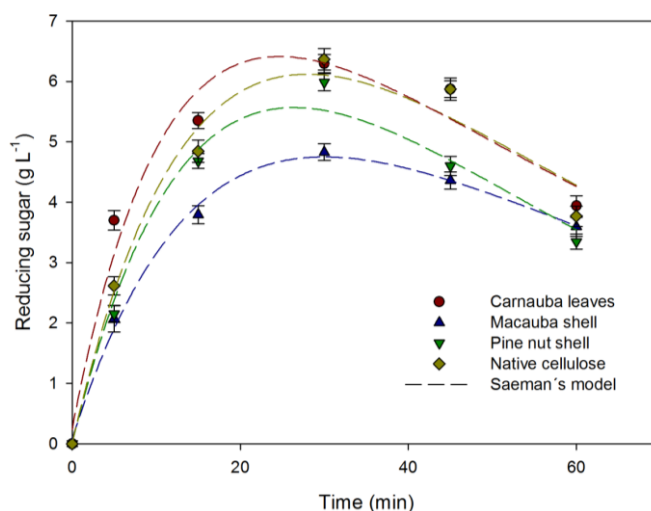


Figure 4.5. TRS production experimental and predicted values using Saeman's model.

Figure 4.5 shows the experimental data together with the curves obtained from the kinetic model discussed above. It can be observed that native cellulose had the highest concentration of total reducing sugars (TRS) after 30 min ($6.36 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$). With regard to the lignocellulosic materials under study, carnauba showed a very similar

4. EFFICIENT MICROWAVE-ASSISTED ACID HYDROLYSIS OF LIGNOCELLULOSIC MATERIALS INTO TOTAL REDUCING SUGARS IN IONIC LIQUIDS

value to that of native cellulose (6.29 g·L⁻¹), followed by pine nut shell (5.99 g·L⁻¹) and macauba shell (4.83 g·L⁻¹). In all cases TRS formation peaked at 30 min, after which the increase in reaction time caused a decrease in the TRS content due to degradation. At the point of maximum production of TRS (30 min.), the amounts of HMF/furfural varied between 0.02 and 0.10 g·L⁻¹. Bellido et al. (2011) observed that such low amounts of these inhibitors had no effect on the subsequent fermentation process.

Table 4.3. shows the kinetic coefficients, k_1 and k_2 , the initial monomer and polymer concentrations (M_0 and P_0) and the correlation coefficient r^2 for the adjustment of the experimental data with Saeman's model. All r^2 were higher than 0.9, which indicated a good agreement between experimental and predicted data, and it could be inferred that the materials are susceptible to acid hydrolysis under the conditions studied (Rodríguez-Chong et al., 2004).

Table 4.3. Kinetic and statistical parameters for total reducing sugars production by microwave-assisted HNO₃ (10%)-catalyzed hydrolysis at 120°C.

Sample	k_1 (min ⁻¹)	k_2 (min ⁻¹)	P_0 (g·L ⁻¹)	M_0 (g·L ⁻¹)	k_1/k_2	r^2
Carnauba leaves	0.0243	0.0242	11.44	6.39E-09	1.004	0.9508
Macauba shell	0.0497	0.0208	21.11	7.16E-02	2.389	0.9979
Pine nut shell	0.0278	0.0277	9.37	6.94E-09	1.004	0.9135
Native cellulose	0.0308	0.0307	16.42	6.79E-02	1.003	0.9437

P_0 : polymer concentration; M_0 : monomer concentration.

k_1 values varied from 0.0243 to 0.0497 min, and k_2 values ranged from 0.0242 to 0.0308 min. The highest TRS formation rate corresponded to macauba shell, which had the highest k_1 value (0.0497), while the lowest rate was associated to carnauba leaves, with the lowest k_1 value (0.0243). Macauba shell showed the lowest TRS decomposition rate, i.e., the lowest k_2 value (0.0208), while the highest rate corresponded to native cellulose, with a k_2 of 0.0307. Chin et al. (2014) studied the kinetics of sugars production from oil palm empty fruit bunch (EFB) using the same temperature (120°C) and obtained lower k_1 values (0.0007), indicating that our process had a rate faster TRS production reaction. The ratio of the TRS formation and decomposition rates (k_1/k_2) was close to 1 for all materials, except for macauba shell (2.389). This suggested that, in the particular case of macauba shell, the TRS formation rate was greater than its decomposition rate, so it can be regarded as the lignocellulosic waste than can be most easily decomposed to sugars.

4.4.7. Optimal conditions for each type of biomass

Optimum conditions (in terms of type of acid and its concentration, reaction media, temperature and reaction time) were defined for each type of biomass, with a trade-off between high TRS yield and low-concentration of fermentation inhibitors (HMF and furfural). For all types of biomass, this goal was attained for the combination of a DES (either ChCl/ox or ChCl/urea) with HNO₃ 10%. While temperatures in the 130-140°C range led to a better hydrolysis of lignocellulosic biomass, the increase in HMF and furfural values favored the choice of 120°C as the optimum temperature in terms of efficiency. Regarding the reaction times, which varied for each material and each temperature, 30 minutes was the most suitable for a reaction temperature of 120°C, since it optimized TRS production while minimizing degradation.

4.5. Conclusion

Microwave-assisted acid-catalyzed hydrolysis was successfully applied to break the structure of cellulose and hemicellulose and extract sugars from carnauba leaves, macauba shell, pine nut shell and native cellulose. In relation to the reaction media choice, DES (ChCl/ox and ChCl/urea) systematically led to higher TRS production than conventional ionic liquids (TEAC and TEAB), with the additional advantages of being more environmentally friendly, more economical, less toxic and easily prepared on a large scale. The highest TRS productions were attained for carnauba leaves (83.7% and 62.9% for ChCl/ox and ChCl/urea, respectively), the material with the highest amount of cellulose and lowest crystallinity amongst the chosen lignocellulosic wastes. Although both DES produced large amounts of TRS, ChCl/urea was chosen as a preferred medium taking into consideration not only the TRS productivity, but placing emphasis on keeping the fermentation inhibitors (HMF/furfural) concentrations as low as possible, with a view to subsequent bioethanol production. The optimum operating conditions (ChCl/urea, HNO₃ 10%, 120°C, 30 min) were confirmed with a kinetic study.

4.6. Acknowledgments

This work was supported by funds from Junta de Castilla y León under project VA300A12-1. Viviane da Silva would like to thank Universidad de Valladolid for its financial support (“Programa de Formación del Personal Investigador” PhD scholarship). Pablo Martín-Ramos also acknowledges Iberdrola Foundation for its support. The authors would like to gratefully acknowledge Prof. Manuela Ramos-Silva and Prof. M. Ermelinda S. Eusebio for granting access to Universidade de Coimbra (Coimbra, Portugal) facilities.

4.7. References

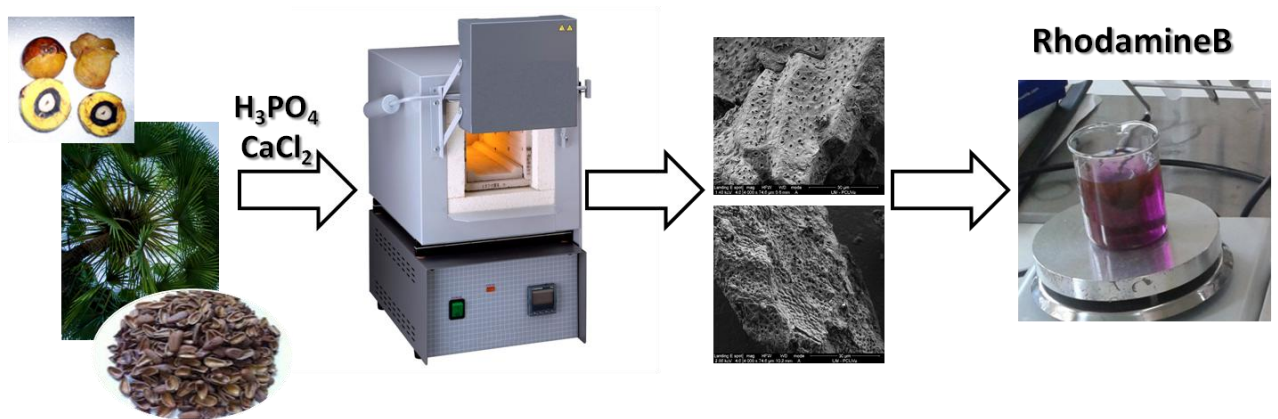
- Alvira, P., Tomás-Pejó, E., Ballesteros, M., and Negro, M. (2010). Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: a review. *Bioresource technology* **101**, 4851-4861.
- Amarasekara, A. S., and Wiredu, B. (2011). Degradation of cellulose in dilute aqueous solutions of acidic ionic liquid 1-(1-propylsulfonic)-3-methylimidazolium chloride, and p-toluenesulfonic acid at moderate temperatures and pressures. *Industrial and Engineering Chemistry Research* **50**, 12276-12280.
- ANASI, and ASTM (1977). Standard test methods for lignin in wood D 1106-56. In "D 1106-56". American National Standards Institute (ANSI) and American Society for Testing and Materials (ASTM), Washington DC.
- ANSI, and ASTM (1977). Standard test methods for alpha-cellulose in wood D 1103-60. American National Standards Institute (ANSI) and American Society for Testing and Materials (ASTM), Washington DC.
- Araujo, J., Waldman, W., and De Paoli, M. (2008). Thermal properties of high density polyethylene composites with natural fibres: Coupling agent effect. *Polymer Degradation and Stability* **93**, 1770-1775.
- Behera, S., Arora, R., Nandhagopal, N., and Kumar, S. (2014). Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **36**, 91-106.

- Bellido, C., Bolado, S., Coca, M., Lucas, S., González-Benito, G., and García-Cubero, M. T. (2011). Effect of inhibitors formed during wheat straw pretreatment on ethanol fermentation by *Pichia stipitis*. *Bioresource Technology* **102**, 10868-10874.
- Binder, J. B., and Raines, R. T. (2010a). Fermentable sugars by chemical hydrolysis of biomass. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **107**, 4516-4521.
- Binder, J. B., and Raines, R. T. (2010b). Fermentable sugars by chemical hydrolysis of biomass. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **107**, 4516-4521.
- Biswas, A., Shogren, R., Stevenson, D., Willett, J., and Bhowmik, P. K. (2006). Ionic liquids as solvents for biopolymers: Acylation of starch and zein protein. *Carbohydrate Polymers* **66**, 546-550.
- Bobleter, O. (1994). Hydrothermal degradation of polymers derived from plants. *Progress in Polymer Science* **19**, 797-841.
- Browning, B. L. (1967). Methods of wood chemistry. Volumes I & II. *Methods of wood chemistry. Volumes I & II*.
- Chi, C., Zhang, Z., Chang, H.-m., and Jameel, H. (2009). Determination of Furfural and Hydroxymethylfurfural Formed From Biomass Under Acidic Conditions. *Journal of Wood Chemistry and Technology* **29**, 265-276.
- Chin, S. X., Chia, C. H., Fang, Z., Zakaria, S., Li, X. K., and Zhang, F. (2014). A Kinetic Study on Acid Hydrolysis of Oil Palm Empty Fruit Bunch Fibers Using a Microwave Reactor System. *Energy and Fuels* **28**, 2589-2597.
- da Silva Lacerda, V., López-Sotelo, J. B., Correa-Guimarães, A., Hernández-Navarro, S., Sánchez-Báscos, M., Navas-Gracia, L. M., Martín-Ramos, P., and Martín-Gil, J. (2015a). Rhodamine B removal with activated carbons obtained from lignocellulosic waste. *Journal of Environmental Management* **155**, 67-76.
- da Silva Lacerda, V., López-Sotelo, J. B., Correa-Guimarães, A., Hernández-Navarro, S., Sánchez-Bascones, M., Navas-Gracia, L. M., Martín-Ramos, P., Pérez-Lebeña, E., and Martín-Gil, J. (2015b). A kinetic study on microwave-assisted conversion of cellulose and lignocellulosic waste into hydroxymethylfurfural/furfural. *Bioresource Technology* **180**, 88-96.

- Dee, S., and Bell, A. T. (2011). Effects of reaction conditions on the acid-catalyzed hydrolysis of miscanthus dissolved in an ionic liquid. *Green Chemistry* **13**, 1467-1475.
- Domínguez-Domínguez, M. M., Álvarez-Castillo, A., Granados-Baeza, M., and Hernández-Campos, F. (2012). Estudio de la cinética del pretratamiento e hidrólisis ácida del bagazo de caña de azúcar. *Revista Iberoamericana de Polímeros* **13**, 4.
- Dorado, J., Almendros, G., Field, J. A., and Sierra-Alvarez, R. (2001). Infrared spectroscopy analysis of hemp (*Cannabis sativa*) after selective delignification by *Bjerkandera* sp. at different nitrogen levels. *Enzyme and Microbial Technology* **28**, 550-559.
- Hayes, D. J. (2009). An examination of biorefining processes, catalysts and challenges. *Catalysis Today* **145**, 138-151.
- Jayaraman, K. (2003). Manufacturing sisal-polypropylene composites with minimum fibre degradation. *Composites Science and technology* **63**, 367-374.
- Keating, J. D., Panganiban, C., and Mansfield, S. D. (2006). Tolerance and adaptation of ethanologenic yeasts to lignocellulosic inhibitory compounds. *Biotechnology and Bioengineering* **93**, 1196-1206.
- Kim, D.-H., Lee, S.-B., and Jeong, G.-T. (2014). Production of reducing sugar from *Enteromorpha intestinalis* by hydrothermal and enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology* **161**, 348-353.
- Laopaiboon, L., Nuanpeng, S., Srinophakun, P., Klanrit, P., and Laopaiboon, P. (2009). Ethanol production from sweet sorghum juice using very high gravity technology: Effects of carbon and nitrogen supplementations. *Bioresource technology* **100**, 4176-4182.
- Li, C., and Zhao, Z. K. (2007). Efficient Acid-Catalyzed Hydrolysis of Cellulose in Ionic Liquid. *Advanced Synthesis & Catalysis* **349**, 1847-1850.
- Mateus, L., Hernández, O., Velásquez, M., and Velásquez, J. d. J. D. (2012). Evaluación del pretratamiento con ácido sulfúrico diluido del pasto maralfalfa (*Pennisetum glaucum* x *Pennisetum purpureum*) para la producción de etanol. *Revista Colombiana de Biotecnología* **14**, 146-156.
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry* **31**, 426-428.

- Morrison, H. G., Sun, C. C., and Neervannan, S. (2009). Characterization of thermal behavior of deep eutectic solvents and their potential as drug solubilization vehicles. *International journal of pharmaceutics* **378**, 136-139.
- Nunn, S., and Nishikida, K. (2008). "Advanced ATR Correction Algorithm - Application Note 50581," Madison, WI, USA.
- Rinaldi, N., and Dwiatmoko, A. A. (2012). Hydrolysis Process of Cellulose and Palm Stem into Total Reducing Sugars (TRS) over Solid Acid in 1-n-butyl-3-methylimidazolium chloride: A Preliminary Study. *International Journal of Engineering & Technology* **12**, 26-29.
- Rodríguez-Chong, A., Alberto Ramírez, J., Garrote, G., and Vázquez, M. (2004). Hydrolysis of sugar cane bagasse using nitric acid: a kinetic assessment. *Journal of Food Engineering* **61**, 143-152.
- Saeman, J. F. (1945). Kinetics of wood saccharification-hydrolysis of cellulose and decomposition of sugars in dilute acid at high temperature. *Industrial and Engineering Chemistry* **37**, 43-52.
- Saleh, M., Cuevas, M., García, J. F., and Sánchez, S. (2014). Valorization of olive stones for xylitol and ethanol production from dilute acid pretreatment via enzymatic hydrolysis and fermentation by *Pachysolen tannophilus*. *Biochemical Engineering Journal* **90**, 286-293.
- Segal, L., Creely, J., Martin, A., and Conrad, C. (1959). An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Textile Research Journal* **29**, 786-794.
- Taherzadeh, M. J., and Karimi, K. (2007). Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: a review. *BioResources* **2**, 472-499.
- Theerarattananoon, K., Wu, X., Staggenborg, S. A., Propheter, R., Madl, R., and Wang, D. (2010). Evaluation and characterization of sorghum biomass as feedstock for sugar production. *Transactions of the ASABE* **53**.
- Tong, D. S., Xia, X., Luo, X. P., Wu, L. M., Lin, C. X., Yu, W. H., Zhou, C. H., and Zhong, Z. K. (2013). Catalytic hydrolysis of cellulose to reducing sugar over acid-activated montmorillonite catalysts. *Applied Clay Science* **74**, 147-153.

- Wijaya, Y. P., Putra, R. D. D., Widyaya, V. T., Ha, J.-M., Suh, D. J., and Kim, C. S. (2014). Comparative study on two-step concentrated acid hydrolysis for the extraction of sugars from lignocellulosic biomass. *Bioresource technology* **164**, 221-231.
- Yang, D., Hou, M., Ning, H., Zhang, J., Ma, J., Yang, G., and Han, B. (2013). Efficient SO₂ absorption by renewable choline chloride-glycerol deep eutectic solvents. *Green Chemistry* **15**, 2261-2265.
- Yunus, R., Salleh, S. F., Abdullah, N., and Biak, D. R. A. (2010). Effect of ultrasonic pre-treatment on low temperature acid hydrolysis of oil palm empty fruit bunch. *Bioresource technology* **101**, 9792-9796.
- Zavrel, M., Bross, D., Funke, M., Büchs, J., and Spiess, A. C. (2009). High-throughput screening for ionic liquids dissolving (ligno-) cellulose. *Bioresource Technology* **100**, 2580-2587.
- Zhou, N., Zhang, Y., Wu, X., Gong, X., and Wang, Q. (2011). Hydrolysis of Chlorella biomass for fermentable sugars in the presence of HCl and MgCl₂. *Bioresource Technology* **102**, 10158-10161.



5. RHODAMINE B REMOVAL WITH ACTIVATED CARBONS OBTAINED FROM LIGNOCELLULOSIC WASTE

Rhodamine B removal with activated carbons obtained from lignocellulosic waste

Viviane da Silva Lacerda^a, Juan B. López-Sotelo^a, Adriana Correa-Guimarães^a, Salvador Hernández-Navarro^a, Mercedes Sánchez-Báscones^a, Luis M. Navas-Gracia^a, Pablo Martín-Ramos^b and Jesús Martín-Gil^{a*}

^aDepartment of Agricultural and Forestry Engineering, ETSIIAA, Universidad de Valladolid, Avenida de Madrid 44, 34004 Palencia, Spain.

^bDepartment of Agricultural and Environmental Sciences, Higher Polytechnic School of Huesca, Universidad de Zaragoza, Carretera de Cuarte s/n, 22071 Huesca, Spain

* E-mail: jesusmartingil@gmail.com; Tel.: +34 (979) 108347

(Disponible en línea el 12-03-2015 en Journal of Environmental Management. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.03.007>, Article Type: Original research)

5.1. Abstract

By-products from the wax production process from carnauba palm (leaves), from the extraction of oil from macauba seeds (endocarp) and from pine nut production (shell) have been assessed for activated carbon production, using H₃PO₄ or CaCl₂ for their chemical activation. The resulting activated charcoals have been thoroughly characterized by elemental and thermal analysis, X-ray diffraction, infrared spectroscopy, electron scanning microscopy and N₂ adsorption behavior. Subsequently, their adsorption capacity for the removal of rhodamine B (RhB) from aqueous solutions has been evaluated by studying different parameters: contact time, pH, adsorbent dose, initial dye concentration and solution temperature. The adsorption of RhB followed Freundlich's model in all cases. Kinetic studies indicate that the pseudo-second order model can be used for describing the dynamics of the adsorption process. Thermodynamic parameters have also been evaluated, indicating its endothermic and spontaneous nature. Finally, a preliminary analysis of the impact of cellulose content in the carbon precursor materials has been conducted, by using a mixture of native cellulose with one of the lignocellulosic materials.

Keywords: *Acrocomia aculeata*; activated carbon; adsorption; *Copernicia prunifera*; *Pinus pinea*; rhodamine B.

5.2. Introduction

Synthetic dyes are widely used in industries, producing a large amount of toxic, carcinogenic, mutagenic, bio-accumulative wastewaters that pollute the environment (Chen et al., 2010) and which have been deemed as one of the most important groups of contaminants for the aquatic environment (Hosseini et al., 2011). Dyes are difficult to remove by conventional wastewater purification treatments due to their high stability against light, temperature, chemical and microbial attacks (Forgacs et al., 2004). Wastewater from industries also are contaminated by heavy metals (Lo et al., 2012), causing severe poisoning due to their high solubility in water and their non-biodegradability (Zaini et al., 2010). One of the most widely used products for the removal of these pollutants are activated carbons (activated charcoals), which can be produced from agricultural residues such as pecan nut shell (Bansode et al., 2004; Klasson et al., 2009; Ng et al., 2003), leather waste (Kong et al., 2013), olive-waste cake (Baccar et al., 2009), grass clippings, horse manure (Hao et al., 2013), rice husk waste (de Luna et al., 2013), etc.

The adsorption technique is used for the treatment of industrial effluents, and activated carbon is extensively used for the removal of many pollutants, but it has the disadvantage of having a high associated cost. Consequently, other low-cost materials have been proposed as alternatives, in particular residual biomass, which is a natural biodegradable renewable product, with a minimum associated cost and which also has good adsorption properties for contaminants, either metals or chemical compounds (Paraskeva et al., 2008).

The adsorption involves the separation of a substance, followed by its accumulation or concentration on the surface of another material (Metcalf and Eddy, 2003). Activated charcoal of plant origin is a versatile adsorbent of great economic interest for the treatment of water, either for human consumption or for industrial purposes.

The aim of this research has been to find an efficient way to produce, characterize and use activated charcoals obtained from three little exploited lignocellulosic waste materials (from *Copernicia prunifera*, *Acrocomia aculeata* and *Pinus pinea*) for the adsorption of contaminants in wastewaters, taking Rhodamine-B (RhB) as a representative -and particularly harmful- example of industrial pollutant dye.

The effect of impregnation of the raw materials with H_3PO_4 and $CaCl_2$ has been assessed, together with the impact of variations of the pH, concentration of adsorbate, contact time, temperature and adsorbent dose on the efficiency of the adsorption process. Rhodamine-B adsorption mechanisms have been analyzed through isotherms, kinetic and thermodynamic studies. Moreover, the effect of the cellulose content in the precursor materials on the RhB removal capability of the resulting activated charcoals has been evaluated by its artificial increase with native cellulose for the first time.

5.3. Materials and methods

5.3.1. Precursor materials

Carnauba palm (*C.prunifera*) leaves from Ceara (Brazil), macauba palm (*A. aculeata*) endocarp from Minas Gerais (Brazil) and stone pine (*P. pinea*) nut shells from Valladolid (Spain) have been selected as precursor lignocellulosic materials (da Silva Lacerda et al., 2015). Commercial native cellulose was supplied by Merck. Phosphoric acid (H_3PO_4 , 85%) and hydrochloric acid (HCl, 37%) were purchased from Panreac, and calcium chloride ($CaCl_2$, anhydrous, >93%) from Sigma Aldrich.

5.3.2. Activated carbon preparation

The chemical activation of the lignocellulosic raw materials was carried out using phosphoric acid and calcium chloride. Prior to the impregnation of the materials, they were washed with deionized water until constant pH and then were grounded on a Retsch ZM-100 ultra centrifugal mill to a particle size <0.25 mm. Subsequently, the materials were impregnated with solutions of phosphoric acid (1 M) and calcium chloride (1 M), using 8 g of each lignocellulosic product in 100 mL of the respective solutions (H_3PO_4 -1 M and $CaCl_2$ -1 M) for 24 h. After impregnation, the samples were filtered and dried at room temperature for 24 h. The carbonization of the materials was conducted in a Mufla Digital oven mod. 10-PR/300 at 500 °C for 1 h under N_2 atmosphere. The materials resulting from carbonization were washed with 50 mL of hydrochloric acid (1 M) for 1 h and sonicated for 10 min in a JP Selecta ultrasonic cleaning bath, and then filtered and washed with deionized water until chlorides complete elimination and constant pH were attained. The charcoals were finally dried to remove all moisture. Aforementioned washing process is essential in order to remove

the chemical activating agents, allowing higher porosity ((Peláez-Cid and Teutli-León, 2012).

5.3.3. Physico-chemical characteristics of the activated carbons

The behavior of the impregnated materials against pyrolysis was studied in a Mettler Toledo TGA/SDTA851e/SF/1100 thermal analyzer, by heating the samples from 25 to 830°C at a 25°C/min rate under nitrogen atmosphere. The sample weights were in the 9.5–10.5 mg range, each of them determined with 0.01 mg precision.

C, H and N contents were measured using a Leco CHN-600 Elemental Analyzer. Since ash and metal contents are low for these lignocellulosic materials, the oxygen content was calculated by subtraction, following a procedure analogous to that of (Pastor-Villegas et al., 2006).

The content of cellulose, hemicellulose and lignin was determined for each of the precursor materials as follows: the insoluble lignin content was calculated according to ANSI/ASTM standard (ANASI and ASTM, 1977) and holocellulose (hemicellulose+cellulose) was obtained after delignification of the sample and its content was determined using the technique described by Browning (1967). Cellulose content was determined according to ANSI/ASTM procedure (ANSI and ASTM, 1977) and hemicellulose content was then calculated by subtraction of cellulose content to that of holocellulose.

Structural characterization of the charcoals by X-ray powder diffraction was carried out in a Bruker D8 Advance Bragg-Brentano diffractometer, in reflection geometry. The diffractograms were recorded with 2θ sweep angles in the 5–70° range at 0.02 (2 θ /sec) speed with 2 s exposure time.

The functional groups present on the surface were determined by infrared spectroscopy using a Thermo Nicolet 380 FT-IR apparatus equipped with a Smart Orbit Diamond ATR system.

The pore structure of the samples was characterized by nitrogen adsorption-desorption at 77 K using a Micromeritics ASAP 2020 surface area and porosity analyzer. Prior to the analysis, samples were degassed for 2 h under vacuum at 393 K.

The surface morphology was studied by scanning electron microscopy (SEM) in a FEI Quanta 200F apparatus..

5.3.4. RhB adsorption assays

Batch adsorption experiments were conducted to investigate the adsorption of Rhodamine B on the various activated carbons. All determinations were performed in triplicate biological replications, and the reported values correspond to the average.

To analyze the effect of pH on RhB adsorption, experiments were carried out at initial pH values ranging from 2 to 10. The initial pH was controlled by the addition of dilute HCl or NaOH solutions. The effect of the dose of adsorbent was studied by varying the amount of carbon in the solution (from 2 to 8 g/L). The influence of contact time was assessed by using the same dye concentration and changing the contact time from 5 to 240 min. The impact of the initial dye concentration was determined by isotherms at 25, 35 and 45°C, varying the initial dye concentrations from 65 to 140 mg/L while keeping the dose of adsorbent and the contact time fixed. Finally, with a view to determining to what extent the amount of cellulose in the precursor materials affected the RhB adsorption capacity, a preliminary study has been conducted by mixing different amounts of native cellulose (0 wt.%, 20 wt.% and 50 wt.%) with one of the lignocellulosic materials (pine nut shell) and comparing the percentage of removal of RhB for each the resulting activated charcoals. The aim of adding such native cellulose was to artificially increase the cellulose content prior to the activation phase (with H₃PO₄).

Rhodamine B concentrations in the solution before and after adsorption were determined with a Hitachi U-2001 UV–vis spectrophotometer at 552 nm. The amount adsorbed per unit mass of biosorbent (mg/g) is calculated using the following equation (Eq. 5.1):

$$q_t = [V(C_0 - C_t)]/m \quad \text{Eq. 5.1}$$

where C_0 (mg/L) is the initial concentration, C_t (mg/L) is the concentration in the liquid phase at time t , V (L) the volume of the solution and m (g) the mass of adsorbent. In equilibrium conditions, $q_t=q_e$ and $C_t=C_e$.

5.4. Results and discussion

5.4.1. Thermal analysis

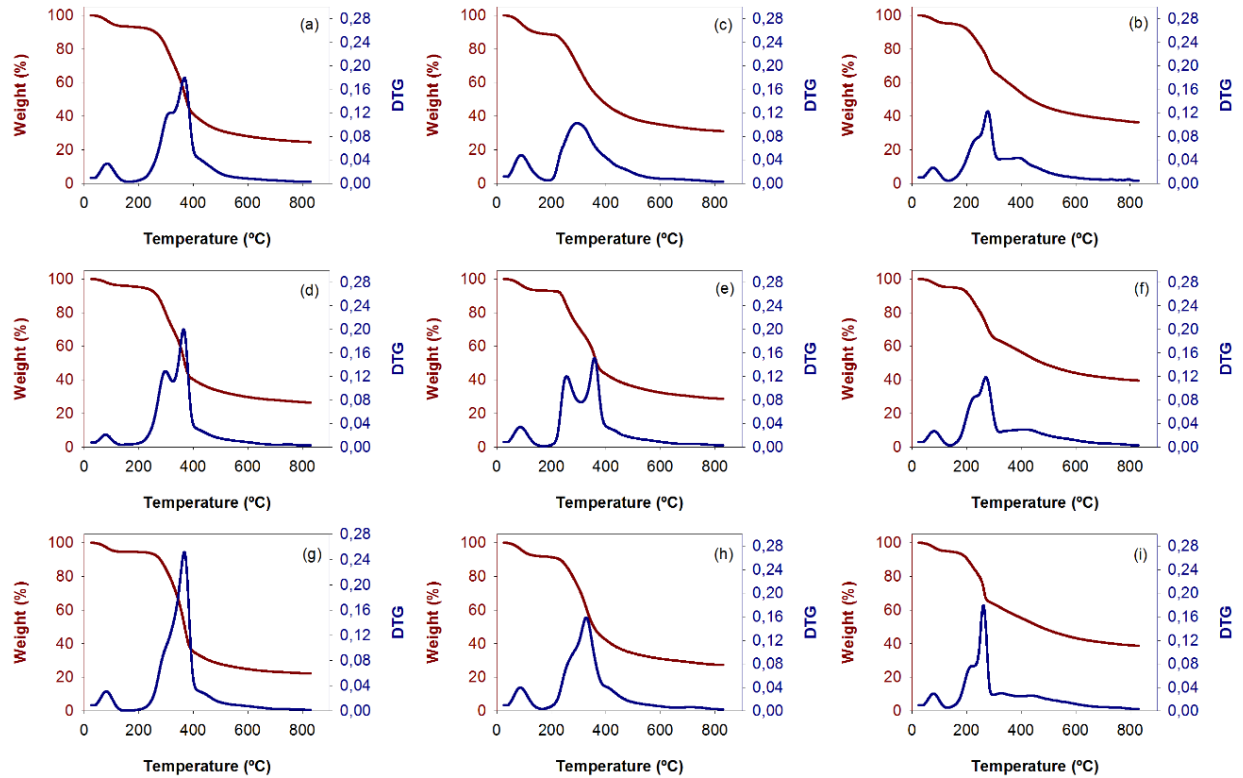


Figure 5.1. Thermogravimetric analysis (TGA and DTG curves) of the precursor and impregnated materials: (a) carnauba leaves; (b) carnauba leaves treated with CaCl_2 ; (c) carnauba leaves treated with H_3PO_4 ; (d) macauba endocarp; (e) macauba endocarp treated with CaCl_2 ; (f) macauba endocarp treated with H_3PO_4 ; (g) pine nut shell; (h) pine nut shell treated with CaCl_2 ; (i) pine nut shell treated with H_3PO_4 .

Figure 5.1 shows the thermogravimetric curves for the precursor materials: TGA curves, which correspond to mass loss as a function of temperature, and DTG curves, corresponding to the derivative of the mass loss. The DTG peaks below 100 °C (at 84 °C, 79 °C and 81 °C for carnauba leaves, macauba endocarp and pine nut shell, respectively) are due to the loss of moisture in the sample (Kalderis et al., 2008). In this stage, in addition to moisture, volatile compounds are also lost, dragged by water vapor (Gómez et al., 2008). The DTG peaks between 200 and 400°C correspond to the steps of thermal degradation of cellulose, hemicellulose and lignin (Ouensanga and Picard, 1988). Above 600°C the variations in the weight losses are insignificant, due to the existence of a carbon residue which contains the fixed carbon from carnauba leaves (28.05%), macauba endocarp (29.72%) pine nut shell (24.82%). The alterations of the profiles of thermal decomposition for the impregnated materials, in comparison to those

of their precursors precursor, can be explained due to the dehydrating action exerted by the activating agents (H_3PO_4 and $CaCl_2$), which promotes the release of water molecules against the release of organic compounds less susceptible to volatilization, with a subsequent fixation or increase in carbon content in the final product (de Souza Macedo, 2005). In view of these results, the carbonization process was set at a temperature of 500 °C for 1 h.

5.4.2. Activated carbon characterization

The C, H, O and N content (% dry matter) of the precursor materials and their corresponding activated charcoals are summarized in Table 5.1s expected, the carbon content is increased by carbonization (e.g., for carnauba leaves, it increases from 45.40% to 72.03% when impregnated with $CaCl_2$ or to 67.61% when impregnated with H_3PO_4). The low nitrogen content for macauba endocarp (0.03%) and pine nut shell (0.03%) ensures low NOx emissions during the activated carbons preparation, while higher emissions can be expected for carnauba leaves (3.40%). The highest oxygen content in the precursor materials corresponds to carnauba leaves (48.7%), followed by pine nut shell (45.4%) and macauba endocarp (41.2%). These values are similar to those of other precursor materials or hardwoods such as those of white oak (42%) or yellow poplar (47.3%) (Jagtoyen and Derbyshire, 1998). It is worth noting that during the carbonization process, oxygen is consumed and this reduces its content in the carbonized materials to values between 17.94% and 26.93%.

Table 5.1. Elemental analysis of the precursor materials and the activated carbons

Material	C (%)	H (%)	N (%)	O (%) [‡]
Carnauba leaves	45.40	2.50	3.40	48.70
Macauba endocarp	52.60	5.90	0.30	41.20
Pine nut shell	47.70	6.60	0.30	45.40
C_carnauba_ $CaCl_2$	72.03	3.56	2.55	21.85
C_carnauba_ H_3PO_4	67.61	2.84	2.61	26.93
C_macauba_ $CaCl_2$	75.51	3.56	0.57	20.35
C_macauba_ H_3PO_4	77.23	2.93	0.58	19.24
C_pine_nut_shell_ $CaCl_2$	75.14	3.69	0.36	20.79
C_pine_nut_shell_ H_3PO_4	78.69	2.95	0.40	17.94

[‡] Determined by subtraction

5. RHODAMINE B REMOVAL WITH ACTIVATED CARBONS OBTAINED FROM LIGNOCELLULOSIC WASTE

Table 5.2. Components for the lignocellulosic materials under study.

Material	Components analysis		
	Cellulose (%)	Hemicellulose (%)	Lignin (%)
Carnauba leaves	37.5 ± 3.6	29.6 ± 1.1	12.9 ± 2.3
Macauba endocarp	29.7 ± 2.1	29.5 ± 2.7	35.1 ± 1.6
Pine nut shell	30.9 ± 1.4	29.4 ± 0.9	38.8 ± 1.2

The cellulose, hemicellulose and lignin contents are summarized in Table 5.2. The highest cellulose content corresponds to carnauba leaves (37.5%), followed by pine nut shell (30.9%) and macauba endocarp (29.7%).

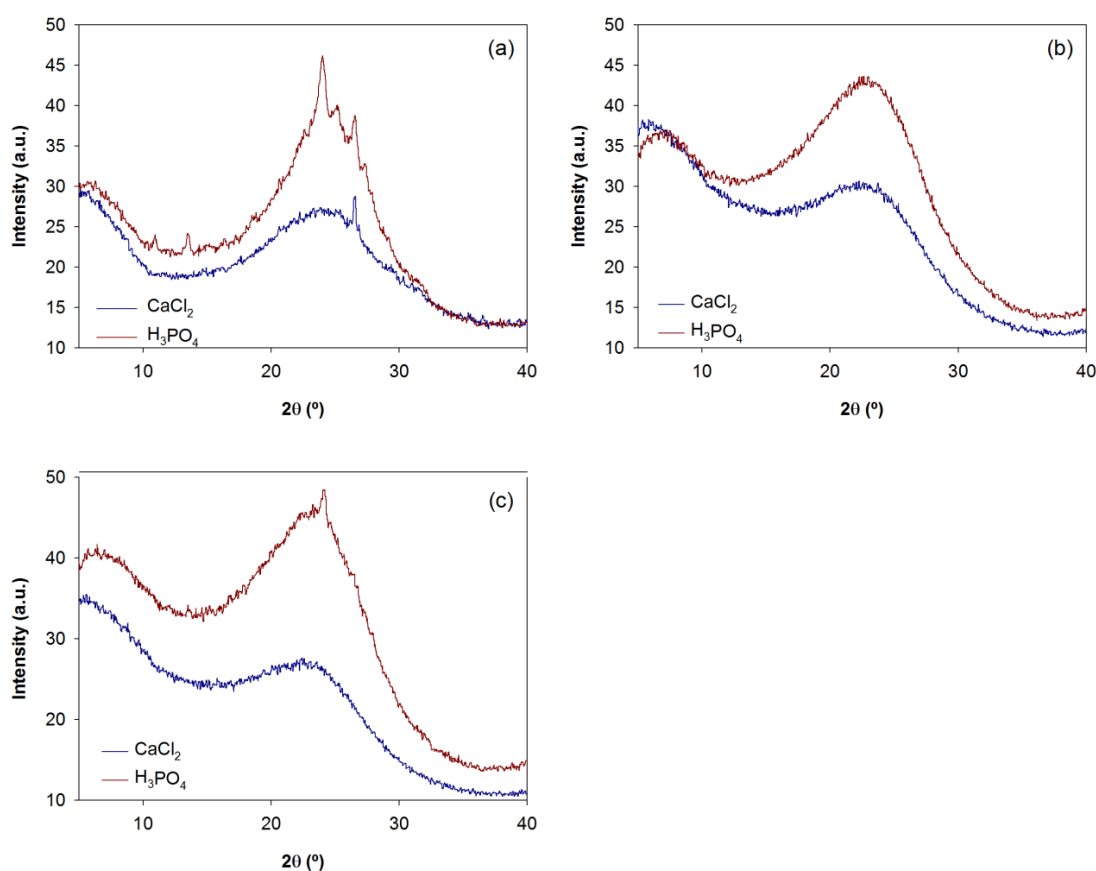


Figure 5.2. X-ray diffraction patterns for (a) carnauba leaves; (b) macauba endocarp and (c) pine nut shell, activated with H₃PO₄ and CaCl₂.

For all the charcoals under study, the X-ray powder diffraction patterns (Figure 5.2) show the presence of broad peaks, indicating that most of the samples are amorphous, which is a typical characteristic of porous adsorbents (Bouchelta et al., 2008). However, some peaks arise sporadically in the profile for the activated carbon obtained from carnauba leaves treated with H₃PO₄ (C_carnauba_H₃PO₄) and to a lesser

extent in those of the carbons obtained from carnauba leaves treated with CaCl_2 (C_carnauba_ CaCl_2) and from pine nut shell treated with H_3PO_4 (C_pine_nut_shell_ H_3PO_4), indicating the presence of a small fraction of crystalline material.

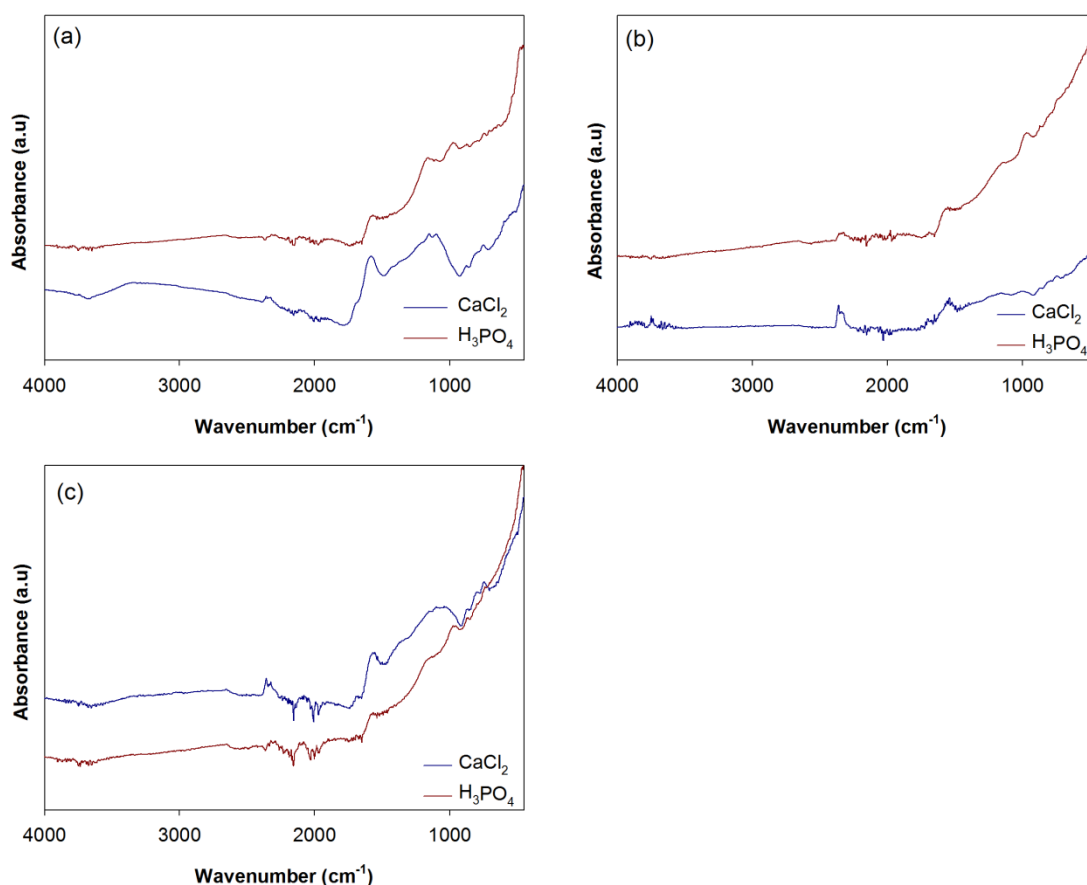


Figure 5.3. ATR-FTIR spectra for the carbons obtained from: (a) carnauba leaves, (b) macauba endocarp and (c) pine nut shell, activated with H_3PO_4 and CaCl_2 .

The chemical structure and functional groups of the prepared activated carbons have been studied by ATR-FTIR spectroscopy (Figure 5.3). The spectra can be interpreted on the basis of the characteristic vibration frequencies of the most common functional groups and structural components. The band at 2356 cm^{-1} , present in the coal derivatives obtained from macauba (for both impregnations), can be assigned to carbon–oxygen groups due to the presence of the ketone group or to CO_2 contamination. The band at around 1600 cm^{-1} , present in all the activated carbons, can be attributed to aromatic rings or to $\text{C}=\text{C}$ bonds and involves the presence of carbonyl groups and the aromatization of the precursor (Guo and Rockstraw, 2007). All charcoals also exhibit wide bands in the $1000\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$ range, with a maximum at 1160 cm^{-1} ,

due to absorption caused by oxidized carbons and to the presence of C–O stretching vibrations in acids, alcohols, phenols, ethers and esters (Freeman and Gimblett, 1988). Although this band was observed in all the spectra, it is more intense in the H₃PO₄ impregnated materials, because it is also characteristic of phosphorus and carbon-phosphorous compounds (Freeman et al., 1988), with the presence of hydrogen bonded P-O groups (Phan et al., 2006; Santhi et al., 2014) of phosphates or polyphosphates, the stretching vibrations of C-O bonds in (aromatic) P-O-C groups (Santhi et al., 2014) and in O=P-OH groups. For all impregnated carbons H₃PO₄ a shoulder can also be observed at 985 cm⁻¹, characteristic of the phosphate group, which is also associated with asymmetric stretching vibrations of C-O-P groups for pentavalent phosphorus (Brasquet et al., 2000). The peak at ca. 760 cm⁻¹ corresponds to C-Cl vibrations, for carbons activated with CaCl₂, and the band at 680 cm⁻¹ can be ascribed to C=O asymmetric vibration (Phan et al., 2006).

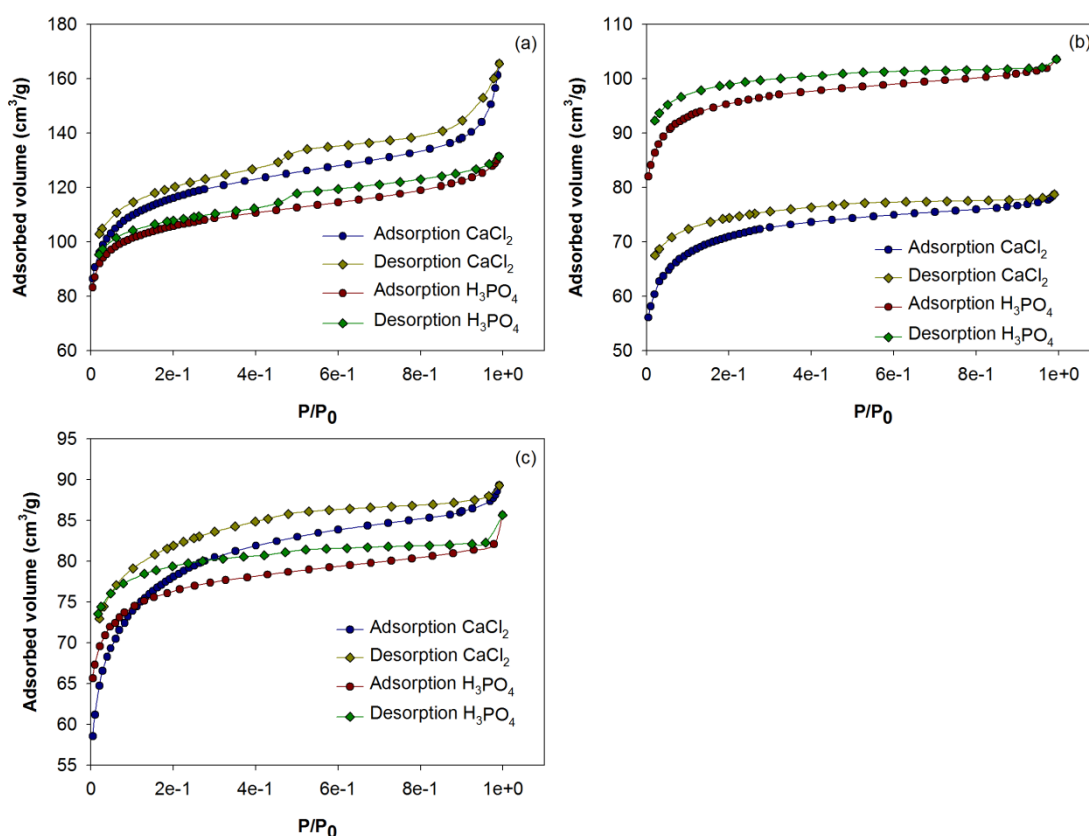


Figure 5.4. Nitrogen adsorption and desorption isotherms for the activated carbons obtained from: (a) carnauba leaves, (b) macauba endocarp and (c) pine nut shell.

According to the shape of the nitrogen adsorption-desorption isotherms (Figure 5.4), they can be identified as type IV with hysteresis cycles, in accordance with the IUPAC classification (Sing, 1985). Type IV isotherms are typical of mesoporous solids

(Zhou et al., 2009), where adsorption occurs in multilayers. This process is reflected in the central area of the upward isotherm as more layers on the solid surface are absorbed. Another property of type IV isotherms is the possibility of developing hysteresis loops, i.e., the adsorption and desorption curves do not match. Depending on the hysteresis curve type, in accordance with IUPAC, all our carbons exhibit a type H4 hysteresis, which is typical of complex materials containing both micropores and mesopores, such as activated carbons. Figure 5.5 shows the pore size distribution according to the Barrett–Joyner–Halenda (BJH) (Barrett et al., 1951) method. The highest concentration of pores occurs in the 20–50 Å range, confirming the presence of micropores and mesopores.

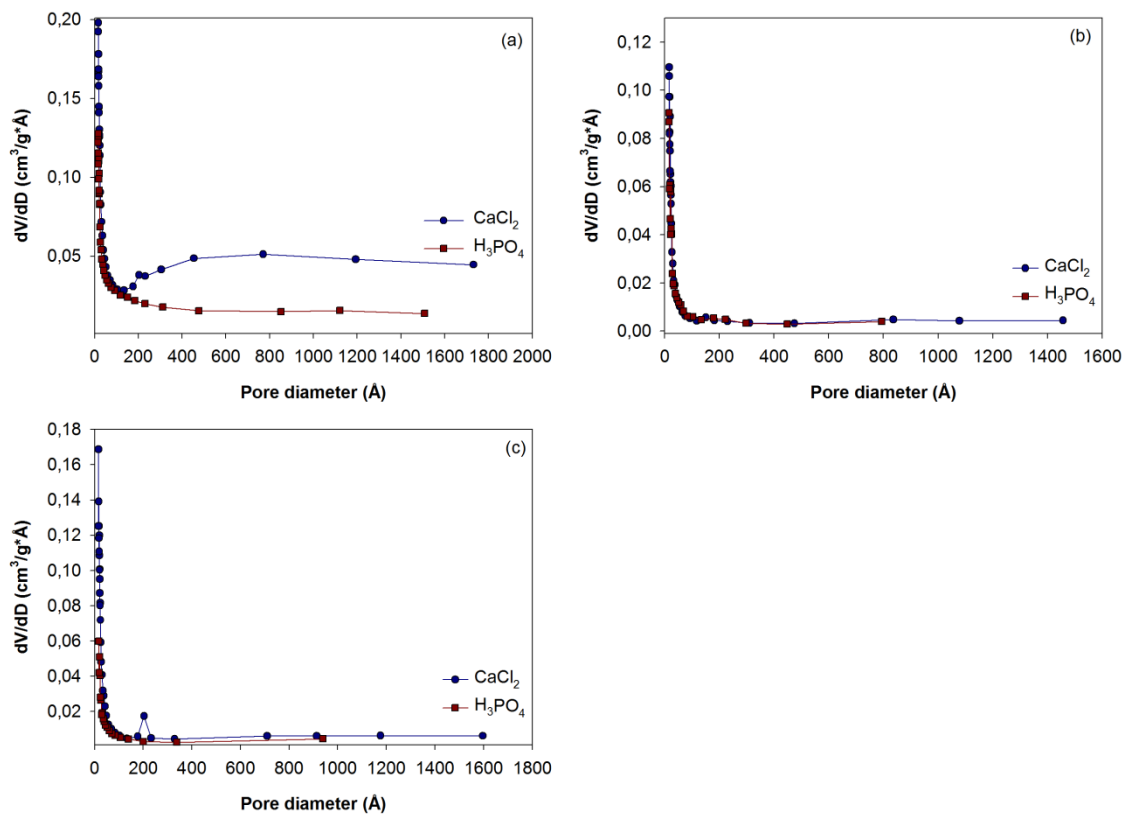


Figure 5.5. Pore volume distributions (DFT method) for the activated carbons obtained from: (a) carnauba leaves, (b) macauba endocarp and (c) pine nut shell.

The textural parameters for the carbonaceous materials are summarized in Table 5.3. The materials impregnated with H₃PO₄ have higher Brunauer–Emmett–Teller (BET) surface for macauba endocarp (371.12 m²/g) and pine nut shell (296.01 m²/g), whereas in the case of carnauba leaves the BET is higher for the carbon impregnated with CaCl₂ (402.43 m²/g). Pore volumes range from 0.12 to 0.24 cm³/g, and the highest

value corresponds again to C_carnauba_CaCl₂. The textural parameters for the activated carbons under study are within the ranges reported by other authors for different lignocellulosic residues, with surface areas ranging from 228 to 2410 m²/g and pore volumes in the 0.033–1.4 cm³/g range (Ioannidou and Zabaniotou, 2007; Zuo et al., 2009) . It is worth noting that CaCl₂ activated carbons have larger average pore sizes (18.25–23.16 Å) in comparison with those activated with H₃PO₄ (17.26–19.97 Å), so it can be inferred that CaCl₂ activation produces larger pores.

The textural parameters for the carbonaceous materials are summarized in Table 5.3. The materials impregnated with H₃PO₄ have higher Brunauer–Emmett–Teller (BET) surface for macauba endocarp (371.12 m²/g) and pine nut shell (296.01 m²/g), whereas in the case of carnauba leaves the BET is higher for the carbon impregnated with CaCl₂ (430.695 m²/g). Pore volumes range from 0.12 to 0.24 cm³/g, and the highest value corresponds again to C_carnauba_CaCl₂. The textural parameters for the activated carbons under study are within the ranges reported by other authors for different lignocellulosic residues, with surface areas ranging from 228 to 2410 m²/g and pore volumes in the 0.033–1.4 cm³/g range (Ioannidou and Zabaniotou, 2007; Zuo et al., 2009) . It is worth noting that CaCl₂ activated carbons have larger average pore sizes (18.25–23.16 Å) in comparison with those activated with H₃PO₄ (17.26–19.97 Å), so it can be inferred that CaCl₂ activation produces larger pores.

Table 5.3. Textural parameters for the carbonaceous materials and their precursors, obtained from the N₂ adsorption isotherm using standard conditions at 77K

Materials	BET surface area (m ² /g)	Pore volume (cm ³ /g)	Micropore volume (cm ³ /g)	Pore size (Å)
Carnauba leaves	0.8581	0.000359	0.000359	21.246
Macauba endocarp	0.6028	0.002019	-0.000111	133.99
Pine nut shell	0.8608	0.00316	-0.000163	146.97
C_carnauba_CaCl ₂	430.695	0.249375	0.121191	23.160
C_carnauba_H ₃ PO ₄	402.430	0.200946	0.123078	19.973
C_macauba_CaCl ₂	265.493	0.121151	0.082070	18.252
C_macauba_H ₃ PO ₄	371.126	0.160181	0.126290	17.264
C_pine_nut_shell_CaCl ₂	290.053	0.136993	0.082738	18.892
C_pine_nut_shell_H ₃ PO ₄	296.017	0.132521	0.100583	17.907

The surfaces of all the raw materials and active charcoals have been analyzed by scanning electron microscopy (see Figure 5.6). Although the micropores and mesopores

5. RHODAMINE B REMOVAL WITH ACTIVATED CARBONS OBTAINED FROM LIGNOCELLULOSIC WASTE

are not visible, the micrographs allow to observe the shape and location of macropores on the surface of the materials. By combining the pore size distribution obtained from nitrogen adsorption and the SEM micrographs, it is possible to obtain complete information on pores development during carbonization and activation. In the precursor materials no macropores are observed in the SEM micrographs. With regard to the activated carbons obtained from carnauba leaves, macropores are found primarily within the fiber, in analogy with those reported for the activation of different fibers by other authors (Brasquet et al., 2000; Phan et al., 2006). In the case of the carbons derived from macauba endocarp and pine nut shell, macropores appear distributed all throughout the material surface. The macropores for CaCl_2 activated carbons show more variability and are larger than those of the materials activated with H_3PO_4 . The distribution and shape of the pores in the activated carbons significantly vary depending on the raw material used.

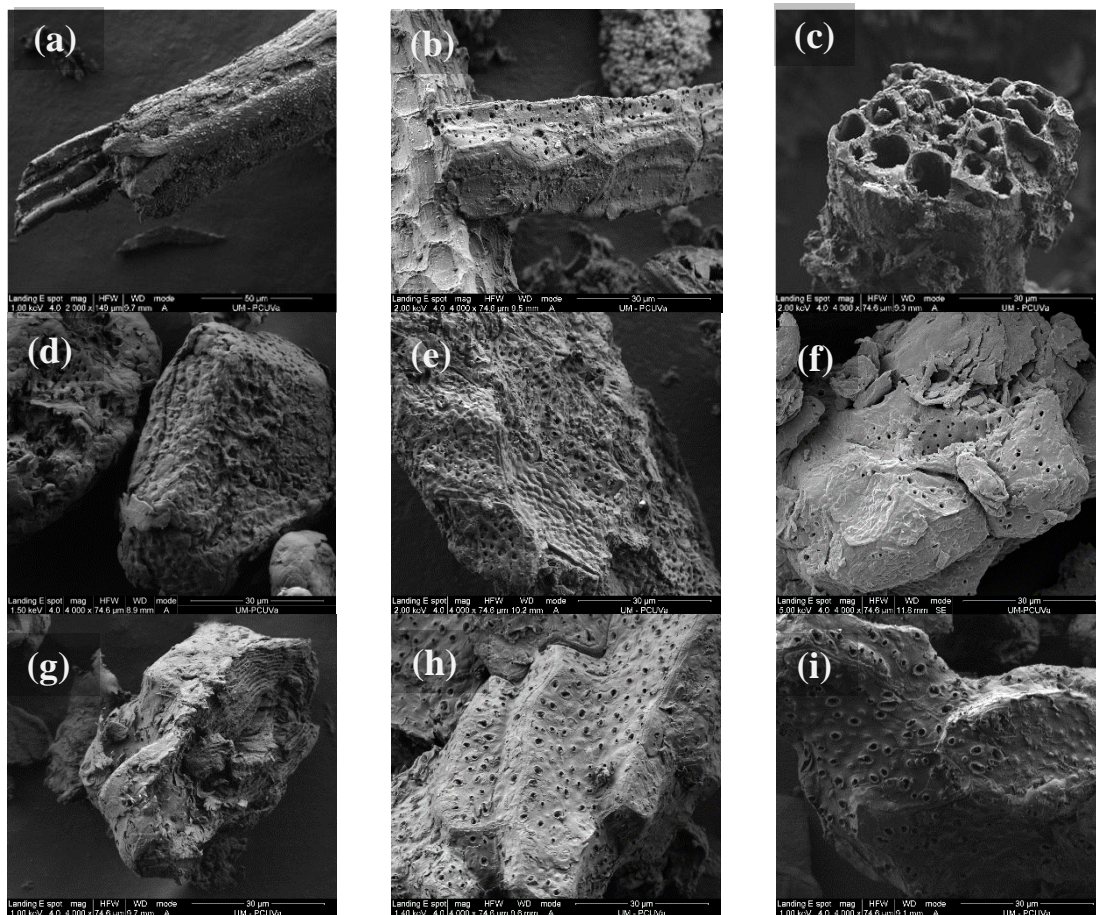


Figure 5.6. SEM micrographs of the precursor materials and their respective activated carbon samples: (a) carnauba leaves; (b) carnauba leaves treated with CaCl_2 ; (c) carnauba leaves treated with H_3PO_4 ; (d) macauba endocarp; (e) macauba endocarp treated with CaCl_2 ; (f) macauba endocarp treated with H_3PO_4 ; (g) pine nut shell; (h) pine nut shell treated with CaCl_2 ; (i) pine nut shell treated with H_3PO_4 .

5.4.3. Effect of pH on RhB adsorption capacity

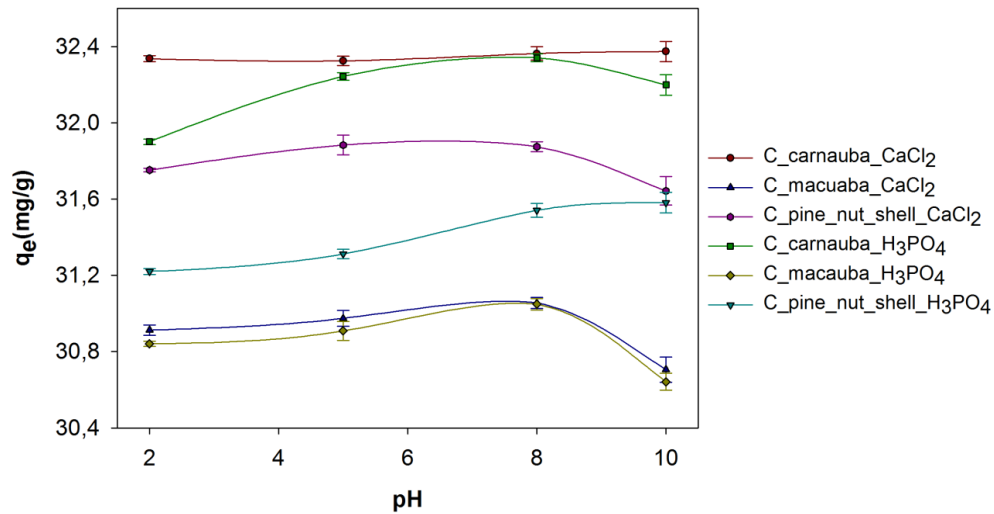


Figure 5.7. Effect of the pH of the solution on RhB adsorption (adsorbent dose=2 g/L; temperature=25°C, [RhB]₀=65 mg/L; contact time=120 min)

The pH of the solution can either promote or prevent the dye adsorption, since it can affect the surface charge of the adsorbent and the adsorbate species in solution (Lin et al., 2013). Figure 5.7 depicts the effect of the pH of the solution on RhB adsorption on the activated charcoals under study in the 2–10 pH range. As the pH increases from 2 to 8, a slight increase on the RhB adsorption capacity can be observed (confirmed by a one-way ANOVA), which is more pronounced for those carbons activated with H₃PO₄. At low pH values, the high concentration of H⁺ ions promotes the protonation of the functional groups of the adsorbent, charging it more positively and leading to repulsion of the cationic dye molecules. Moreover, at low pH values, the H⁺ ions compete with RhB molecules for the adsorption sites. On the other hand, when the pH of the solution is increased, the surface of the carbons gets negatively charged due to OH⁻ adsorption and deprotonation of functional groups, thus improving the adsorption by electrostatic attraction (Ahmad and Kumar, 2010). The decrease in the absorbance when the pH is higher than 8 is due to the formation of hydrated ions of RhB, which lead to a larger molecular structure (dimer) that hinders the entry of the dye into the pores of the material. This same behavior -with an increase in the absorption capacity and a subsequent decrease as the pH is increased- has also been reported in a study of RhB removal by activated carbon produced from *Acacia nilotica* leaves with H₂SO₄ (Santhi et al., 2014). Talebnia et al. (2010) also reported an optimal pH around 7 for the adsorption of RhB on montmorillonite ((Na,Ca)_{0.33}(Al,Mg)₂(Si₄O₁₀)(OH)₂·nH₂O). The

highest adsorption capacity the activated charcoals presented herein occurs at pH 8. Since the work system is designed to operate in natural waters at pH in the 6–8 interval, no pH adjustment was required for the tests on the effect of adsorbent dose discussed in next section.

5.4.4. Effect of activated carbon dosage on adsorption

Figure 5.8 shows the percentage of RhB removal as a function of the dose of activated charcoal. As expected, for all the activated carbon atoms under study, dye adsorption increased with increasing carbon concentration (e.g., from 87.6% to 99.85% for C_carnauba_CaCl₂). This increase in the removal percentage can be attributed to the increase in the available surface area and availability of more adsorption sites (Garg et al., 2004). On the basis of the results presented in Figure 5.8, it can be inferred that the most efficient activated charcoal dose is 4 g/L, since further increase in dose (6 or 8 g/L) does not lead to a significant increase in the removal of the dye. This can be attributed to overlapping or aggregation of adsorption sites, resulting in a decrease in total adsorbent surface area available to the pollutant and an increase in diffusion path length (Garg et al., 2004). The same behavior has also been reported by other authors, in relation to the absorption of RhB (Namasivayam et al., 2001) and to the adsorption of other dyes (Wang et al., 2010).

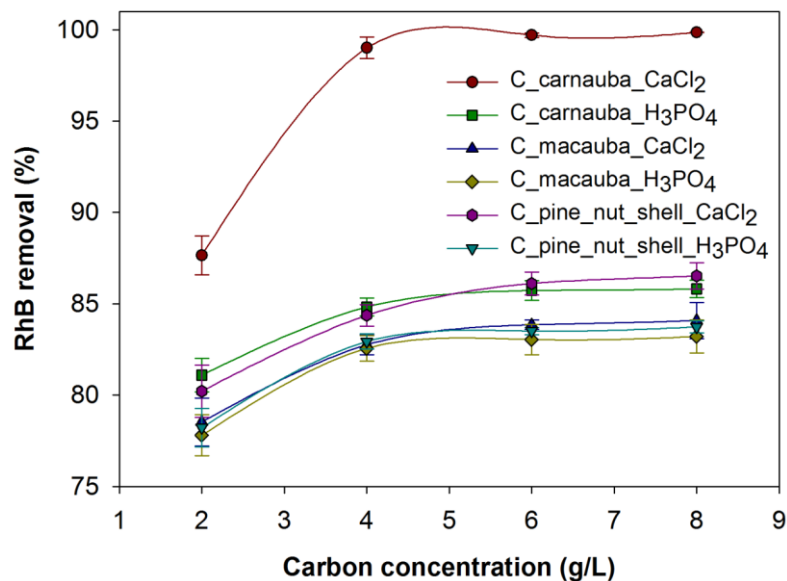


Figure 5.8. Effect of activated carbon dosage on RhB removal ([Rh-B]₀=80 mg/L, contact time=120 min; pH=7; temperature=25 °C).

5.4.5. Impact of contact time on RhB removal

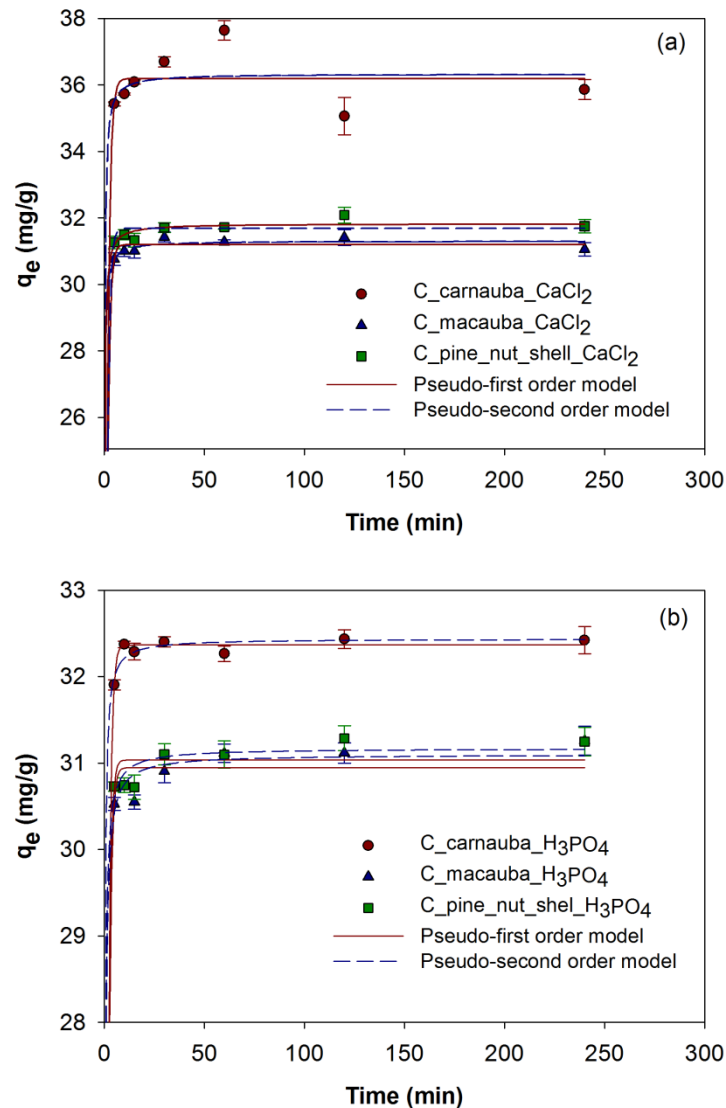


Figure 5.9. Effect of contact time on RhB adsorption for the different carbons activated with (a) CaCl_2 and (b) H_3PO_4 (pH=7; temperature=25 °C, $[\text{RhB}]_0=80$ mg/L; adsorbent dose=2 g/L). Fitting of the data conducted by kinetic models.

As it can be observed from Figure 5.9, the adsorption is very rapid at first and it gradually decreases till equilibrium is reached after 120 min, for all the activated carbons under study. In general, it can be assumed that the dyes removal mechanism, by adsorption, consists of the following steps (Lazaridis and Asouhidou, 2003): (i) diffusion across the fluid phase surrounding the adsorbent particles, i.e., external diffusion or film diffusion; (ii) diffusion in the liquid contained in the pores and/or along the pore walls, which is so-called internal diffusion or intra-particle diffusion; and (iii) adsorption and desorption between the adsorbate and active sites, i.e., mass action. The decrease in the amount of dye adsorption versus time may be due to aggregation

processes of the dye molecules. This aggregation can prevent migration of the adsorbate, saturate the adsorption sites and generate a resistance to diffusion of dye molecules. Other authors have also reported a similar behavior in the absorption of RhB, with a rapid initial phase followed by a gradually slower one (Fernandez et al., 2014; Gad and El-Sayed, 2009; Wang and Zhu, 2007).

5.4.6. Effect of dye initial concentration and solution temperature

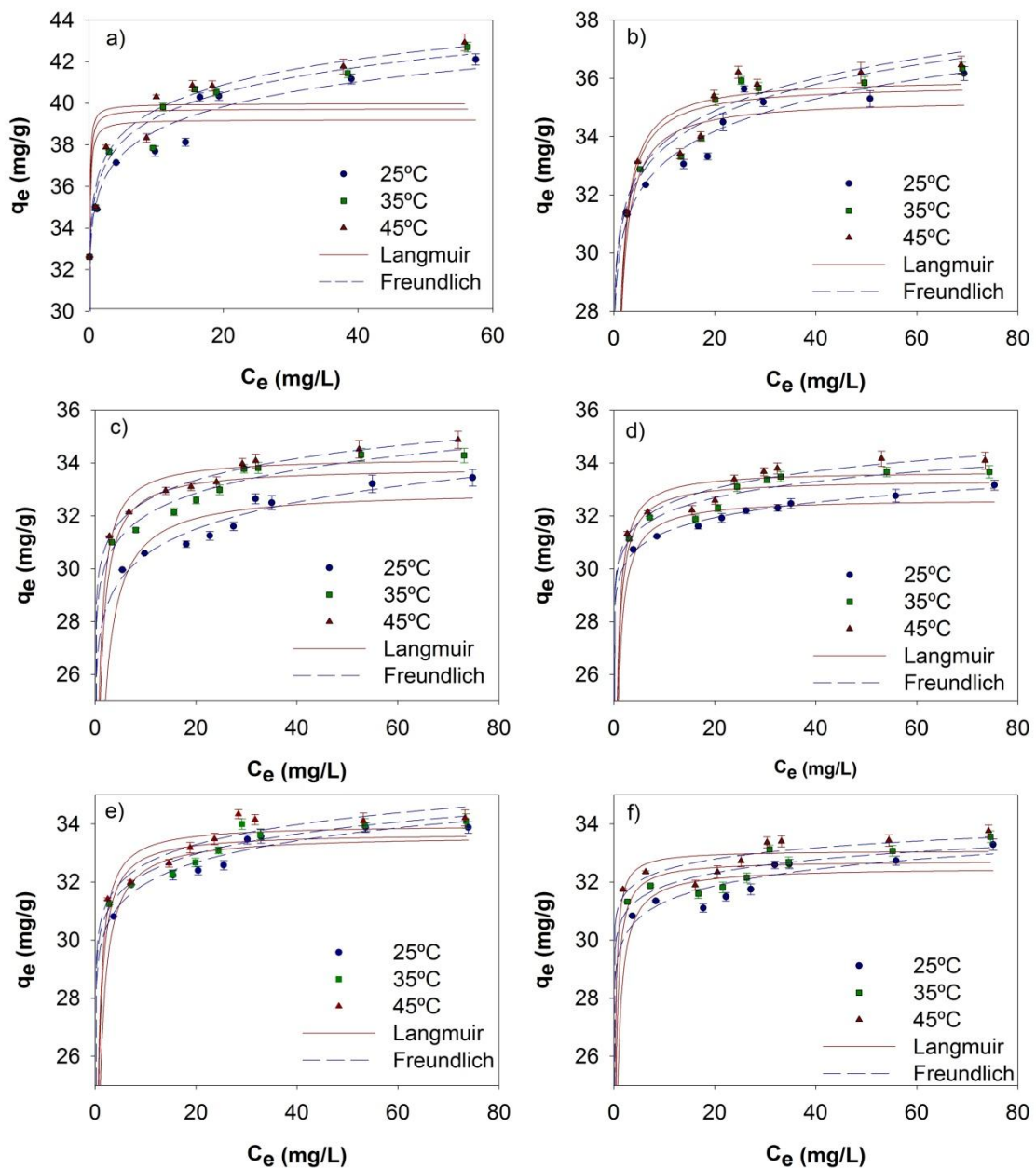


Figure 5.10. Effect of RhB initial concentration on the adsorption by (a) $C_{\text{carnauba_CaCl}_2}$; (b) $C_{\text{carnauba_H}_3\text{PO}_4}$; (c) $C_{\text{macauba_CaCl}_2}$; (d) $C_{\text{macauba_H}_3\text{PO}_4}$; (e) $C_{\text{pine_nut_shell_CaCl}_2}$; (f) $C_{\text{pine_nut_shell_H}_3\text{PO}_4}$ (pH=7; adsorbent dose=2 g/L; contact time=120 min) at three different temperatures (25, 35 and 45 °C). The data have been fitted according to Langmuir y Freundlich non-linear models.

Figure 5.10 depicts the effect of varying the initial RhB concentration on the adsorption for the different activated carbons at 25, 35 and 45 °C. An increase in the adsorption capacity with increasing dye concentration is observed. The largest increase occurs for C_carnauba_CaCl₂, for which it changes from 32.61 to 42.10 mg/L. This increase in adsorption capacity is probably due to the increase in the driving force of the concentration gradient, which decreases resistance to the mass transfer of ions between the aqueous medium and the sorbent (Aksu and Dönmez, 2003). This behavior has been widely reported in the literature (Gad and El-Sayed, 2009; Kadirvelu et al., 2005; Santhi et al., 2014).

Moreover, the increase in temperature also resulted in an increase in the adsorption capacity for all activated carbons. Amongst the different materials under study, C_macauba_CaCl₂ is the one with the most significant increase in the adsorption capacity, which changed from 33.44 mg/L at 25 °C to 34.87 mg/L at 45 °C. This increase in adsorption capacity with temperature is due to the fact that the process is endothermic, leading to an increase in the intraparticle diffusion speed of the dye in the pores or to the formation of new adsorption sites (Karthikeyan et al., 2005). Wang and Zhu (2007) also reported the endothermic nature of the RhB adsorption process on a commercial activated carbon pretreated with acid.

5.4.7. Kinetic study

The experimental data have been fitted by nonlinear regression to the two most commonly used kinetic models in the literature: the pseudo-first order model and the pseudo-second order model, which are described below.

The pseudo-first order model (Lagergren, 1898) considers that the occupation rate of adsorption sites is proportional to the number of unoccupied sites (see Eq. 5.2). By integrating this equation under conditions $q=0$ at $t=0$ and $q = q_t$ at $t=t$, Eq. 5.3 is obtained, where q_t (mg/g) is the absorption of the dye at time t , q_e (mg/g) is the adsorption capacity in equilibrium, t (min) is the exposure time and k_1 (h⁻¹) is the adsorption rate constant:

$$\frac{dq}{dt} = k_1 (q_e - q) \quad \text{Eq. 5.2}$$

$$q_t = q_e (1 - e^{-k_1 t}) \quad \text{Eq. 5.3}$$

The pseudo-second order model (Ho, 1995) describes how the adsorption mechanism follows a second-order reaction. The absorption rate is then proportional to the square of the number of unoccupied sites (see Eq. 5.4). By integrating this equation under the following conditions, $q=0$ at $t=0$ and $q=q_t$ at $t=t$, Eq. 5.5 is obtained, where k_2 (g/mg·h) is the rate constant of the pseudo-second order adsorption equation:

$$\frac{dq}{dt} = k_2 (q_e - q)^2 \quad \text{Eq. 5.4}$$

$$q_t = \frac{t}{1/k_2 q_e^2 + t/q_e} \quad \text{Eq. 5.5}$$

The adsorption kinetic fittings are shown in Figure 5.9, and all the calculated kinetic parameters are summarized in Table 5.4. C_carnauba_H₃PO₄ presents the fastest rate of dye removal (k_1), followed by C_carnauba_CaCl₂ > C_pine_nut_shell_CaCl₂ > C_macauba_CaCl₂ > C_pine_nut_shell_H₃PO₄ > C_macauba_H₃PO₄. Although correlation coefficients higher than 0.99 were obtained for all activated carbons under study for the pseudo-first order model, the calculated adsorption capacities ($q_{e,cal}$) were significantly different from the experimental values ($q_{e,exp}$) (Table 5.4). A similar situation has been reported by Ahmad et al. (2012), who observed that for very quick adsorption processes the r^2 values were similar for both the pseudo-first and the pseudo-second order models, and then attention should be paid to $q_{e,cal}$ values so as to distinguish which fitting is the most suitable. Consequently, it can be concluded that the fitting of the dye adsorption with a pseudo-first order is not good.

Table 5.4. Kinetic parameters for rhodamine B adsorption for the different activated carbons under study

Samples	$q_{e,exp}$	Pseudo-first order model			Pseudo-second order model		
		k_1 (min)	$q_{e,cal}$ (mg·g ⁻¹)	r^2	k_2 (g·mg ⁻¹ ·min ⁻¹)	$q_{e,cal}$ (mg·g ⁻¹)	r^2
C_carnauba_CaCl ₂	33.315	0.769	36.186	0.998	0.236	36.363	0.998
C_carnauba_H ₃ PO ₄	32.429	0.851	32.365	0.999	0.431	32.467	0.999
C_macauba_CaCl ₂	31.371	0.850	31.197	0.999	0.350	31.347	0.999
C_macauba_H ₃ PO ₄	31.099	0.856	30.948	0.999	0.280	31.055	0.999
C_pine_nut_shell_CaCl ₂	31.855	0.861	31.687	0.999	0.2987	31.847	0.999
C_pine_nut_shell_H ₃ PO ₄	31.184	0.920	31.035	0.999	0.332	31.152	0.999

On the other hand, when the pseudo-second order kinetic model is chosen, not only the correlation coefficients are higher than 0.99 (Table 5.4), but the calculated adsorption values ($q_{e,cal}$) are also in good agreement the experimental data ($q_{e,exp}$). This

better fitting to a pseudo-second-order model suggests that the adsorption rate is more dependent on the availability of adsorption sites than on the dye concentration in the solution. Similar phenomena have been observed for RhB adsorption different biosorbents (Kadirvelu et al., 2005; Wang et al., 2010).

5.4.8. Adsorption isotherms

The adsorption data for the different activated carbons have been fitted by non-linear Langmuir and Freundlich models. SigmaPlot™ v.10 (Systac Software Inc) software was used for these fittings.

The Langmuir model (Eq. 5.6) assumes that adsorption occurs in a monolayer, where the active sites are identical and energetically equivalent, that there are no interactions between the adsorbed molecules and that no transmigration of the molecules adsorbed takes place on the adsorption surface (Langmuir, 1918):

$$q_e = \frac{k_L q_{\max} C_e}{1 + k_L C_e} \quad \text{Eq. 5.6}$$

where q_e (mg/g) is the adsorption capacity in equilibrium, C_e (mg/L) is the pollutant concentration in equilibrium, k_L (L/mg) is the Langmuir constant related to the adsorption energy, which quantitatively reflects the affinity between the adsorbent and adsorbate, and q_{\max} (mg/g) is the theoretical maximum adsorption capacity.

The essential characteristics of the Langmuir adsorption isotherm can be expressed as a dimensionless constant, called *separation factor* or *equilibrium parameter* (R_L), which is defined by Eq. 5.7) (Hall et al., 1966):

$$R_L = \frac{1}{1 + k_L C_0} \quad \text{Eq. 5.7}$$

where C_0 is the initial dye concentration (mg/L). The R_L value indicates the shape of the isotherm, which can be irreversible ($R_L=0$), favorable ($0 < R_L < 1$), linear ($R_L=1$) or unfavorable ($R_L > 1$).

Freundlich isotherm is an empirical equation (Eq. 5.8) which considers the possibility of multilayer adsorption in multiple layers with a heterogeneous energy distribution of the active sites, accompanied by interactions between the adsorbed molecules (Freundlich, 1906):

5. RHODAMINE B REMOVAL WITH ACTIVATED CARBONS OBTAINED FROM LIGNOCELLULOSIC WASTE

$$q_e = k_F C_e^{1/n} \quad \text{Eq. 5.8}$$

where k_F ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})^{1/n}$) is the Freundlich constant, which is an indicator of the adsorptive capacity of an adsorbent for a solute, and n is a measure of the intensity of the adsorption or surface heterogeneity (a value closer to zero represents a more heterogeneous surface).

Table 5.5. Adsorption isotherm parameters for rhodamine B adsorption for the different activated carbons under study.

Sample	T (°C)	Langmuir constants				
		q_{\max} ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	K_L ($\text{L}\cdot\text{mg}^{-1}$)	r^2	R_L	σ
C_carnauba_CaCl ₂	25	39.218	38.881	0.976	3.21E-07	2.057
	35	39.732	43.164	0.975	2.90E-07	2.093
	45	39.983	52.488	0.975	2.38E-07	2.159
C_carnauba_H ₃ PO ₄	25	35.279	2.459	0.994	5.08E-06	0.891
	35	35.796	2.479	0.996	5.04E-06	0.779
	45	35.998	2.497	0.995	5.01E-06	0.809
C_macauba_CaCl ₂	25	32.959	1.505	0.996	8.31E-06	0.642
	35	33.830	2.661	0.996	4.70E-06	0.671
	45	34.217	3.123	0.998	4.00E-06	0.530
C_macauba_H ₃ PO ₄	25	32.651	3.492	0.998	3.58E-06	0.365
	35	33.363	3.973	0.998	3.15E-06	0.522
	45	33.694	4.241	0.997	2.95E-06	0.568
C_pine_nut_shell_CaCl ₂	25	33.606	2.688	0.998	4.65E-06	0.462
	35	33.685	3.795	0.997	3.29E-06	0.553
	45	33.971	4.131	0.998	3.03E-06	0.555
C_pine_nut_shell_H ₃ PO ₄	25	32.498	4.117	0.997	3.04E-06	0.601
	35	32.732	6.899	0.997	1.81E-06	0.589
	45	33.080	11.055	0.997	1.13E-06	0.560
Sample	T (°C)	Freundlich constants				
		K_F ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})^{1/n}$)	n	r^2	σ	
C_carnauba_CaCl ₂	25	35.062	23.463	0.997	0.703	
	35	35.601	23.211	0.997	0.635	
	45	35.953	23.285	0.998	0.613	
C_carnauba_H ₃ PO ₄	25	29.755	21.599	0.998	0.539	
	35	30.267	21.989	0.998	0.543	
	45	30.431	21.936	0.997	0.607	
C_macauba_CaCl ₂	25	27.459	21.832	0.999	0.333	
	35	29.306	26.191	0.999	0.325	
	45	30.039	28.644	0.999	0.155	
C_macauba_H ₃ PO ₄	25	29.555	38.655	0.999	0.094	
	35	30.141	36.983	0.999	0.339	
	45	30.333	35.1259	0.999	0.326	
C_pine_nut_shell_CaCl ₂	25	29.629	30.664	0.999	0.288	
	35	30.147	33.536	0.999	0.312	
	45	30.488	34.108	0.999	0.359	
C_pine_nut_shell_H ₃ PO ₄	25	29.506	38.957	0.999	0.392	
	35	30.406	49.314	0.999	0.408	
	45	31.1571	58.790	0.999	0.393	

The fittings of the experimental data to the Langmuir and Freundlich isotherm models at different temperatures are depicted in Figure 5.10. The correlation coefficients (r^2) and the constants obtained from the application of the Langmuir and Freundlich models are summarized in Table 5.5. In light of these data, Freundlich model has a better fit to the experimental data than Langmuir model in all cases. This reveals the heterogeneity of the surface of the activated carbons under study.

The R_L values (Table 5.5) confirm that the dye adsorption is favorable, with values below 1 for all the activated carbons. The maximum adsorption (q_{max}) for the different coals decrease in the following order: C_carnauba_CaCl₂ > C_carnauba_H₃PO₄ > C_macauba_CaCl₂ > C_pine_nut_shell_CaCl₂ > C_pine_nut_shell_H₃PO₄ > C_macauba_H₃PO₄. All the charcoals activated with CaCl₂ showed higher q_{max} values than those activated with H₃PO₄, as expected for the larger size of their pores (discussed above).

Table 5.6. Comparison of the maximum monolayer adsorption for RhB for the different activated carbons

Material	Activation	pH	Temperature (°C)	Absorbent dose (g/L)	Concentration range (mg/L)	q_{max} (mg/L)	Reference
Coir pith	Thermal	5.1	32	8.0	10–60	2.5	(Namasivayam et al., 2001)
Industrial wastes	Chemical (H ₂ SO ₄)	5.7	30	2.0	10–40	16.1	(Kadirvelu et al., 2005)
Phoenix Sylvestric leaves	Chemical (H ₂ SO ₄)	-	30	5.0	10-60	51.54	(Arivoli and Henkuzhali, 2008)
Parthenium biomass	Chemical (H ₃ PO ₄)	7.0	36	4.0	50–250	59.2	(Lata et al., 2008)
Carnauba leaves	Chemical (CaCl ₂)	-	45	2.0	65-140	39.98	This study
Carnauba leaves	Chemical (H ₃ PO ₄)	-	45	2.0	65-140	35.99	This study
Macauba endocarp	Chemical (CaCl ₂)	-	45	2.0	65-140	34.21	This study
Macauba endocarp	Chemical (H ₃ PO ₄)	-	45	2.0	65-140	33.69	This study
Pine nut shell	Chemical (CaCl ₂)	-	45	2.0	65-140	33.97	This study
Pine nut shell	Chemical (H ₃ PO ₄)	-	45	2.0	65-140	33.08	This study

Table 5.6 summarizes a comparison of the absorption capacity for the activated charcoals presented herein with others found in the literature (for a more general comparison of other lignocellulosic products as adsorbents, the interested reader is referred to, for example, the work by Parab et al. (2009). The activated carbons prepared from the selected lignocellulosic waste materials have adsorption capacities between 33.08 and 39.98 mg/g, comparable to the values reported for commercial activated

carbon (Bhadusha and Ananthabaskaran, 2012) and above the average of the values reported in the literature (which vary from 1.6 to 60.8 mg/L). Nonetheless, it should be noted that an accurate comparison is not feasible in this case, given the differences on the nature of the precursors, on the activation agents and on the operational conditions amongst the different studies.

5.4.9. Thermodynamic parameters

The thermodynamic parameters for the adsorption process have been estimated from the Langmuir constants (mmol/g). The enthalpy change (ΔH^0), the entropy change (ΔS^0) and the change in Gibbs free energy (ΔG^0) for the adsorption process can be calculated from the k_L constant and the temperature (T) using the following equations (Singh, 1988):

$$\Delta G^0 = -RT \cdot \ln K_L \quad \text{Eq. 5.9}$$

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T \cdot \Delta S^0 \quad \text{Eq. 5.10}$$

$$\ln K_L = (\Delta S^0 / RT) + (\Delta H^0 / R) \quad \text{Eq. 5.11}$$

where R is the ideal gas constant (8.314×10^{-3} kJ/mol·K), T is the temperature in Kelvin, and K_L is the distribution coefficient.

The thermodynamic parameters are summarized in Table 5.7. It can be observed that all the activated carbons under study have negative ΔG^0 values, so the processes are spontaneous in nature. It is also worth noting that ΔG^0 values become more negative with increasing temperature, which implies that the process is more spontaneous at higher temperatures. ΔH^0 was positive for all coals, indicating that the adsorption process is endothermic, and have values below 40 kJ mol^{-1} , characteristic of a physical-type absorption (Bhatnagar et al., 2009). The maximum monolayer RhB adsorption capacity (q_{\max}) increases when the temperature is increased from 25 to 45 °C, further confirming the endothermic nature of the process. The positive value of ΔS^0 suggests increased randomness at the solid/solution interface during the adsorption of RhB in the different activated charcoals.

Table 5.7. Thermodynamic parameters for RhB adsorption for the different activated carbons under study

Material	T (°C)	Thermodynamic parameters			
		ΔG^0 (kJ·mol ⁻¹)	ΔH^0 (kJ·mol ⁻¹)	ΔS^0 (J·mol ⁻¹ ·K ⁻¹)	r^2
C_carnauba_CaCl ₂	25	-9.069	11.778	69.82	0.963
	35	-9.641			
	45	-10.471			
C_carnauba_H ₃ PO ₄	25	-2.229	0.604	9.509	0.999
	35	-2.325			
	45	-2.419			
C_macauba_CaCl ₂	25	-1.013	28.921	100.965	0.916
	35	-2.506			
	45	-3.011			
C_macauba_H ₃ PO ₄	25	-3.098	7.679	36.244	0.972
	35	-3.532			
	45	-3.819			
C_pine_nut_shell_CaCl ₂	25	-2.449	17.032	65.709	0.903
	35	-3.415			
	45	-3.750			
C_pine_nut_shell_H ₃ PO ₄	25	-3.506	38.916	142.377	0.999
	35	-4.946			
	45	-6.353			

5.4.10. Preliminary assessment of the effect of cellulose content on RhB removal

From a comparison of the components for the lignocellulosic materials under study (Table 5.2) with the textural characteristics of their corresponding activated carbons (Table 5.3), it can be inferred that the BET surface area and pore volume increase with cellulose content. Cagnon et al. (2009), when using physical activation for the different individual components (cellulose, lignin and hemicellulose), concluded that the activated carbon obtained from cellulose had a higher pore volume (0.32 cm³/g) than those obtained from lignin (0.30 cm³/g) and hemicellulose (0.24 cm³/g). Khezami et al. (2005) also reported a higher mesopore content for the chemical activation (with KOH) of cellulose (0.049 cm³/g) in comparison to lignin (0.032 cm³/g) and hemicellulose (0.048 cm³/g).

Consequently, we have conducted a preliminary study aimed at assessing the impact of cellulose content on the RhB removal by adsorption. Pine nut shell has been selected for these tests, provided that its cellulose content is similar to that of macauba endocarp and lower than that of carnauba leaves (so there is more room for improvement). As indicated in the experimental section (subsection 5.3.4), the cellulose content was artificially increased prior to activation with H₃PO₄ by adding different

amounts of native cellulose (0 wt.%, 20 wt.% and 50 wt.%) to the pine nut shell lignocellulosic material. The respective RhB removal efficiencies are depicted Figure 5.11. It can be observed that the RhB removal significantly increases from 78% for the activated carbon obtained from pure pine nut shell to 97% when 50 wt.% of native cellulose was added for the same operational conditions. This improvement, as noted above, would be associated to the higher mesopore ratio for higher cellulose content, which favors RhB adsorption. A detailed study on the suitability of different combinations of native cellulose with lignocellulosic materials for activated charcoals production will be the objective of a further research.

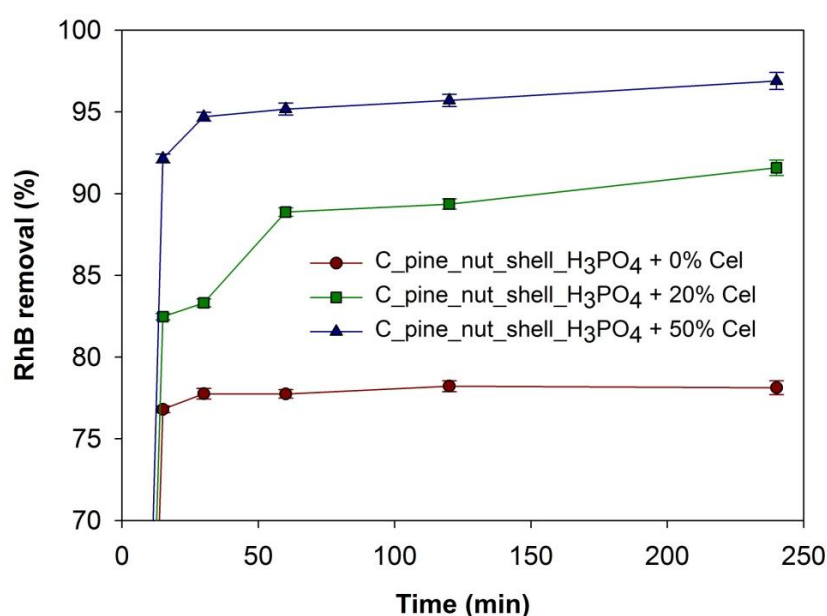


Figure 5.11. Effect of additional native cellulose dose on RhB removal using H_3PO_4 -activated carbons obtained from pine nut shell ($[RhB]_0=80$ mg/L, $pH=7$, activated carbon dose=2 g/L; temperature=25°C).

5.5. Conclusions

Adsorption studies have been conducted for the different activated carbons obtained from the three selected lignocellulosic waste materials (carnauba palm leaves, macauba endocarp and pine nut shell) to assess their capability to remove Rhodamine B in the aqueous phase. The adsorption process fits a pseudo-second order model, which suggests that the adsorption rate is more dependent on the availability of adsorption sites than on dye concentration, and the equilibrium data fit the Freundlich isotherm model, associated to multilayer adsorption and a heterogeneous energy distribution of

the active sites. The adsorptive capacity depends both on the lignocellulosic material used and on the activation procedure, attaining better results for CaCl_2 than H_3PO_4 activation as a consequence of enhanced mesopore formation. From the thermodynamic parameters (ΔH^0 , ΔS^0 and ΔG^0) it can be concluded that the physical adsorption process is endothermic and spontaneous for all the activated carbons, so they can be regarded as promising adsorbents for pollutants removal from aqueous solutions. Finally, the preliminary study on the impact of cellulose content (by adding native cellulose to the precursor) shows that its increase leads to an enhancement of the adsorption properties, associated to improved textural properties.

5.6. Acknowledgements

This work was supported by funds from Junta de Castilla y León under project VA036A12-2. Viviane da Silva would like to thank Universidad de Valladolid for its financial support (“Programa de Formación del Personal Investigador” PhD scholarship).

5.7. References

- Ahmad, F., Daud, W. M. A. W., Ahmad, M. A., and Radzi, R. (2012). Cocoa (*Theobroma cacao*) shell-based activated carbon by CO_2 activation in removing of Cationic dye from aqueous solution: Kinetics and equilibrium studies. *Chemical Engineering Research and Design* **90**, 1480-1490.
- Ahmad, R., and Kumar, R. (2010). Adsorption studies of hazardous malachite green onto treated ginger waste. *Journal of Environment Management* **91**, 1032-1038.
- Aksu, Z., and Dönmez, G. (2003). A comparative study on the biosorption characteristics of some yeasts for Remazol Blue reactive dye. *Chemosphere* **50**, 1075-1083.
- ANASI, and ASTM (1977). Standard test methods for lignin in wood D 1106-56. In "D 1106-56". American National Standards Institute (ANSI) and American Society for Testing and Materials (ASTM), Washington DC.

- ANSI, and ASTM (1977). Standard test methods for alpha-cellulose in wood D 1103-60. American National Standards Institute (ANSI) and American Society for Testing and Materials (ASTM), Washington DC.
- Arivoli, S., and Henkuzhali, M. (2008). Kinetic, mechanistic, thermodynamic and equilibrium studies on the adsorption of Rhodamine B by acid activated low cost carbon. *Journal of Chemistry* **5**, 187-200.
- Baccar, R., Bouzid, J., Feki, M., and Montiel, A. (2009). Preparation of activated carbon from Tunisian olive-waste cakes and its application for adsorption of heavy metal ions. *Journal of Hazardous Materials* **162**, 1522-1529.
- Bansode, R., Losso, J., Marshall, W., Rao, R., and Portier, R. (2004). Pecan shell-based granular activated carbon for treatment of chemical oxygen demand (COD) in municipal wastewater. *Bioresource technology* **94**, 129-135.
- Bhadusha, N., and Ananthabaskaran, T. (2012). Kinetic, Thermodynamic and Equilibrium Studies on Uptake of Rhodamine B onto ZnCl₂ Activated Low Cost Carbon. *E-Journal of Chemistry* **9**, 137-144.
- Bhatnagar, A., Kumar, E., Minocha, A. K., Jeon, B.-H., Song, H., and Seo, Y.-C. (2009). Removal of Anionic Dyes from Water using Citrus limonum (Lemon) Peel: Equilibrium Studies and Kinetic Modeling. *Separation Science and Technology* **44**, 316-334.
- Bouchelta, C., Medjram, M. S., Bertrand, O., and Bellat, J.-P. (2008). Preparation and characterization of activated carbon from date stones by physical activation with steam. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **82**, 70-77.
- Brasquet, C., Rousseau, B., Estrade-Szwarckopf, H., and Le Cloirec, P. (2000). Observation of activated carbon fibres with SEM and AFM correlation with adsorption data in aqueous solution. *Carbon* **38**, 407-422.
- Browning, B. L. (1967). Methods of wood chemistry. Volumes I & II. *Methods of wood chemistry. Volumes I & II*.
- Cagnon, B., Py, X., Guillot, A., Stoeckli, F., and Chambat, G. (2009). Contributions of hemicellulose, cellulose and lignin to the mass and the porous properties of chars and steam activated carbons from various lignocellulosic precursors. *Bioresource Technology* **100**, 292-298.

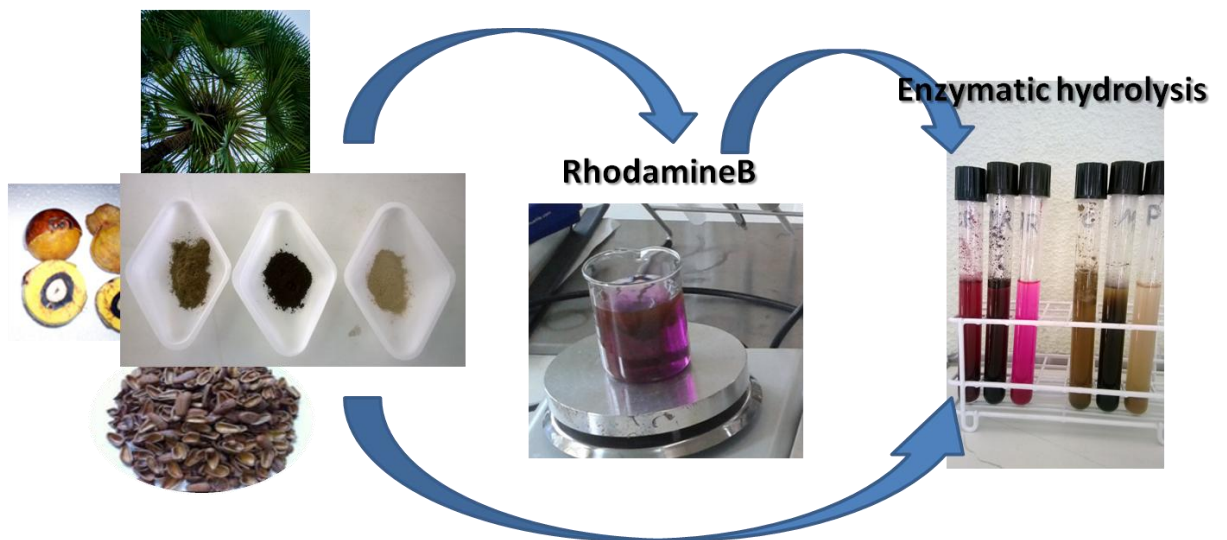
- Chen, S., Zhang, J., Zhang, C., Yue, Q., Li, Y., and Li, C. (2010). Equilibrium and kinetic studies of methyl orange and methyl violet adsorption on activated carbon derived from *Phragmites australis*. *Desalination* **252**, 149-156.
- da Silva Lacerda, V., López-Sotelo, J. B., Correa-Guimarães, A., Hernández-Navarro, S., Sánchez-Bascones, M., Navas-Gracia, L. M., Martín-Ramos, P., Pérez-Lebeña, E., and Martín-Gil, J. (2015). A kinetic study on microwave-assisted conversion of cellulose and lignocellulosic waste into hydroxymethylfurfural/furfural. *Bioresource Technology* **180**, 88-96.
- de Luna, M. D. G., Flores, E. D., Genuino, D. A. D., Futralan, C. M., and Wan, M.-W. (2013). Adsorption of Eriochrome Black T (EBT) dye using activated carbon prepared from waste rice hulls—Optimization, isotherm and kinetic studies. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* **44**, 646-653.
- de Souza Macedo, J. (2005). Aproveitamento dos resíduos do beneficiamento de fibras de coco na obtenção de um eco-material: carbono ativado mesoporoso, Universidade Federal de Sergipe, Sao Cristovao, Brasil.
- Fernandez, M. E., Nunell, G. V., Bonelli, P. R., and Cukierman, A. L. (2014). Activated carbon developed from orange peels: Batch and dynamic competitive adsorption of basic dyes. *Industrial Crops and Products* **62**, 437-445.
- Forgacs, E., Cserhádi, T., and Oros, G. (2004). Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review. *Environment International* **30**, 953-971.
- Freeman, J. J., and Gimblett, F. G. R. (1988). Studies of activated charcoal cloth. IV. Influence of phosphate impregnants on the rate of activation in carbon dioxide gas. *Carbon* **26**, 501-505.
- Freeman, J. J., Gimblett, F. G. R., Roberts, R. A., and Sing, K. S. W. (1988). Studies of activated charcoal cloth. III. Mesopore development induced by phosphate impregnants. *Carbon* **26**, 7-11.
- Freundlich, H. (1906). "Über die Adsorption in Lösungen," Wilhelm Engelmann, Leipzig.
- Gad, H. M. H., and El-Sayed, A. A. (2009). Activated carbon from agricultural by-products for the removal of Rhodamine-B from aqueous solution. *Journal of Hazardous Materials* **168**, 1070-1081.

- Garg, V. K., Kumar, R., and Gupta, R. (2004). Removal of malachite green dye from aqueous solution by adsorption using agro-industry waste: a case study of *Prosopis cineraria*. *Dyes and Pigments* **62**, 1-10.
- Gómez, A., Klose, W., and Rincón, S. (2008). Pirólisis de biomasa: cuesco de palma de aceite, Kassel University Press GmbH, Kassel, Germany.
- Guo, Y., and Rockstraw, D. A. (2007). Physicochemical properties of carbons prepared from pecan shell by phosphoric acid activation. *Bioresource Technology* **98**, 1513-1521.
- Hall, K. R., Eagleton, L. C., Acrivos, A., and Vermeulen, T. (1966). Pore- and Solid-Diffusion Kinetics in Fixed-Bed Adsorption under Constant-Pattern Conditions. *Industrial & Engineering Chemistry Fundamentals* **5**, 212-223.
- Hao, W., Björkman, E., Lilliestråle, M., and Hedin, N. (2013). Activated carbons prepared from hydrothermally carbonized waste biomass used as adsorbents for CO₂. *Applied Energy* **112**, 526-532.
- Ho, Y.-S. (1995). Absorption of heavy metals from waste streams by peat, University of Birmingham, Birmingham, United Kingdom.
- Hosseini, S., Khan, M. A., Malekbala, M. R., Cheah, W., and Choong, T. S. (2011). Carbon coated monolith, a mesoporous material for the removal of methyl orange from aqueous phase: Adsorption and desorption studies. *Chemical Engineering Journal* **171**, 1124-1131.
- Ioannidou, O., and Zabaniotou, A. (2007). Agricultural residues as precursors for activated carbon production—A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **11**, 1966-2005.
- Jagtoyen, M., and Derbyshire, F. (1998). Activated carbons from yellow poplar and white oak by H₃PO₄ activation. *Carbon* **36**, 1085-1097.
- Kadirvelu, K., Karthika, C., Vennilamani, N., and Patabhi, S. (2005). Activated carbon from industrial solid waste as an adsorbent for the removal of Rhodamine-B from aqueous solution: Kinetic and equilibrium studies. *Chemosphere* **60**, 1009-1017.

- Kalderis, D., Bethanis, S., Paraskeva, P., and Diamadopoulou, E. (2008). Production of activated carbon from bagasse and rice husk by a single-stage chemical activation method at low retention times. *Bioresource Technology* **99**, 6809-6816.
- Karthikeyan, T., Rajgopal, S., and Miranda, L. R. (2005). Chromium(VI) adsorption from aqueous solution by Hevea Brasilinesis sawdust activated carbon. *Journal of Hazardous Materials* **124**, 192-199.
- Khezami, L., Chetouani, A., Taouk, B., and Capart, R. (2005). Production and characterisation of activated carbon from wood components in powder: Cellulose, lignin, xylan. *Powder Technology* **157**, 48-56.
- Klasson, K. T., Wartelle, L. H., Rodgers III, J. E., and Lima, I. M. (2009). Copper (II) adsorption by activated carbons from pecan shells: Effect of oxygen level during activation. *Industrial crops and products* **30**, 72-77.
- Kong, J., Yue, Q., Huang, L., Gao, Y., Sun, Y., Gao, B., Li, Q., and Wang, Y. (2013). Preparation, characterization and evaluation of adsorptive properties of leather waste based activated carbon via physical and chemical activation. *Chemical Engineering Journal* **221**, 62-71.
- Lagergren, S. (1898). "Zur Theorie der sogenannten Absorption gelöster Stoffe," PA Norstedt & söner, Stockholm.
- Langmuir, I. (1918). The adsorption of gases on plane surface of glass, mica and platinum. *Journal of the American Chemical Society* **40**, 1361-1403.
- Lata, H., Mor, S., Garg, V. K., and Gupta, R. K. (2008). Removal of a dye from simulated wastewater by adsorption using treated parthenium biomass. *Journal of Hazardous Materials* **153**, 213-220.
- Lazaridis, N. K., and Asouhidou, D. D. (2003). Kinetics of sorptive removal of chromium(VI) from aqueous solutions by calcined Mg-Al-CO₃ hydrotalcite. *Water Research* **37**, 2875-2882.
- Lin, L., Zhai, S.-R., Xiao, Z.-Y., Song, Y., An, Q.-D., and Song, X.-W. (2013). Dye adsorption of mesoporous activated carbons produced from NaOH-pretreated rice husks. *Bioresource Technology* **136**, 437-443.

- Lo, S.-F., Wang, S.-Y., Tsai, M.-J., and Lin, L.-D. (2012). Adsorption capacity and removal efficiency of heavy metal ions by Moso and Ma bamboo activated carbons. *Chemical Engineering Research and Design* **90**, 1397-1406.
- Metcalf, and Eddy (2003). "Wastewater engineering: Treatment and reuse," Nueva York.
- Namasivayam, C., Radhika, R., and Suba, S. (2001). Uptake of dyes by a promising locally available agricultural solid waste: coir pith. *Waste Management* **21**, 381-387.
- Ng, C., Marshall, W. E., Rao, R. M., Bansode, R. R., and Losso, J. N. (2003). Activated carbon from pecan shell: process description and economic analysis. *Industrial crops and products* **17**, 209-217.
- Ouensanga, A., and Picard, C. (1988). Thermal degradation of sugar cane bagasse. *Thermochimica Acta* **125**, 89-97.
- Parab, H., Sudersanan, M., Shenoy, N., Pathare, T., and Vaze, B. (2009). Use of Agro-Industrial Wastes for Removal of Basic Dyes from Aqueous Solutions. *CLEAN – Soil, Air, Water* **37**, 963-969.
- Paraskeva, P., Kalderis, D., and Diamadopoulos, E. (2008). Production of activated carbon from agricultural by-products. *Journal of chemical technology and biotechnology* **83**, 581-592.
- Pastor-Villegas, J., Pastor-Valle, J. F., Rodríguez, J. M. M., and García, M. G. (2006). Study of commercial wood charcoals for the preparation of carbon adsorbents. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **76**, 103-108.
- Peláez-Cid, A. A., and Teutli-León, M. M. (2012). Lignocellulosic precursors used in the elaboration of activated carbon. In "Lignocellulosic Precursors Used in the Synthesis of Activated Carbon-Characterization Techniques and Applications in the Wastewater Treatment" (V. H. M. a. A. B. Petriciolet, ed.).
- Phan, N. H., Rio, S., Faur, C., Le Coq, L., Le Cloirec, P., and Nguyen, T. H. (2006). Production of fibrous activated carbons from natural cellulose (jute, coconut) fibers for water treatment applications. *Carbon* **44**, 2569-2577.
- Santhi, T., Prasad, A. L., and Manonmani, S. (2014). A comparative study of microwave and chemically treated *Acacia nilotica* leaf as an eco friendly adsorbent for the removal of rhodamine B dye from aqueous solution. *Arabian Journal of Chemistry* **7**, 494-503.

- Sing, K. S. W. (1985). Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity (Recommendations 1984). In "Pure and Applied Chemistry", Vol. 57, pp. 603.
- Talebnia, F., Karakashev, D., and Angelidaki, I. (2010). Production of bioethanol from wheat straw: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation. *Bioresource Technology* **101**, 4744-4753.
- Wang, L., Zhang, J., Zhao, R., Li, C., Li, Y., and Zhang, C. (2010). Adsorption of basic dyes on activated carbon prepared from *Polygonum orientale* Linn: Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies. *Desalination* **254**, 68-74.
- Wang, S., and Zhu, Z. H. (2007). Effects of acidic treatment of activated carbons on dye adsorption. *Dyes and Pigments* **75**, 306-314.
- Zaini, M. A. A., Amano, Y., and Machida, M. (2010). Adsorption of heavy metals onto activated carbons derived from polyacrylonitrile fiber. *Journal of Hazardous Materials* **180**, 552-560.
- Zhou, A., Ma, X., and Song, C. (2009). Effects of oxidative modification of carbon surface on the adsorption of sulfur compounds in diesel fuel. *Applied Catalysis B: Environmental* **87**, 190-199.
- Zuo, S., Yang, J., Liu, J., and Cai, X. (2009). Significance of the carbonization of volatile pyrolytic products on the properties of activated carbons from phosphoric acid activation of lignocellulosic material. *Fuel Processing Technology* **90**, 994-1001.



**6. AN EXAMPLE
LIGNOCELLULOSIC WASTE REUSE
IN TWO CONSECUTIVE STEPS:
SORPTION OF CONTAMINANTS
AND ENZYMATIC HYDROLYSIS**

An example lignocellulosic waste reuse in two consecutive steps: sorption of contaminants and enzymatic hydrolysis

Viviane da Silva^a, Juan B. López-Sotelo^a, Adriana Correa-Guimaraes^a, Salvador Hernández-Navarro^a, Mercedes Sánchez-Báscones^a, Luis M. Navas-Gracia^a, Pablo Martín-Ramos^a and Jesús Martín-Gil^{a*}

^aAgricultural and Forestry Engineering Department, ETSIIAA, Universidad de Valladolid, Avenida de Madrid 44, 34004 Palencia, Spain.

² Department of Agricultural and Environmental Sciences, Higher Polytechnic School of Huesca, Universidad de Zaragoza, Carretera de Cuarte s/n, 22071, Huesca, Spain

* Corresponding author: jesusmartingil@gmail.com, +34 (979) 108347

(Aceptado el 30-03-2015 en Cellulose Chemistry and Technology. Article Type: Original research paper)

6.1. Abstract

In this study an example of the reuse and revalorization of lignocellulosic waste from carnauba palm (*Copernicia prunifera*) leaves, macauba palm (*Acrocomia aculeata*) endocarp (shell) and European stone pine (*Pinus pinea*) nut shell is presented for the first time. The physical-chemical adsorption of Rhodamine B (RhB) dye for the different materials is studied in detail, together with the thermodynamic feasibility and the spontaneous and endothermic nature of the biosorption process. Subsequently, the production of total reducing sugars (TRS) is compared by enzymatic hydrolysis (before and after the adsorption process of the RhB pollutant), confirming the viability of TRS production in all cases, with yields ranging from 65.9% for pine nut shell (after adsorption) to 74.9% for the carnauba endocarp and to 84.0% for carnauba leaves (before adsorption). Hence the use of lignocellulosic materials as adsorbents does not preclude their ulterior reuse for obtaining fermentable sugars by enzymatic hydrolysis.

Keywords: carnauba; enzymatic hydrolysis; fermentable sugars; lignocellulosic residues; macauba; pine nut shell; reuse.

6.2. Introduction

Lignocellulosic biomass consists of three main components, namely cellulose, hemicellulose and lignin, in such a way in which cellulose and hemicellulose are densely packed and covered by layers of lignin, which protect them from enzymatic hydrolysis. Therefore it is necessary to have a pre-treatment stage in order to cause the rupture of lignin layers, making the cellulose and hemicellulose more accessible to the enzymes (Jones and Vasudevan, 2010; Ramakrishnan et al., 2010; Wu et al., 2011).

Chemical pre-treatments have serious disadvantages, such as the production of harmful by-products that interfere with the activity and removal of the enzymes. In comparison to chemical methods, biological pre-treatment is deemed as a safe and environmentally-friendly method to breakdown lignin from lignocellulose (Binod et al., 2012). The enzymatic hydrolysis or saccharification aims to produce depolymerisation of cellulose and hemicellulose to hexose and pentose, two carbohydrates which are considered to have significant potential for biofuel production (González-García et al., 2010).

In the work presented herein, three agricultural residues with a forestry origin have been chosen to assess the adsorption of contaminants: (i) leaves from carnauba palm (*Copernicia prunifera*), used for wax production (Melo et al., 2012); (ii) endocarp or shell from macauba palm (*Acrocomia aculeata*), used for the production of biodiesel (Lopes et al., 2013); and (iii) European stone pine nut shell (*Pinus pinea*), which is used for the production of biogas. The approach of this research is an integrated study of the utilization of lignocellulosic wastes with a twofold purpose: firstly, to make use of them as adsorbents for the removal of toxic or hazardous dyes in liquid effluents and, subsequently (once the dye has been adsorbed), to reuse them for sugars production by saccharification or enzymatic hydrolysis. Thus, the TRS yields have first been determined for the bare lignocellulosic materials and have then been compared with those attained after dye adsorption, assessing their viability for the production of these biofuel precursors.

6.3. Material and methods

6.3.1. Characterization of lignocellulosic waste

Carnauba palm leaves (*Copernicia prunifera*) from Ceará (Brazil), macauba palm endocarp (*Acrocomia aculeata*) from Minas Gerais (Brazil) and European stone pine nut shell (*Pinus pinea*) from Valladolid (Spain) were used as lignocellulosic raw materials. The materials were dried in an oven (105°C, 24 hours) and were subsequently grounded and sieved through a 0.5 mm mesh.

The pH at point zero charge (pH_{PZC}) was determined by the solids addition method (Balistrieri and Murray, 1981) using a 0.01 M KNO_3 solution. The concentrations of acidic and basic surface functional groups were determined by Boehm titration method (Boehm, 1994). C, H and N contents were measured using a Leco CHN-600 Elemental Analyzer. The oxygen content was calculated by subtraction. The adsorption capacity was determined using methylene blue (MB) index (Baccar et al., 2009) and the iodine absorption index, which was measured according to ASTM D4607-94 norm.

Accessible surface area measurement techniques can be conducted on the substrate either its dry state (physical gas adsorption/desorption, BET surface determination) or in its wet state (e.g., solute exclusion, iodine index or methylene blue index). In the former, an inert gas, mostly nitrogen, is adsorbed on the surface of a solid material. This occurs on the outer surface and, in case of porous materials, also on the surface of pores. Adsorption of nitrogen at a temperature of 77 K leads to a so-called adsorption isotherm, sometimes referred to as BET isotherm. Nonetheless, gas adsorption methods have limitations: they typically result in an over-estimation of the material accessibility due to the fact that the molecular size of the probe gas is much smaller than cellulase enzymes, and require a prior drying of the substrate, which makes them typically less effective in determining the pore volume due to the fact that water removal from non-rigid porous materials could produce partial irreversible collapse of pores (Choudhary et al., 2012). On the other hand, some of the techniques capable of measuring the substrate in its wet state, such as the solute exclusion (Lin et al., 1987), require significant experiment time and only measure the interior surface of the cellulose (Wang et al., 2012). Consequently, in this study we have resorted to a combination of both types of measurements: the pore structure of samples has been characterized in their dry state by nitrogen adsorption at 77 K with an accelerated surface area and porosimetry system

Micromeritics ASAP 2020 (prior to analysis, samples were degassed for 2 h under vacuum at 393 K and were then transferred to the analysis system where they were cooled in liquid nitrogen) and in their wet state by iodine and methylene blue indices (Shrestha et al., 2012), mentioned above, since the adsorbents are used in an aqueous system.

The surface morphology of the raw materials was observed with the aid of scanning electron microscopy (SEM) in an ESEM FEI Quanta 200F. Samples were coated with gold and observed using a 20 kV voltage.

6.3.2. Rhodamine B adsorption experiments

Batch adsorption experiments were used to investigate the adsorption of Rhodamine B in the different lignocellulosic materials. All adsorption experiments were carried out with a $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ adsorbent concentration, and the amount adsorbed per biosorbent mass unit has been expressed in $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$. In order to determine the effect on the adsorption of the variations in the initial Rhodamine-B concentration ($1\text{-}35 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), tests were carried out at 25°C for 120 min. These tests were repeated at 35°C and 45°C so as to assess the effect of temperature variation in dye adsorption for the materials under study. The influence of contact time was investigated using the same initial dye concentration, $C_0=5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, for carnauba leaves and pine nut shell, and $C_0=20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for macauba endocarp, varying the contact time from 5 to 240 min. After the biosorption process, the solutions were filtered and dye concentration was measured using a Hitachi U-2001 spectrophotometer (at 553 nm). After the adsorption, the different lignocellulosic materials used as biosorbents were filtrated, washed and dried. These materials were subsequently used for the enzymatic hydrolysis assays.

It should be clarified that only ca. 3% of the adsorbed dye was desorpted during aforementioned washing process with distilled water, on the basis of Rhodamine B concentration measurements conducted for the washing solution, in good agreement with Zahir *et al.*(2014)

6.3.3. Saccharization or enzymatic hydrolysis

Saccharification or enzymatic hydrolysis was performed for the aforementioned lignocellulosic materials before RhB adsorption: carnauba leaves (C), macauba shell (M) and pine nut shell (P); and after RhB adsorption: carnauba leaves (C_R), macauba

shell (M_R) and pine nut shell (P_R). No pretreatment was conducted, although carrying out a pretreatment of the lignocellulosic materials would be needed in order to achieve reasonable rates in extensive conversion by enzymatic hydrolysis (Mosier, 2005). For the enzymatic hydrolysis, 0.5 g of sample were immersed in a 10 mL citrate buffer (0.05 M, pH 5) solution with a cocktail of six enzymes. Six laboratory grade enzyme solutions from Novozymes were used: NS22086 (cellulase) (200 μ L enzyme per 1 g of dry biomass), NS 22118 (β -glucosidase, arabinase and β -glucanase) (40 μ L enzyme per 1 g of dry biomass), NS22083 (xylanase) (40 μ L enzyme per 1 g of dry biomass), NS 22002 (β -glucanase and xylanase) (40 μ L enzyme per 1 g of dry biomass), NS22119 (cellulase, hemicellulase, pectinase and xylanase) (40 μ L enzyme per 1 g of dry biomass) and NS22035 (glucoamylase) (40 μ L enzyme per 1 g of dry biomass). The declared activity for each enzyme was 1000 endoglucanase units (EGU)/g, 250 cellobiase units (CBU)/g, 100 fungal β -glucanase units (FBG)/g, 13700 polygalacturonase units (PGU)/g, 2500 fungal xylanase units (FXU-S)/g, 45 FBG/g, and 750 PGU (Heredia-Olea et al., 2014). The incubation time was 72 h at 50°C, in a Heidoph Reax 2 rotary shaker. All experiments were performed in triplicate and the reported values correspond to the average.

6.3.4. Analytical methods

The composition of the liquid phase resulting from the enzymatic hydrolysis of carnauba leaves (C_{EH}), carnauba leaves with RhB (C_{REH}), macauba endocarp (M_{EH}), macauba endocarp with RhB (M_{REH}), pine nut shell (P_{EH}) and pine nut shell with RhB (P_{REH}) was determined using a Metrohm 850 Professional IC ion chromatograph with ultrafiltration system, which allowed us to determine the concentration of the various monosaccharides (glucose, xylose, galactose, fructose and arabinose). With regard to the content of total reducing sugars (TRS), the 3,5-dinitrosalicylic acid method (DNS) methodology proposed by Miller(1959) was used. The specific concentration of TRS is defined as the amount of TRS obtained from the hydrolysis per mass unit of dry material. The TRS yield was obtained from the following equation (Eq. 6.1):

$$[\text{TRS}] = \frac{\text{Concentration of TRS (g} \cdot \text{L}^{-1}\text{)}}{\text{Initial biomass concentration (g} \cdot \text{L}^{-1}\text{)}} \times 100 \quad \text{Eq. 6.1}$$

The HMF and furfural values were determined according to the methodology proposed by Chi *et al.*(2009) using UV spectrophotometry at 277 and 285 nm,

respectively. For the measurement of soluble lignin, a standard curve was prepared using soluble lignin supplied by Sigma Aldrich, and its concentration was determined with a UV-visible spectrophotometer at 280 nm.

The characterization of the solid phase resulting from the enzymatic hydrolysis of the various materials was performed by X-ray diffraction (XRD) and Fourier transform Infrared Spectroscopy (FTIR), taking the raw materials as a reference. The powder diffractograms of the samples were obtained using a Bruker D8 Advance Bragg-Brentano diffractometer, in reflection geometry. The crystallinity index (CrI) was calculated according to the method proposed by Segal *et al.*(1959) Infrared spectra were recorded with a Thermo Nicolet 380 FT-IR apparatus equipped with a Smart Orbit Diamond ATR system.

6.4. Results and Discussion

6.4.1. Biomass characterization

The physicochemical properties of the materials are described in Table 6.1. The C, H, N and O percentages for the different materials were similar to those reported for other lignocellulosic materials (Basso et al., 2002), showing an elevated content of C and O. The determination of acidic and basic groups on the surface of the samples showed a prevalence of acidic groups (carboxylic, phenolic, lactones and carbonyls) over basic groups, so the surface of the materials was acidic. This acidic nature was also confirmed with the values obtained from pH_{PZC} .

As noted above, the iodine number and the methylene blue number are related to the porosity of the starting material in its wet state (Shrestha et al., 2012). Determining the methylene blue number allows to know the material's ability to adsorb aromatic dyes and indicates the macroporosity of the material under study, while the iodine number is related to micro and mesopores. According to Table 6.1, the methylene blue values were greater than the iodine values for all the lignocellulosic materials, so it can be inferred that the materials had a larger amount of macropores and a smaller amount of meso/micropores. While this predominance of macropores over meso- and micropores was confirmed with the dry state porosity measurement techniques, namely nitrogen adsorption isotherms, for macauba endocarp and pine nut shell, a contradictory predominance of mesopores was observed for carnauba leaves. These differences

**6. AN EXAMPLE LIGNOCELLULOSIC WASTE REUSE IN TWO CONSECUTIVE STEPS:
SORPTION OF CONTAMINANTS AND ENZYMATIC HYDROLYSIS**

between the wet and dry porosity results can be ascribed to hydration phenomena (mentioned above), which lead to an increase both in pore size and surface area, particularly marked in the case of carnauba since it was the material with the highest cellulose content.

Table 6.1. Physical properties and chemical-adsorption characteristics of the materials under study

Properties	Carnauba leaves	Macauba endocarp	Pine nut shell
<i>Elementary analysis</i> (%wt.)			
Carbon	45.4	52.6	47.7
Hydrogen	2.5	5.9	6.6
Nitrogen	3.4	0.3	0.3
Oxygen ^a	48.7	41.2	45.4
<i>Surface groups</i> (mmol·g ⁻¹)			
Carboxylic	0.483	0.643	0.322
Lactonic	0.079	0.080	0.162
Phenolic	2.981	2.820	2.735
Carbonylic	0.325	0.160	0.323
Total acidic	3.869	3.704	3.541
Basic	0.66	0.22	0.33
Total groups	4.529	3.924	3.844
BET specific surface area (m ² ·g ⁻¹)	0.8581	0.6028	0.8608
Mean pore diameter Dp (nm)	21.246	133.9933	146.974
Total pore volume (cm ³ ·g ⁻¹)	0.000359	0.002019	0.00316
Iodine number (mg·g ⁻¹)	523.86	367.31	413.59
Methylene Blue index (mg·g ⁻¹)	978.37	922.54	857.83
pH _{pzc}	5.5	4.0	4.3

^a Calculated by subtraction.

The carnauba leaf was the residue with the highest values for both indices, 978.37 mg·L⁻¹·g⁻¹ and 523.86 mg·g⁻¹ for the MB number and iodine number, respectively. These data were in agreement with the total pore volume and the average pore diameter, which were much lower in the carnauba leaves than in the macauba or the pine nut shells. Therefore we can conclude that there was a predominance of mesopores in the carnauba leaves and of macropores in the macauba and pine nut shells. The analysis conducted with ImageJ software on the scanning electron microscopy (SEM) micrographs also supported that the macauba and pine nut shells were materials with a higher amount of macropores on the surface (see Figure 6.1). It is worth noting that the

presence of macropores in the raw materials -without any chemical, mechanical or thermal pretreatment- was much lower than in the treated samples or in activated carbons. The Brunauer, Emmett and Teller (BET) area confirmed that the tested natural lignocellulosic materials had a very small surface area (from 0.60 to 0.86) $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ in comparison to activated carbon ($3000 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$), and therefore the former would be less suitable for the physical adsorption of pollutants. However, the lower porosity of these natural materials *versus* carbonaceous ones from the standpoint of physical adsorption mechanisms is offset by other chemical mechanisms (e.g., valence forces through sharing or exchange of electrons between adsorbent and adsorbate)(Mota and Lyubchik, 2008), which can make them viable for the adsorption of pollutants.

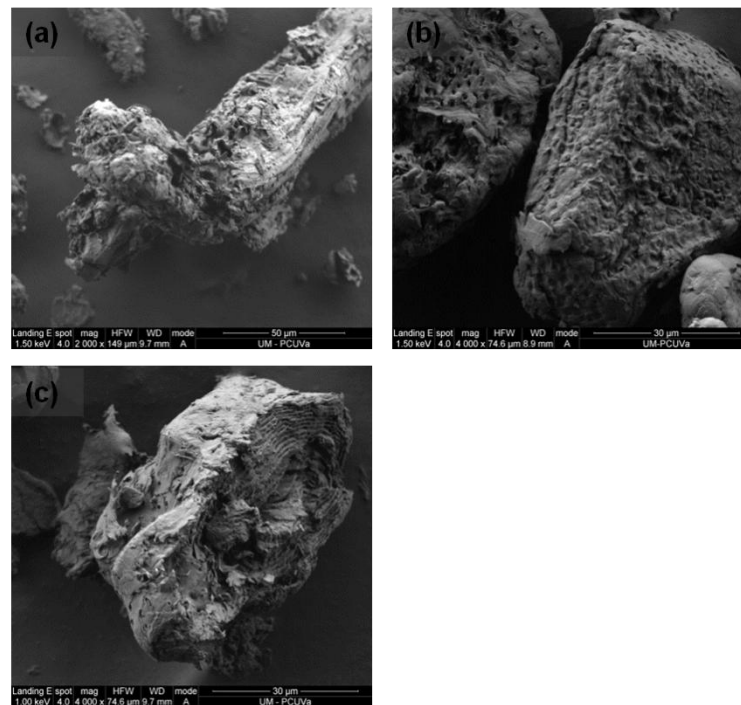


Figure 6.1. Scanning electron micrographs of the three raw materials: (a) carnauba leaves; (b) macauba endocarp; and (c) pine nut shell.

6.4.2. Effects of contact time on Rhodamine-B adsorption

The equilibrium time is one of the most important parameters in wastewater treatment systems. The results of the RhB adsorption capacity for the different lignocellulosic waste at different time intervals are depicted in Figure 6.2. Fast adsorption took place in the first 30 minutes, followed by a slower rate until equilibrium was reached after 120 min. The initial rapid adsorption could be attributed to the large number of sites available in the biosorbent for RhB molecules. However, the adsorption slowed down in later stages, since the remaining free sites on the surface of the

biosorbent were more difficult to access. This same behavior has already been reported in the literature (Belala et al., 2011; Saha et al., 2012). In view of these results, 120 minutes was taken as the equilibrium time for the remaining adsorption experiments for all materials.

The study of the adsorption kinetics may help to understand the mechanism controlling the adsorption, which depends on the physical and chemical characteristics of the adsorbent and the mass transfer process (Tchobanoglous et al., 2003). In this study, the adsorption rates were analyzed using pseudo-first order (Lagergren, 1898) and pseudo-second order models (Ho, 1995).

The adsorption kinetics adjustments are shown in Figure 6.2, and all calculated kinetic parameters are summarized in Table 6.2. Correlation coefficients were closer to one for the pseudo-second order kinetic than for the pseudo-first order one for all materials. Furthermore, the adsorption capacity (q_{e_cal}) calculated from the pseudo-second order model was closer to the experimental value (q_{e_exp}). Hence, it can be concluded that the pseudo-second order kinetic model provides a good correlation, which is indicative of the fact that chemisorption (valence forces or electron exchange) is the limiting step.

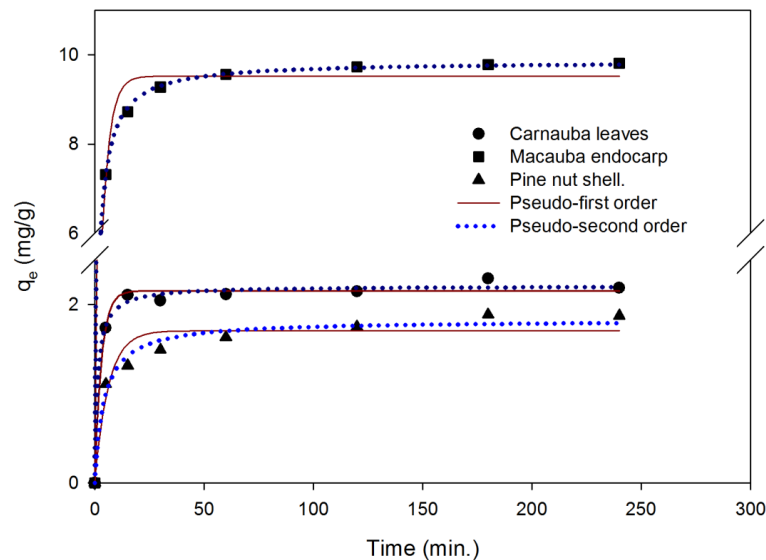


Figure 6.2. Effect of contact time on the absorption of RhB onto different materials (natural pH, temperature $25\pm 5^\circ\text{C}$)

Table 6.2. Kinetic parameters for absorption of RhB onto different materials

Samples	C_0 (mg·L ⁻¹)	q_{e_exp}	Pseudo-first order model			Pseudo-second order model		
			k_1 (min)	q_{e_cal} (mg·g ⁻¹)	r^2	k_2 (g·mg ⁻¹ ·min ⁻¹)	q_{e_cal} (mg·g ⁻¹)	r^2
Carnauba leaves	5	2.29	0.328	2.152	0.996	0.3457	2.208	0.998
Macauba endocarp	20	9.81	0.2818	9.521	0.995	0.057	9.852	0.999
Pine nut shell	5	1.89	0.161	1.706	0.964	0.1294	1.823	0.989

6.4.3. Effects of initial concentration and temperature on Rhodamine-B absorption

Figure 6.3 shows an increase in the absorption capacity with increasing dye concentration. This increase was probably due to the increased driving force of the concentration gradient, which decreases the resistance to ion transfer between the aqueous medium and the sorbent (Aksu and Dönmez, 2003). On the other hand, the removal efficiency was higher at lower concentrations due to the high availability of active sites in comparison to the number of moles of the dye. Increased absorbance at higher temperatures was also observed, which suggested the endothermic nature of the process (see thermodynamic parameters discussion below). This can be attributed to an increase in the diffusion rate of the sorbate molecules, to changes in the sorbent porosity or to an increase in the availability of active sites (Srivastava and Rupainwar, 2009).

Adsorption isotherms describe how the molecules are distributed between the liquid phase and the surface of the solid phase. In the present study, the adsorption isotherms were simulated using the Langmuir (Langmuir, 1918) and Freundlich (Freundlich, 1906) models. The fittings of the experimental data to the Langmuir and Freundlich isotherm models at different temperatures are shown in Figure 6.3. All correlation coefficients (R^2) and the constants obtained from the application of both isotherm models are summarized in Table 6.3. The R^2 values, close to 1 for both isothermal models, indicated that they were reasonably good fits to the experimental data. The Langmuir isotherm model was a better fit for the experimental RhB absorption data for carnauba leaves and pine nut shell, which suggests that the dye was homogeneously adsorbed in a monolayer and that each dye molecule on the biosorbent surface had an activation energy (Ho et al., 2005). Conversely, absorption on macauba endocarp showed a better fit to the Freundlich model, which may indicate that the dye was

absorbed at different binding sites. The values of the n exponent in the Freundlich model were in the range of favorable adsorption ($1 < n < 10$) for all adsorbents. The maximum monolayer adsorption capacity values attained in this study were 36.54, 17.75 and 18.85 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ for carnauba leaves, pine nut shell and macauba endocarp, respectively.

Thermodynamic parameters depend on the reaction process. The changes in the standard free energy (ΔG^0 , $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), in the standard adsorption enthalpy (ΔH^0 , $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) and in the standard adsorption entropy (ΔS^0 , $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) were calculated using the absolute temperature in Kelvin and the Langmuir constant ($\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$). The thermodynamic parameters for the three materials are listed in Table 6.3. The negative ΔG^0 values for all materials indicated that the processes were spontaneous in nature. It is worth noticing that ΔG^0 values became more negative with increasing temperature, which indicates that the process became more spontaneous at higher temperatures. The enthalpy change value (ΔH) was positive for all the lignocellulosic materials, so the RhB sorption process was endothermic. Belala et al. (2011), who studied the adsorption of methylene blue onto date stones and palm-trees waste, also observed that the extent of adsorption steadily improved with an increase in adsorption temperature, due to an increased surface activity and an increased kinetic energy of dye molecules. Since the biosorption increased with temperature, therefore, the system was endothermic, in agreement with van't Hoff equation. Similar observations have also been reported by Aksu and Tezer for Ramazol Black B adsorption on the green alga *Chlorella vulgaris* (Aksu and Tezer, 2000), or for methylene blue on Guyava leaves (Singh and Srivastava, 1999) and sepiolite (Doğan et al., 2007). Further, the values below 40 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ suggest that the absorption had a physical contribution (Bhatnagar et al., 2009). Lastly, the positive value of ΔS^0 suggests increased randomness at the solid/solution interface during the sorption of RhB for the various materials under study.

6. AN EXAMPLE LIGNOCELLULOSIC WASTE REUSE IN TWO CONSECUTIVE STEPS:
SORPTION OF CONTAMINANTS AND ENZYMATIC HYDROLYSIS

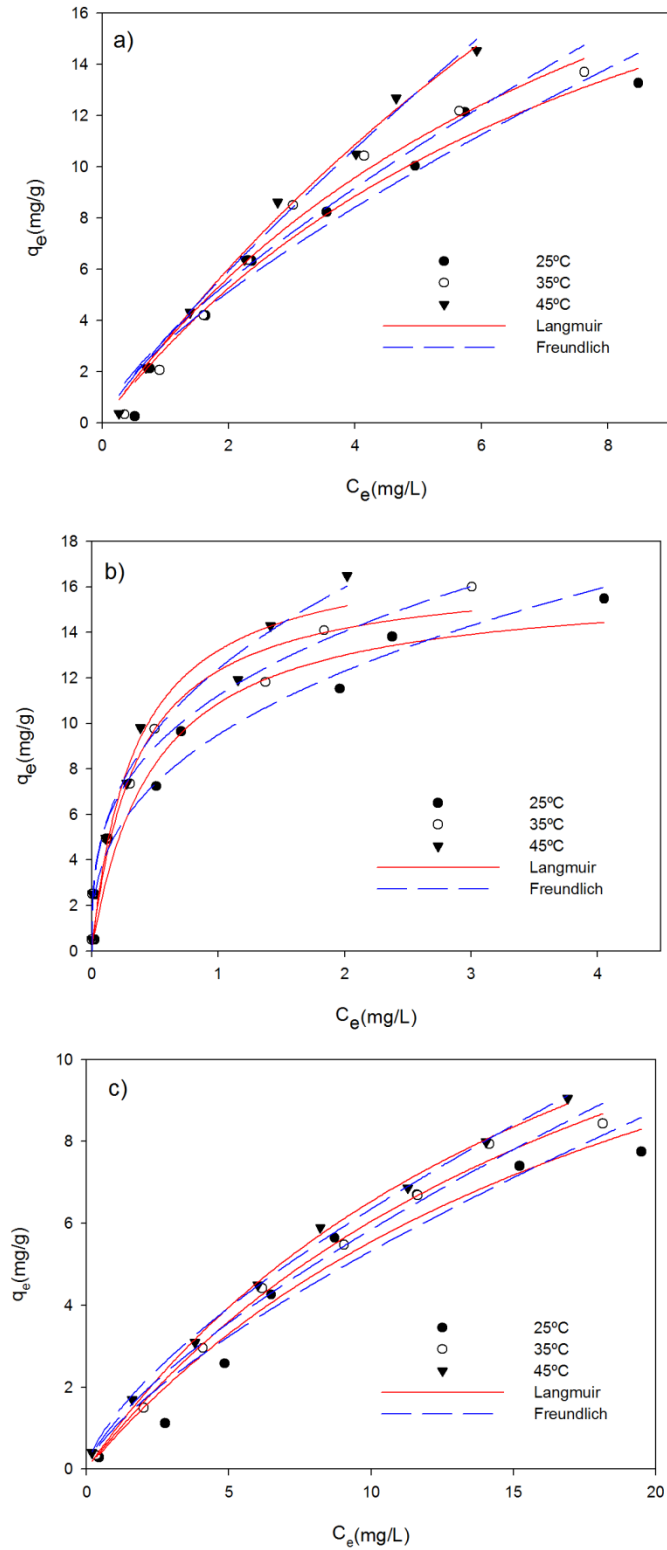


Figure 6.3. Equilibrium isotherms for Rhodamine B (RhB) at different temperatures (25°C, 35°C and 45°C) onto: (a) carnauba leaves; (b) macauba endocarp; and (c) pine nut shell. Red solid lines represent the fitting curves using the Langmuir model and Freundlich model fittings are represented as dashed blue lines.

**6. AN EXAMPLE LIGNOCELLULOSIC WASTE REUSE IN TWO CONSECUTIVE STEPS:
SORPTION OF CONTAMINANTS AND ENZYMATIC HYDROLYSIS**

Table 6.3. Isotherm parameters for Rhodamine B (RhB) biosorption onto different materials

Samples	T (°C)	Langmuir constants			
		q_{max} (mg·g ⁻¹)	K_L (L·mg ⁻¹)	r^2	
Carnauba leaves	25	27.917	0.1160	0.994	
	35	30.162	0.1182	0.988	
	45	36.541	0.1194	0.992	
Macauba endocarp	25	16.164	2.0565	0.975	
	35	16.705	2.8016	0.977	
	45	17.75	2.8996	0.976	
Pine nut shell	25	17.325	0.0471	0.980	
	35	18.621	0.0481	0.998	
	45	18.855	0.0530	0.998	
		Freundlich constants			
		K_F (mg·g ⁻¹ (mg·L ⁻¹) ^{1/n})	n	r^2	
Carnauba leaves	25	3.111	1.393	0.978	
	35	3.366	1.367	0.979	
	45	4.032	1.314	0.986	
Macauba endocarp	25	9.501	2.689	0.983	
	35	11.221	3.086	0.995	
	45	12.394	2.730	0.991	
Pine nut shell	25	1.025	1.397	0.968	
	35	1.138	1.406	0.994	
	45	1.301	1.452	0.998	
		Thermodynamic parameters			
		ΔG^0 (kJ·mol ⁻¹)	ΔH^0 (kJ·mol ⁻¹)	ΔS^0 (J·mol ⁻¹ ·K ⁻¹)	r^2
Carnauba leaves	25	-9.923	1.141	37.138	0.977
	35	-10.304			
	45	-10.665			
Macauba endocarp	25	-17.046	13.646	103.351	0.838
	35	-18.409			
	45	-19.098			
Pine nut shell	25	-7.689	4.615	4.953	0.866
	35	-8.001			
	45	-8.517			

6.4.4. Liquid phase composition analysis after enzymatic hydrolysis of the lignocellulosic materials

The concentrations of total reducing sugars (TRS) are displayed in Table 6.4, together with the content of non-hydrolyzed material, HMF and furfural as fermentation inhibitors, and soluble lignin produced after enzymatic hydrolysis of the materials (before and after adsorption). TRS productions for lignocellulosic materials before adsorption were 42.86 g·L⁻¹ (85.72 % yield), 38.19 g·L⁻¹ (76.38 % yield) and 32.67 g·L⁻¹ (65.34 % yield) for carnauba leaves, macauba endocarp and pine nut shell, respectively. These values were within the production ranges (21.3-83.1 g·L⁻¹) reported by Leaes *et al.*(2013) and were higher than those presented by Kim *et al.*,(2014) with ca. 20 g·L⁻¹, but would be susceptible of further improvement by means of sonication. TRS production from carnauba leaves and macauba endocarp after adsorption showed a

slight decrease [$37.84 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (75.68 % yield) and $32.60 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (65.20 % yield), respectively], while a slight increase was observed for pine nut shell ($33.59 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 67.18 % yield), which implies that these variations can be assigned to the influence of the matrix or the dye in the process of enzymatic hydrolysis.

Furan compounds are produced by direct dehydration of sugars in acidic conditions (caramelization) during thermal treatments (Guo et al., 2005). In fact, under acidic conditions, 5-HMF can be produced even at low temperatures (Kawano et al., 2008), although its concentration significantly increases as the temperature of the thermal treatment is increased, or during long storage periods. Mohamed *et al.*(2006) reported that the HMF content spontaneously increases at room temperature (RT) with time, with a monthly increase of 1.7 mg/kg for products with high sugars content (e.g. honey) and the magnitude of such increase remarkably varies depending on whether it is a cold or a hot region. Since our enzymatic hydrolysis assays were conducted in acidic conditions (pH 5), for three days (72 h), and at a temperature higher than RT (50 °C), a small production of furan compounds was expected, in agreement with Table 6.4. HMF presence was detected for C_{EH} ($0.17 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), C_{REH} ($0.09 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) and P_{REH} ($0.03 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) samples, while furfural was detected for M_{REH} ($0.03 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) and P_{REH} ($0.01 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) samples. These values were consistent with those reported by Chandler *et al.*(2012), who studied the acid hydrolysis of sugarcane bagasse, obtaining HMF values ranging from 0.047 to $0.276 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. The presence of these compounds (furans) may have a deleterious effect on the fermentation process, in particular when yeasts are used (Heer and Sauer, 2008). Keating *et al.*(2006) found that values beyond $0.06\text{-}0.08 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ have inhibitory effects on the fermentation step. Thus, only for carnauba leaves after adsorption (C_{REH}) the furans concentration was above this limit ($0.17 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$). Soluble lignin values indicated that the materials after absorption showed a better performance in delignification, with improved values for C_{EH} ($32.1\times 10^{-3} \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), M_{EH} ($23.6\times 10^{-3} \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) and P_{EH} ($20.16\times 10^{-3} \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) samples, revealing that higher lignin removal was associated to higher TRS production. Therefore, the lignin content may also be an inhibitor of the enzymatic hydrolysis (Koo et al., 2012). Kim *et al.*,(2011) when studying the inhibitory effects of lignin, found that concentrations higher than 5 g/L had a negative impact on the enzymatic hydrolysis. Moreover, Ximenes *et al.*(2010), who studied the impact of phenolic compounds on the enzymatic hydrolysis of cellulose and

**6. AN EXAMPLE LIGNOCELLULOSIC WASTE REUSE IN TWO CONSECUTIVE STEPS:
SORPTION OF CONTAMINANTS AND ENZYMATIC HYDROLYSIS**

cellobiose, also indicated that lignin had an inhibitory effect and specified that vanillin was the phenolic compound with the highest inhibitory effect.

For all samples, peaks corresponding to glucose, xylose, galactose, arabinose and fructose were identified. The highest sugars concentrations for the different materials were found for glucose (3.20 to 8.12 g·L⁻¹) and xylose (0.14 to 2.6 g·L⁻¹). This can be explained because glucose and xylose are the main constituents of cellulose and hemicellulose, respectively (Coletta et al., 2013). Lower concentrations were observed for galactose (0.05-0.16 g·L⁻¹), arabinose (0.01-0.12 g·L⁻¹) and fructose (0.21-1.22 g·L⁻¹) (see Table 6.4). The value attained for fructose could be attributed to the isomerization of glucose.

The sum of the sugars concentrations identified by ion chromatography diverged from the values of total reducing sugars. These later represent any sugar that either has an aldehyde group or that is capable of forming one in solution through isomerism, so all monosaccharides and most disaccharides (other than sucrose) are reducing sugars (Stryer et al., 2008). Therefore, aforementioned difference can be readily explained by the fact that ion chromatography only measures the major monosaccharides (glucose, xylose, galactose, arabinose and fructose).

Table 6.4. Liquid phase composition after the enzymatic hydrolysis of the different materials, before and after adsorption

Sample	TRS (g·L ⁻¹)	HMF (g·L ⁻¹)	Furfural (g·L ⁻¹)	Soluble lignin (mg·L ⁻¹)	Monosaccharides (ion chromatography) (g·L ⁻¹)				
					Glucose	Xylose	Galactose	Arabinose	Fructose
C _{EH}	42.86	0.17	0.00	32.10	3.64	0.14	0.16	0.12	0.63
CR _{EH}	37.84	0.09	0.00	25.54	3.20	0.13	0.12	0.09	0.59
M _{HE}	38.19	0.00	0.00	23.60	4.17	2.58	0.06	0.03	0.66
MR _{HE}	32.60	0.00	0.03	14.12	3.47	1.20	0.05	0.01	0.21
P _{HE}	32.67	0.00	0.00	20.16	4.22	0.24	0.07	0.03	0.66
PR _{HE}	33.59	0.03	0.01	12.70	8.18	0.37	0.13	0.04	1.22

C_{EH}: carnauba leaves after enzymatic hydrolysis; CR_{EH}: carnauba leaves with RhB after enzymatic hydrolysis; M_{EH}: macauba endocarp after enzymatic hydrolysis; MR_{EH}: macauba endocarp after enzymatic hydrolysis; P_{EH}: pine nut shell after enzymatic hydrolysis; PR_{EH}: pine nut Shell with RhB after enzymatic hydrolysis.

6.4.5. Characterization of the solid phase before and after the enzymatic hydrolysis by XRD and FTIR

6.4.5.1. XRD crystallinity index

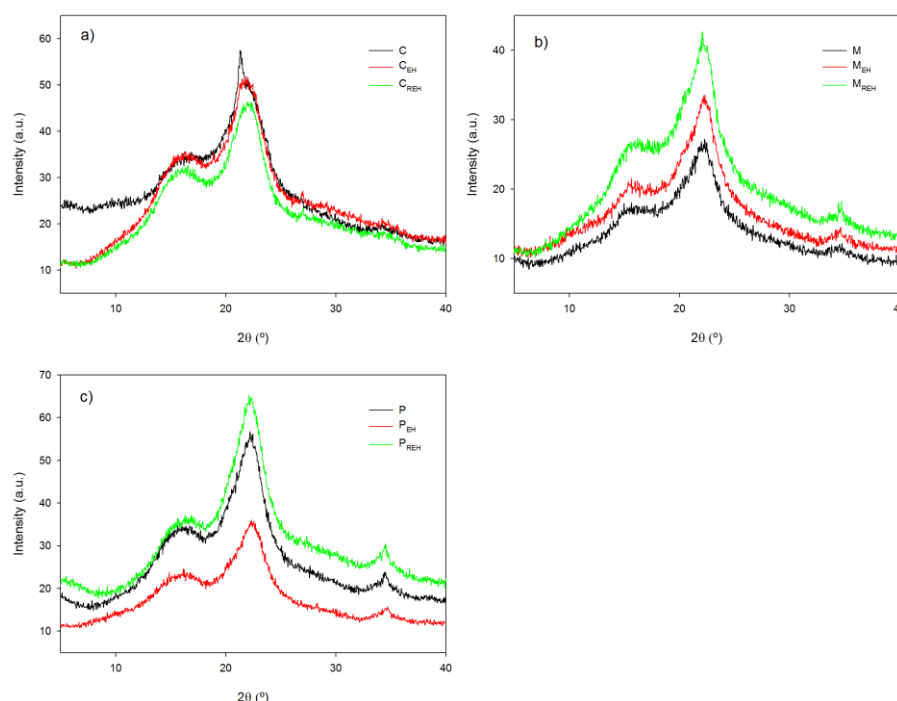


Figure 6.4. X-ray diffraction patterns for the raw samples, and the samples after RhB adsorption and after enzymatic hydrolysis: (a) carnauba leaves; (b) macauba endocarp; and (c) pine nut shell.

The crystallinity of cellulose may be an important factor in the hydrolysis process. This parameter is frequently used to interpret the changes in the structure of cellulose after physical-chemical or biological treatments (Park et al., 2010). The crystallinity index is defined as the percentage of crystalline cellulose over the total cellulose content (Guha et al., 2010). The XRD profiles of the materials before (C, M and P) and after hydrolysis (C_{HE} , M_{HE} , P_{HE} , CR_{HE} , MR_{HE} and PR_{HE}) are shown in Figure 6.4. The crystallinity indices are summarized in Table 6.5. The macauba and pine nut shells show similar values for the crystallinity index (CrI) before hydrolysis (42.26% and 42.0%, respectively), which are higher than those attained for carnauba leaves (34.36%). This suggests that carnauba leaves (with an associated increased production of TRS, $42.86 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) present more amorphous areas and are therefore more easily attacked by enzymes (Park et al., 2010). As it is shown in Table 6.5, for carnauba leaves (C_{HE}) and pine nut shell (P_{HE}), the CrI increases after enzymatic hydrolysis (Cao and Tan, 2004; Chen et al., 2007; Wang et al., 2006), while the CrI of macauba endocarp

decreases after the enzymatic hydrolysis, suggesting that the amorphous region has been digested and that further hydrolysis of the crystalline region has taken place, with a consistent loss of crystallinity (Chen et al., 2007). A comparison of the CrI of the hydrolyzed materials before (C_{HE} , M_{HE} , P_{HE}) and after adsorption (CR_{HE} , MR_{HE} , PR_{HE}) shows that the CrI increases in all cases. TRS data (i.e., MR_{HE} 32.60 g·L⁻¹ vs. M_{HE} 38.19 g·L⁻¹) show lower concentrations for higher crystallinity values (M_{HE} 41.10 vs. MR_{HE} 40.76). This may be due to the fact that the enzymatic hydrolysis also eliminates other amorphous materials such as lignin and/or hemicellulose (Evans et al., 1995).

Table 6.5. Crystallinity indices from DRX data

Sample	CrI	Sample	CrI	Sample	CrI
C	34.36	M	42.26	P	42.00
C_{HE}	38.00	M_{HE}	40.76	P_{HE}	46.21
CR_{HE}	40.37	MR_{HE}	41.10	PR_{HE}	48.37

C: carnauba leaves; C_{EH} : carnauba leaves after enzymatic hydrolysis; CR_{EH} : carnauba with RhB after enzymatic hydrolysis; M: macauba endocarp (shell); M_{EH} : macauba endocarp after enzymatic hydrolysis; MR_{EH} : macauba endocarp with RhB after enzymatic hydrolysis; P: pine nut shell; P_{EH} : pine nut shell after enzymatic hydrolysis; PR_{EH} : pine nut shell after enzymatic hydrolysis.

6.4.5.2. Vibrational characterization

Figure 6.5 shows a comparison of the ATR-FTIR spectra after the RhB adsorption treatments and after enzymatic hydrolysis. A broad band at 3400 cm⁻¹ due to OH vibrations can be observed (Dorado et al., 2001), in addition to peaks at 2916 cm⁻¹ and 2850 cm⁻¹, corresponding to symmetric and asymmetric -CH₂ vibrations (guaiacyl, syringyl) of lignin (Carballo Abreu et al., 2004), in particular for carnauba leaves. The intensities comparison indicates that the amount of lignin decreases after the enzymatic hydrolysis. The band at 1730 cm⁻¹ can be assigned to C=O stretching in non-conjugated aromatic rings of lignin (Salcedo et al., 2013), and is inversely related to the enrichment in holocellulose (Dorado et al., 2001). The bands at 1600 cm⁻¹ and 1637 cm⁻¹ are associated to absorbed water and β -glucosidic linkages between sugar units, respectively (Owen and Thomas, 1989). The absorption bands in the 1510-1600 cm⁻¹ range are due to skeletal vibration of the aromatic rings of lignin (Bodîrlău and Teacă, 2009). An increase in this peaks can be observed for the three materials, which indicates a partial removal of cellulose (Sun et al., 2005). The band at 1373 cm⁻¹ shows changes in the peak intensity for the three materials and is related to symmetrical C-H deformation modes in cellulose (Theerarattananon et al., 2011). The most prominent

band, which remains unchanged between treatments, is located at 1030 cm^{-1} and is assigned to C-O vibrations of the piranosic rings in cellulose, thus indicating that these have not been attacked by the enzymatic hydrolysis (Dorado et al., 2001).

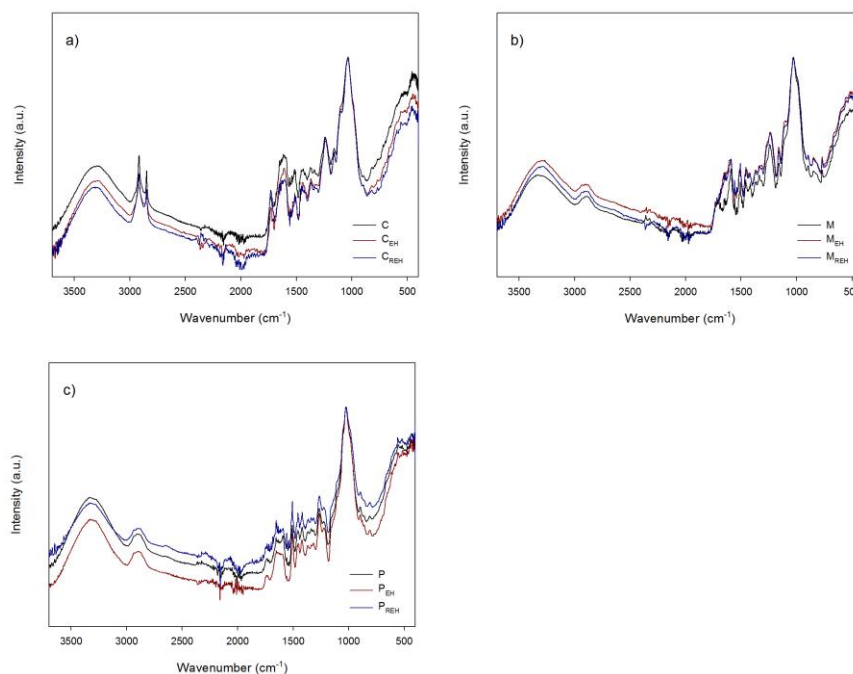


Figure 6.5. ATR-FTIR spectra for the raw samples, and the samples after RhB adsorption and after enzymatic hydrolysis: (a) carnauba leaves, (b) macauba endocarp and (c) pine nut shell.

6.5. Conclusion

The lignocellulosic materials under study behave as efficient biosorbents for Rhodamine-B (RhB) removal. The adsorption affinity for the different materials increases following the sequence: macauba endocarp > pine nut shell > carnauba leaves. The kinetic study fits a pseudo-second order kinetic model, which implies that chemisorption is the rate limiting step in the biosorption process. The materials require short periods of time to reach equilibrium (ca. 30 minutes), thus favoring their applicability to water treatment systems, since the retention times of the system would be decreased. On the other hand, the equilibrium data fits both Langmuir and Freundlich models, which suggests that both physical- and chemical-adsorption take place. Thermodynamic results show the feasible, spontaneous and endothermic nature of biosorption of RhB in the different studied materials.

With regard to the production of total reducing sugars (TRS) by enzymatic hydrolysis, the values attained were higher for raw materials than for the materials after

the absorption treatment in the case of carnauba leaves and macauba shell (84%wt. and 74.9%wt., respectively). Conversely, the production attained for pine nut shell was slightly higher after adsorption (65.9%wt.). All in all, it can be concluded that these three materials show a good performance in the production of sugars after their use as biosorbents. This opens a new avenue for reuse and re-valorization of biomass from lignocellulosic residues by a combined use of two processes (enzymatic hydrolysis-biosorption) for water pollutants removal and subsequent fermentable sugars obtaining. Efforts are currently being undertaken to further improve TRS production yields by means of low-cost processes such as sonication. Both the effect of pretreatment prior to enzymatic hydrolysis and the impact of the adsorbed dye on the subsequent fermentation of TRS to obtain bioalcohols need to be assessed in future research.

6.6. Acknowledgments

This work was supported by funds from Junta de Castilla y León under project VA036A12-2. Viviane da Silva would like to thank Universidad de Valladolid for its financial support (“Programa de Formación del Personal Investigador” PhD scholarship). Pablo Martín-Ramos also acknowledges Iberdrola Foundation for its support. The authors gratefully acknowledge the support of Dr. Manuel Avella (Microscopy Unit, Parque Científico, Universidad de Valladolid) with the SEM analysis of the samples.

6.7. References

- Aksu, Z., and Dönmez, G. (2003). A comparative study on the biosorption characteristics of some yeasts for Remazol Blue reactive dye. *Chemosphere* **50**, 1075-1083.
- Aksu, Z., and Tezer, S. (2000). Equilibrium and kinetic modelling of biosorption of Remazol Black B by *Rhizopus arrhizus* in a batch system: effect of temperature. *Process Biochemistry* **36**, 431-439.
- Baccar, R., Bouzid, J., Feki, M., and Montiel, A. (2009). Preparation of activated carbon from Tunisian olive-waste cakes and its application for adsorption of heavy metal ions. *Journal of Hazardous Materials* **162**, 1522-1529.

- Balistreri, L., and Murray, J. W. (1981). The surface chemistry of goethite (α FeOOH) in major ion seawater. *American Journal of Science* **281**, 788-806.
- Basso, M. C., Cerrella, E. G., and Cukierman, A. L. (2002). Lignocellulosic Materials as Potential Biosorbents of Trace Toxic Metals from Wastewater. *Industrial & Engineering Chemistry Research* **41**, 3580-3585.
- Belala, Z., Jeguirim, M., Belhachemi, M., Addoun, F., and Trouvé, G. (2011). Biosorption of basic dye from aqueous solutions by Date Stones and Palm-Trees Waste: Kinetic, equilibrium and thermodynamic studies. *Desalination* **271**, 80-87.
- Bhatnagar, A., Kumar, E., Minocha, A. K., Jeon, B.-H., Song, H., and Seo, Y.-C. (2009). Removal of Anionic Dyes from Water using Citrus limonum (Lemon) Peel: Equilibrium Studies and Kinetic Modeling. *Separation Science and Technology* **44**, 316-334.
- Binod, P., Satyanagalakshmi, K., Sindhu, R., Janu, K. U., Sukumaran, R. K., and Pandey, A. (2012). Short duration microwave assisted pretreatment enhances the enzymatic saccharification and fermentable sugar yield from sugarcane bagasse. *Renewable Energy* **37**, 109-116.
- Bodîrlău, R., and Teacă, C. (2009). Fourier transform infrared spectroscopy and thermal analysis of lignocellulose fillers treated with organic anhydrides. In "8th International Balkan Workshop on Applied Physics", pp. 5-7.
- Boehm, H. P. (1994). Some aspects of the surface chemistry of carbon blacks and other carbons. *Carbon* **32**, 759-769.
- Cao, Y., and Tan, H. (2004). Structural characterization of cellulose with enzymatic treatment. *Journal of Molecular Structure* **705**, 189-193.
- Carballo Abreu, L., Igarza, U. O., and Machado, E. C. (2004). Composición química de tres maderas en la Provincia del Pinar del Río, Cuba a tres alturas del fuste comercial. Parte N^o 1: *Corymbia citriodora*. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* **10**, 57-62.
- Coletta, V. C., Rezende, C. A., da Conceição, F. R., Polikarpov, I., and Guimarães, F. E. G. (2013). Mapping the lignin distribution in pretreated sugarcane bagasse by confocal and fluorescence lifetime imaging microscopy. *Biotechnology for biofuels* **6**, 43.

- Chandler, C., Villalobos, N., González, E., Arenas, E., Mármol, Z., Ríos, J., and Mazzarri, C. A. (2012). Hidrólisis ácida diluida en dos etapas de bagazo de caña de azúcar para la producción de azúcares fermentables. *Multiciencias* **12**, 245-253.
- Chen, Y., Stipanovic, A., Winter, W., Wilson, D., and Kim, Y.-J. (2007). Effect of digestion by pure cellulases on crystallinity and average chain length for bacterial and microcrystalline celluloses. *Cellulose* **14**, 283-293.
- Chi, C., Zhang, Z., Chang, H.-M., and Jameel, H. (2009). Determination of Furfural and Hydroxymethylfurfural Formed From Biomass Under Acidic Conditions. *Journal of Wood Chemistry and Technology* **29**, 265-276.
- Choudhary, R., Umagiliyage, A. L., Liang, Y., Siddaramu, T., Haddock, J., and Markevicius, G. (2012). Microwave pretreatment for enzymatic saccharification of sweet sorghum bagasse. *Biomass and Bioenergy* **39**, 218-226.
- Doğan, M., Özdemir, Y., and Alkan, M. (2007). Adsorption kinetics and mechanism of cationic methyl violet and methylene blue dyes onto sepiolite. *Dyes and Pigments* **75**, 701-713.
- Dorado, J., Almendros, G., Field, J. A., and Sierra-Alvarez, R. (2001). Infrared spectroscopy analysis of hemp (*Cannabis sativa*) after selective delignification by *Bjerkandera* sp. at different nitrogen levels. *Enzyme and Microbial Technology* **28**, 550-559.
- Evans, R., Newman, R. H., Roick, U. C., Suckling, I. D., and Wallis, A. F. (1995). Changes in cellulose crystallinity during kraft pulping. Comparison of infrared, X-ray diffraction and solid state NMR results. *Holzforschung-International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood* **49**, 498-504.
- Freundlich, H. (1906). "Über die Adsorption in Lösungen," Wilhelm Engelmann, Leipzig.
- González-García, S., Moreira, M. T., and Feijoo, G. (2010). Comparative environmental performance of lignocellulosic ethanol from different feedstocks. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **14**, 2077-2085.
- Guha, S. K., Kobayashi, H., and Fukuoka, A. (2010). Chapter 13 Conversion of Cellulose to Sugars. In "Thermochemical Conversion of Biomass to Liquid Fuels and Chemicals", pp. 344-364. The Royal Society of Chemistry.

- Guo, J., Xu, W. S., Chen, Y. L., and Lua, A. C. (2005). Adsorption of NH₃ onto activated carbon prepared from palm shells impregnated with H₂SO₄. *Journal of Colloid and Interface Science* **281**, 285-290.
- Heer, D., and Sauer, U. (2008). Identification of furfural as a key toxin in lignocellulosic hydrolysates and evolution of a tolerant yeast strain. *Microbial Biotechnology* **1**, 497-506.
- Heredia-Olea, E., Pérez-Carrillo, E., Montoya-Chiw, M., and Serna-Saldívar, S. O. (2014). Effects of Extrusion Pretreatment Parameters on Sweet Sorghum Bagasse Enzymatic Hydrolysis and Its Subsequent Conversion into Bioethanol. *BioMed Research International*.
- Ho, Y.-S. (1995). Absorption of heavy metals from waste streams by peat, University of Birmingham, Birmingham, United Kingdom.
- Ho, Y.-S., Chiang, T.-H., and Hsueh, Y.-M. (2005). Removal of basic dye from aqueous solution using tree fern as a biosorbent. *Process Biochemistry* **40**, 119-124.
- Jones, P. O., and Vasudevan, P. T. (2010). Cellulose hydrolysis by immobilized *Trichoderma reesei* cellulase. *Biotechnol Lett* **32**, 103-6.
- Kawano, T., Kubota, M., Onyango, M. S., Watanabe, F., and Matsuda, H. (2008). Preparation of activated carbon from petroleum coke by KOH chemical activation for adsorption heat pump. *Applied Thermal Engineering* **28**, 865-871.
- Keating, J. D., Panganiban, C., and Mansfield, S. D. (2006). Tolerance and adaptation of ethanologenic yeasts to lignocellulosic inhibitory compounds. *Biotechnology and Bioengineering* **93**, 1196-1206.
- Kim, D.-H., Lee, S.-B., and Jeong, G.-T. (2014). Production of reducing sugar from *Enteromorpha intestinalis* by hydrothermal and enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology* **161**, 348-353.
- Kim, Y., Ximenes, E., Mosier, N. S., and Ladisch, M. R. (2011). Soluble inhibitors/deactivators of cellulase enzymes from lignocellulosic biomass. *Enzyme and Microbial Technology* **48**, 408-415.
- Koo, B.-W., Min, B.-C., Gwak, K.-S., Lee, S.-M., Choi, J.-W., Yeo, H., and Choi, I.-G. (2012). Structural changes in lignin during organosolv pretreatment of *Liriodendron tulipifera* and the effect on enzymatic hydrolysis. *Biomass and Bioenergy* **42**, 24-32.

- Lagergren, S. (1898). "Zur Theorie der sogenannten Absorption gelöster Stoffe," PA Norstedt & söner, Stockholm.
- Langmuir, I. (1918). The adsorption of gases on plane surface of glass, mica and platinum. *Journal of the American Chemical Society* **40**, 1361-1403.
- Leaes, E. X., Zimmermann, E., Souza, M., Ramon, A. P., Mezadri, E. T., Dal Prá, V., Terra, L. M., and Mazutti, M. A. (2013). Ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis of cassava waste to obtain fermentable sugars. *Biosystems Engineering* **115**, 1-6.
- Lin, J. K., Ladisch, M. R., Patterson, J. A., and Noller, C. H. (1987). Determining pore size distribution in wet cellulose by measuring solute exclusion using a differential refractometer. *Biotechnology and Bioengineering* **29**, 976-981.
- Lopes, D. d. C., Steidle Neto, A. J., Mendes, A. A., and Pereira, D. T. V. (2013). Economic feasibility of biodiesel production from Macauba in Brazil. *Energy Economics* **40**, 819-824.
- Melo, J. D. D., Carvalho, L. F. M., Medeiros, A. M., Souto, C. R. O., and Paskocimas, C. A. (2012). A biodegradable composite material based on polyhydroxybutyrate (PHB) and carnauba fibers. *Composites Part B: Engineering* **43**, 2827-2835.
- Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry* **31**, 426-428.
- Mohamed, F. S., Khater, W. A., and Mostafa, M. R. (2006). Characterization and phenols sorptive properties of carbons activated by sulphuric acid. *Chemical Engineering Journal* **116**, 47-52.
- Mosier, N. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* **96**, 673-686.
- Mota, J. P., and Lyubchik, S. (2008). "Recent Advances in Adsorption Processes for Environmental Protection and Security," Springer Netherlands.
- Owen, N. L., and Thomas, D. W. (1989). Infrared Studies of "Hard" and "Soft" Woods. *Applied Spectroscopy* **43**, 451-455.
- Park, S., Baker, J. O., Himmel, M. E., Parilla, P. A., and Johnson, D. K. (2010). Research Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnol Biofuels* **3**.

- Ramakrishnan, S., Collier, J., Oyetunji, R., Stutts, B., and Burnett, R. (2010). Enzymatic hydrolysis of cellulose dissolved in N-methyl morpholine oxide/water solutions. *Bioresour Technol* **101**, 4965-70.
- Saha, P. D., Chakraborty, S., and Chowdhury, S. (2012). Batch and continuous (fixed-bed column) biosorption of crystal violet by *Artocarpus heterophyllus* (jackfruit) leaf powder. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **92**, 262-270.
- Salcedo, J. G., Rios, J. M., Ferrer, A., López, J. E., Pardo, L. M., and Aiello, C. (2013). Efecto de pretratamientos deslignificantes sobre la cristalinidad, hidrólisis enzimática y ultraestructura de residuos de la cosecha de la caña de azúcar. *Acta Microscopica* **22**, 142-151.
- Segal, L., Creely, J., Martin, A., and Conrad, C. (1959). An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Textile Research Journal* **29**, 786-794.
- Shrestha, R., Yadav, A., Pokharel, B., and Pradhananga, R. (2012). Preparation and Characterization of Activated Carbon from Lapsi (*Choerospondias axillaris*) Seed Stone by Chemical Activation with Phosphoric acid. *Research Journal of Chemical Sciences* **2**, 80-86.
- Singh, D. K., and Srivastava, B. (1999). Removal of basic dyes from aqueous solutions by chemically treated psidium gujava leaves. *Indian Journal of Environmental Health* **41**, 333-345.
- Srivastava, R., and Rupainwar, D. C. (2009). Eucalyptus bark powder as an effective adsorbent: Evaluation of adsorptive characteristics for various dyes. *Desalination and Water Treatment* **11**, 302-313.
- Stryer, L., Berg, J. M., and Tymoczko, J. L. (2008). "Bioquímica," Reverté.
- Sun, X. F., Xu, F., Sun, R. C., Fowler, P., and Baird, M. S. (2005). Characteristics of degraded cellulose obtained from steam-exploded wheat straw. *Carbohydrate Research* **340**, 97-106.
- Tchobanoglous, G., Burton, F. L., and Stensel, H. D. (2003). "Wastewater Engineering: Treatment and Reuse."
- Theerarattananon, K., Wu, X., Staggenborg, S. A., Prophter, R., Madl, R., and Wang, D. (2011). Evaluation and characterization of sorghum biomass as feedstock for sugar production.

- Wang, L., Zhang, Y., Gao, P., Shi, D., Liu, H., and Gao, H. (2006). Changes in the structural properties and rate of hydrolysis of cotton fibers during extended enzymatic hydrolysis. *Biotechnology and Bioengineering* **93**, 443-456.
- Wang, Q. Q., He, Z., Zhu, Z., Zhang, Y. H. P., Ni, Y., Luo, X. L., and Zhu, J. Y. (2012). Evaluations of cellulose accessibilities of lignocelluloses by solute exclusion and protein adsorption techniques. *Biotechnology and Bioengineering* **109**, 381-389.
- Wu, K.-J., Lin, Y.-H., Lo, Y.-C., Chen, C.-Y., Chen, W.-M., and Chang, J.-S. (2011). Converting glycerol into hydrogen, ethanol, and diols with a *Klebsiella* sp. HE1 strain via anaerobic fermentation. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* **42**, 20-25.
- Ximenes, E., Kim, Y., Mosier, N., Dien, B., and Ladisch, M. (2010). Inhibition of cellulases by phenols. *Enzyme and Microbial Technology* **46**, 170-176.
- Zahir, H., Naidoo, M., Kostadinova, R.-M., Ortiz, K. A., Sun-Kou, R., and Navarro, A. E. (2014). Decolorization of hair dye by lignocellulosic waste materials from contaminated waters. *Frontiers in Environmental Science* **2**.



7. RESUMEN DE RESULTADOS

7.1. Resumen de resultados

En esta tesis doctoral se ha evaluado la viabilidad técnica del tratamiento de los subproductos lignocelulósicos, procedentes de la explotación de la carnaúba (*Copernicia prunifera* (Miller) H.E.Moore), macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.) y piñón (*Pinus pinea* L.), para la producción de precursores de biocombustibles (HMF y Furfural) y carbón activado. Estos estudios nos han reportado unos resultados prometedores tanto en la producción de compuestos furanos (HMF y furfural), como en la producción de carbón activado.

Seguidamente se presenta un estudio resumen de los principales resultados extraídos de los cuatro artículos científicos (enviados recientemente para su publicación a revistas de índice de impacto) y donde se establece el nexo de unión o hilo conductor de los mismos en relación con el marco de referencia de la Tesis y los objetivos programados. Por último se presentan las conclusiones de la memoria en relación con los principales hitos científicos o líneas de trabajo desarrollados durante los últimos cuatro años

Artículo 1: A kinetic study on microwave-assisted conversion of cellulose and lignocellulosic waste into HMF/furfural

“Estudio cinético sobre la conversión asistida por microondas de celulosa y residuos de lignocelulosa en HMF/furfural”

(Disponible en línea el 31 Diciembre 2014 en Bioresource Technology. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.12.089>, Article Type: Original research paper)

En relación con los objetivos del artículo 1, se llevó a cabo un estudio sobre la mezcla eutéctica óptima o que proporcionaba a partir de celulosa nativa una mayor producción de compuestos furanos utilizando líquidos iónicos profundos (DES), tales como cloruro de colina/urea, cloruro de colina/ácido oxálico, cloruro de colina/betaína frente a líquidos iónicos convencionales, tales como cloruro de tetraetilamonio (TEAC). Los mejores rendimientos de HMF + furfural, (32% peso) se producen cuando se hidroliza la celulosa con cloruro de colina/ácido oxálico, rendimiento algo inferior al 56% que se obtiene cuando se hidroliza inulina (constituida por cadenas moleculares de fructosa) con la misma mezcla eutéctica a 80°C, durante 2 h (Jagtøyen and Derbyshire, 1998). Zhang et al. (2014), trabajando también con la mezcla ChCl/Ox obtiene furfural

a partir de la xilosa, y lógicamente cuando se hidroliza un monosacárido, se alcanza un rendimiento de 44%, ligeramente superior al obtenido por nosotros (32%) cuando se trabaja con celulosa nativa y se emplea como catalizador TiO_2 y como diluyente una mezcla de trietilenglicol (TEG) y agua. El ácido oxálico en la mezcla eutéctica actúa como catalizador bifuncional y forma un estado de transición o un anillo de ocho miembros (Miljkovic, 2009). El TiO_2 (óxido anfótero), aumenta la densidad de sitios ácidos y básicos necesarios para la ruptura de cadenas de celulosa y para la deshidratación de la glucosa en HMF (Siqueira et al., 2013) y adicionalmente influye en la isomerización de la glucosa en fructosa (Qi et al., 2011).

Las mezclas ChCl /betaína, cuando se hidroliza la celulosa y se usa KOH como catalizador y sin diluyentes orgánicos, proporcionan peores resultados (17,28%). La mezcla de ChCl /urea conduce a muy bajos rendimientos en la conversión de celulosa nativa (por debajo de 2% de producción de furfural e HMF). Por último, el TEAC cuando opera con óxidos básicos se consiguen producciones de HMF+furfural muy bajas, pero si se usan óxidos ácidos (tales como ácido wolfrámico) se mejora significativamente el rendimiento (14,13%) de acuerdo con los estudios de Cao et al. (2011). El Sulfolane se elige también como disolvente preferente de celulosa y substratos lignocelulósicos debido a su carácter polar no volátil, aprótico y miscible en agua y en hidrocarburos. Este disolvente también fue seleccionado para la conversión de celulosa (Kawamoto et al., 2007; Kawamoto et al., 2003) y fructosa (Caes and Raines, 2011) para la obtención de compuestos furanos.

Seguidamente se llevaron a cabo estudios de las dosis óptimas de agua para la obtención de furfural e HMF con la mejor mezcla eutéctica y se confirma que un aumento de la dosis de agua tiene un efecto negativo sobre el rendimiento de HMF (Hu et al., 2008; Qi et al., 2009) debido a que la hidratación del HMF da como resultado un incremento de los subproductos (Tao et al., 2014). Sin embargo, cuando no se añade agua al medio de reacción, se obtienen bajos rendimientos de producción de HMF. La presencia de una pequeña cantidad de agua en el sistema de reacción puede promover el proceso, probablemente porque el agua aumenta la solubilidad del catalizador (Yuan et al., 2011). Para nuestros sustratos objeto de estudio, el aumento de la dosis de agua de 1ml a 2 ml, produce un aumento del rendimiento de furfural + HMF para los materiales lignocelulósicos estudiados, excepto para la pulpa de Macauba. Por consiguiente se recomienda en el presente estudio llevar a cabo la hidrólisis de los materiales

lignocelulósicos y de la celulosa en presencia de la mezcla $\text{ChCl}/\text{oxálico}$, 2 ml de sulfolane, 0,02 g de TiO_2 , 2 ml de agua y 0,1 g de sustrato.

También se estudia en este artículo la influencia del tiempo y de la temperatura en la producción de furfural e HMF, para la mezcla previamente seleccionada y se concluye que para la celulosa nativa se observa un aumento en la producción a medida que la temperatura aumenta de 120°C a 200°C y para el resto de los materiales lignocelulósicos se produce en el intervalo de 140°C a 160°C . El mayor rendimiento de HMF + furfural se logran a bajas temperaturas (140°C) durante 30 min., y llega a ser de un 10,01%, para hojas de carnauba; un 15,02% para cáscara de macaúba y un 15,94% para pulpa de macaúba. Para la cáscara de piñón se produce a 160°C durante 30 minutos un 14,98% de producción de HMF+furfural. Los materiales lignocelulósicos comienzan a degradarse, cuando se alcanza la temperatura de 200°C , en ácido levulínico, ácido acético o ácido fórmico (Tao et al., 2014). Para la celulosa nativa el rendimiento más alto (37,70%) se alcanza a 200°C durante 30 min.

El siguiente objetivo del presente artículo fue la realización de un estudio cinético para la producción por separado de HMF y de furfural de acuerdo al modelo propuesto por Saeman. Se confirma que la hidrólisis en HMF no es factible en las condiciones del ensayo, para la cáscara de macaúba, cáscara de piñón y la celulosa nativa a temperaturas inferiores a 140°C y que la producción de HMF se ve favorecida en comparación con la formación de productos de degradación, tales como ácido levulínico y ácido fórmico (Dautzenberg et al., 2011). En el caso de la hoja de carnauba, un aumento en la tasa de degradación de HMF (k_2) se produce cuando se aumenta la temperatura de 120 a 200°C , lo cual está conforme a estudios previos por (Chin et al., 2014). La mayor producción de HMF se da a 200°C y las mayor producciones de furfural a 140°C . El operar con unas condiciones suaves de tratamiento (140°C durante 30 min) favorece la formación de HMF y furfural y minimizan la degradación de estos compuestos a ácido levulínico y ácido fórmico.

Por último se lleva a cabo un estudio sobre la influencia de la agitación cuando se utiliza la tecnología de microondas y también un estudio de la influencia del pretratamiento de las muestras con ultrasonidos al objeto de incrementar la producción de compuestos furanos. Cuando se comparan los rendimientos alcanzados usando un horno de microondas convencional (MW) con los obtenidos utilizando un horno de microondas + agitación a 1000 rpm (MWstirring), y con los obtenidos mediante la

aplicación de un tratamiento previo de 15 min en un baño ultrasónico, seguido de calentamiento por microondas + agitación (15 'U MWstirring) se observa un considerable incremento en los rendimientos: 10,23-22,70-27,00% para la hoja carnauba, 12,00-13,65-25,77% para la cáscara de macaúba, 14,99-19,78-36,59% para la pulpa de macaúba, 11.76-30.24-32.13% para cáscara de piñón y 24.53-36.70-53.24% para la celulosa nativa

Artículo 2 (capítulo 4):

“Efficient microwave-assisted acid hydrolysis of lignocellulosic materials into total reducing sugars in ionic liquids”

“Hidrólisis ácida eficiente en líquidos iónicos, asistida por microondas, de materiales lignocelulósicos en azúcares reductores totales”

(Aceptado el 30-03-2015 en Cellulose Chemistry and Technology. Article Type: Original research paper)

El primer objetivo consiste en evaluar la idoneidad de diversos líquidos iónicos como medios de reacción. Cuando se opera con ChCl/urea como líquido iónico profundo (DES) trabajando con HNO₃ 10%, a 120°C durante 30 min, se consigue del estudio cinético que la combinación más ventajosa con producción de azúcares reductores totales (TRS) de 63,6%, 62,9%, 59,9% y 48,3% es para la celulosa nativa, hojas de carnauba, cáscara de piñón y la cáscara macaúba, respectivamente. Sin embargo no hay producción de azúcar para la ChCl/urea DES a 100 ° C. Para la mezcla eutéctica ChCl/oxálico, las producciones de TRS para 120°C a 140°C, consigue rendimientos de hasta el 83,7% para las hojas de carnauba, seguido de cáscara Macauba (76,8%), celulosa nativa (46,9%) y cáscara de piñón (0%). Cuando se utilizan los líquidos iónicos convencionales (TEAC y TEAB), la producción de TRS es muy baja: para TEAC, la mayor producción de TRS se produce a 100°C, mientras que para TEAB se presenta a 120°C. Las mayores producciones de TRS se alcanzan cuando se utilizan DES como medios de reacción. Además, los DES se consideran menos costoso y tóxicos que el resto de los líquidos iónicos (Yang et al., 2013). Las concentraciones de HMF/furfural fueron muy bajas, 0,069 a 0,10 g/L para ChCl/urea, y de 0,10 a 0,40 g/L para ChCl/oxalico. Valores de HMF y furfural por encima de 0,08 g/L puede afectar al proceso de fermentación (Keating et al., 2006).

El siguiente objetivo fue el relativo al estudio de la influencia de diferentes ácidos y su concentración en la producción de TRS. Se sabe que todos los ácidos estudiados (nitríco, sulfúrico, fosfórico, clorhídrico y ácido toluensulfónico) promueven la formación de azúcares reductores, pero el ácido nítrico HNO_3 al 10% peso, es el que nos ofrece mayores rendimientos de TRS para los materiales lignocelulósicos estudiados. Cuando la hidrólisis es catalizada por ácido HNO_3 , la formación de inhibidores de la fermentación (HMF y furfural) es muy baja, el mismo comportamiento se reporta por Kim et al. (2014). Por otra parte, el ácido HNO_3 como fuente de nitrógeno favorece la fermentación de la levadura (Laopaiboon et al., 2009). La celulosa nativa presenta un aumento de la producción de azúcares utilizando H_3PO_4 , de acuerdo con Li and Zhao (2007), pero no obstante el H_3PO_4 al 10% produce la mayor cantidad de HMF y furfural (concentraciones que van desde 45,59 hasta 73,28 mg/L) para los sustratos estudiados, debido a que se fomenta la isomerización de la glucosa en fructosa. El ácido HCl al 6% en peso, produce bajos rendimientos de TRS, en contra de lo reportado por Zhou et al. (2011) para la hidrólisis ácida del alga *Chlorella*. El ácido H_2SO_4 5% ha sido ampliamente utilizado como un catalizador de hidrólisis en la bibliografía, y en nuestro caso muestra valores de producción intermedios de TRS, que van desde 2,73 a 5,25 g/L, inferiores a los reportados por Saleh et al. (2014). En relación al ácido toluensulfónico (TsOH 5%), se promueve la formación de TRS con rendimientos que van del 31.6 to 53.3% , por encima de los reportados por Amarasekara and Wiredu (2011) operando con celulosa a 170°C durante 3 horas y obteniendo rendimientos de TRS del 32.6%; no obstante el TsOH origina productos indeseables (HMF y furfural) para la hoja de carnauba y la cáscara de macaúba (77.18 y 49.76 mg /L), respectivamente

El tercer objetivo era en relación con la mejor elección de los tiempos y las temperaturas para una mayor eficiencia de la hidrólisis asistida por microondas. En primer lugar y cuando se mantiene la temperatura de reacción a 120°C, el pico de producción de azúcares se alcanza a los 30 min, y se encuentra en el intervalo de TRS de 4,36 a 6,88 g/L. El aumento de la temperatura de reacción implica un aumento en los rendimientos de producción TRS para todos los sustratos. El mayor rendimiento de TRS se obtiene para hoja de carnauba a 140°C y durante tiempos de reacción en el intervalo de 15-30 min, lo cual se debe a que este material es el que presenta una mayor proporción de celulosa y hemicelulosa y de acuerdo con Rodríguez-Chong et al. (2004).

El proceso de degradación de los azúcares a HMF-furfural, aumenta con la temperatura (Mateus et al., 2012). La presencia dos fases en la reacción se observa cuando se incrementa el tiempo de reacción según Wijaya et al. (2014).

Como resultados del cuarto objetivo se ofrece en la memoria el estudio de la cinética del proceso de hidrólisis en un horno de microondas, con el fin de explicar las variaciones en la producción de azúcares reductores totales con respecto a la variación del tiempo. En general se observa que cuando aumenta el tiempo de hidrólisis, la concentración de azúcares se reduce, debido a la descomposición de los azúcares en furfural, HMF y ácido levulínico. La celulosa nativa es la que ofrece la mayor concentración de azúcares reductores totales (TRS) después de 30 min (6,36 g/L). De los materiales lignocelulósicos estudiados, la hoja de carnauba muestra un valor muy similar a la de la celulosa nativa (6,29 g/L), seguido de cáscara de piñón (5,99 g/L) y cascara de macauba (4,83 g/L). En todos los casos la formación de TRS alcanzó un máximo a los 30 min, después de lo cual el aumento del tiempo de reacción origina una disminución en el contenido TRS, debido a su degradación. No obstante las cantidades de HMF/furfural oscila entre 0,02 y 0,10 g/L, lo que apenas afecta a los microorganismos si se efectúa luego un proceso de fermentación (Bellido et al., 2011). La relación de las tasas de formación y descomposición TRS (k_1 / k_2) es cercana a 1 para todos los materiales, excepto para la cáscara de macauba (2.389).

Artículo 3 (capítulo 5):

“Rhodamine B removal with activated carbons obtained from lignocellulosic waste”.

“Remoción de Rodamina B con carbones activados de residuos lignocelulósicos”

(Disponible en línea el 12-03-2015 en Journal of Environmental Management. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.03.007>, Article Type: Original research)

Teniendo en cuenta los objetivos anteriormente expuesto, para este artículo, se comienza el trabajo estudiando cómo afecta la impregnación a las características de los carbones activos producidos cuando se utilizan dos agentes activadores diferentes: H_3PO_4 y $CaCl_2$. Después del proceso de carbonización para todos los materiales el contenido de carbono se incrementa, mientras que el contenido de oxígeno disminuye a valores entre 17,94% y 26,93%. Por otro lado el bajo contenido de nitrógeno de los materiales precursores, especialmente para el endocarpio de macauba (0,03%) y para la cáscara de piñón (0,03%), asegura bajas emisiones de NO_x durante la preparación de los

carbonos activados, mientras que las emisiones más elevadas se puede esperar para las hojas de carnauba (3,40%). Mediante el estudio de los patrones de difracción en polvo de rayos X se observa la presencia de picos anchos, lo que indica que la mayoría de las muestras son amorfas, característica típica de este tipo de adsorbentes porosos (Bouchelta et al., 2008). Algunos picos surgen esporádicamente en el perfil para el carbono activado obtenido a partir de hoja de carnauba tratada con H_3PO_4 (C_carnauba_ H_3PO_4) y, en menor medida, en los carbonos obtenidas de hojas de carnauba tratada con $CaCl_2$ (C_carnauba_ $CaCl_2$) y de cáscara de piñón tratada con H_3PO_4 (C_pine_nut_shell_ H_3PO_4), lo que indica la presencia de una pequeña fracción de material cristalino. En cuanto a la espectroscopio de ATR-FTIR se localiza la presencia de grupos carbonilo y la aromatización del precursor (Guo and Rockstraw, 2007), además de la presencia de ácidos, alcoholes, fenoles, éteres y ésteres (Freeman, 1990). Todos los carbonos impregnados H_3PO_4 presentan grupo fosfato. Por su parte en carbonos impregnados con $CaCl_2$ surge un pico cercano a 760 cm^{-1} correspondiente a las vibraciones C-Cl. Las mayores diferencias entre los carbonos activados con H_3PO_4 y $CaCl_2$ se dan en la características texturales de los mismos. Las isothermas de nitrógeno de adsorción-desorción, para todos los carbonos, son de tipo IV con los ciclos de histéresis (Sing, 1985), esta clase de isoterma es típica de los sólidos mesoporosos (Zhou et al., 2009), ya que se produce la adsorción en multicapas. Todas las isothermas presentan una histéresis tipo H4, que es típica de materiales complejos que contienen tanto microporos y mesoporos en los carbonos activados. Los materiales impregnados con H_3PO_4 presentan mayor área superficial (BET), para endocarpio de macaúba ($371,12\text{ m}^2/\text{g}$) y la cáscara de piñón ($296,01\text{ m}^2/\text{g}$), mientras que en el caso de la hoja carnauba esta área es mayor para el carbón impregnados con $CaCl_2$ ($402,43\text{ m}^2/\text{g}$). El volumen de los poros varia de $0,12$ a $0,24\text{ cm}^3/\text{g}$, y el valor más alto se produce en C_carnauba_ $CaCl_2$. Los carbonos activados con $CaCl_2$ tienen un tamaño medio de poro mayor ($18,25$ a $23,16\text{ \AA}$) en comparación con las activadas con H_3PO_4 ($17,26$ a $19,97\text{ \AA}$), por lo que se puede inferir que la activación $CaCl_2$ produce poros más grandes, con más presencia de mesoporos, lo cual se corrobora en las micrografías SEM, en las que se observa que los macroporos de los carbonos activados con $CaCl_2$ presentan una mayor variabilidad y tamaño con respecto a los activados con H_3PO_4 .

En relación con los objetivos propuestos, se evalúan los efectos de las variaciones del pH de la solución, concentración de adsorbato, tiempo de contacto,

temperatura y dosis de adsorbente en el proceso de adsorción de RhB. El aumento del pH de la solución provoca un aumento de la capacidad de adsorción, hasta alcanzar un máximo a pH 8, a partir del cual la capacidad de absorción disminuye, debido a la formación de iones hidratados de RhB. Para los carbonos activados con H_3PO_4 este aumento es más pronunciado, y pasa de 31.89 mg/L (pH 2) a 32,34 mg/L (pH 8) para el carbón obtenido a partir hojas de carnauba. La mayor capacidad de adsorción para los diferentes carbonos activados se produce a pH 8, y este mismo comportamiento se ofrece por Santhi et al. (2014). Cuando se aumenta la concentración de carbón activado el porcentaje de remoción aumenta (por ejemplo, de 87,6% a 99,85% para C_carnauba_CaCl₂), y este aumento se vuelve insignificante por encima de 4 g/L, de acuerdo con Namasivayam et al. (2001). La adsorción varía con tiempo de contacto, al principio la adsorción es muy rápida y disminuye gradualmente hasta que se alcanza el equilibrio después de 120 min, y ocurre en dos fases (Fernandez et al., 2014; Gad and El-Sayed, 2009; Wang and Zhu, 2007). Por último, el aumento de la concentración inicial de colorante y la temperatura de reacción provocan un aumento en la capacidad de adsorción para todos los carbonos activos. El aumento de la adsorción con la concentración de colorantes se debe al aumento en la fuerza motriz del gradiente de concentración, lo que disminuye la resistencia a la transferencia de masa de los iones entre el medio acuoso y el sorbente (Aksu and Dönmez, 2003). El aumento de la absorción con el aumento de la temperatura indica la naturaleza endotérmica del proceso, Wang and Zhu (2007)

Seguidamente se ajustan los datos experimentales a dos modelos cinéticos (pseudo-primer orden y pseudo-segundo orden). Los datos de la variación de la concentración inicial se ajustan a los modelos de isotermas de Freundlich y Langmuir. El carbón C_carnauba_H₃PO₄ presenta la mayor tasa de eliminación de tinte (k_1), seguido de C_carnauba_CaCl₂ > C_pine_nut_shell_CaCl₂ > C_macauba_CaCl₂ > C_pine_nut_shell_H₃PO₄ > C_macauba_H₃PO₄. El modelo cinético de pseudo-segundo orden, no sólo presenta coeficientes de correlación superiores a 0,99, sino que los valores de adsorción calculados (q_{e_cal}) se ajustan a los datos experimentales (q_{e_exp}), lo que implica que la tasa de adsorción es más dependiente de la disponibilidad de los sitios de adsorción que de la concentración de colorante en la solución (Kadirvelu et al., 2005; Wang et al., 2010). El modelo de Freundlich tiene un mejor ajuste a los datos experimentales que el modelo de Langmuir en todos los casos, lo que muestra la

heterogeneidad de la superficie de los carbones activados objeto de estudio. La adsorción máximo (Q_{max}) para los diferentes carbones disminuye en el siguiente orden: C_carnauba_CaCl₂> C_carnauba_H₃PO₄> C_macauba_CaCl₂> C_piñon_CaCl₂> C_piñon_H₃PO₄> C_macauba_H₃PO₄, y los carbones activados con CaCl₂ muestran mayores valores de Q_{max} que las activadas con H₃PO₄, debido al mayor tamaño de sus poros. Los parámetros termodinámicos revelan que la reacción es espontánea y endotérmica

Por último se estudia el efecto del contenido de celulosa de los materiales precursores en la capacidad de absorción de los carbones activados resultantes. A partir de materiales precursores con mayor contenido en celulosa se producen carbones activados con un área superficial BET y volumen medio de poros mayor; ese aumento de poro con el aumento de la cantidad de celulosa también se reporta por Cagnon et al. (2009). La eliminación RhB aumenta significativamente del 78% para el carbón activado que se obtiene a partir de cáscara piñón pura, al 97% para la cascara de piñón más un 50% en peso de celulosa.

Artículo 4 (capítulo 6):

"An example lignocellulosic waste reuse in two consecutive steps: sorption of contaminants and enzymatic hydrolysis"

"Un ejemplo de reutilización de residuos lignocelulósicos en dos fases consecutivas: absorción de contaminantes y la hidrólisis enzimática"

(Aceptado el 30-03-2015 en Cellulose Chemistry and Technology. Article Type: Original research paper)

Para dar respuesta al primer objetivo se caracterizan los materiales lignocelulósicos naturales, teniendo en cuenta su textura y composición superficial. Todos los materiales estudiados presentan una prevalencia de grupos ácidos (carboxílicos, fenólicos, lactonas y carbonilos) sobre los grupos básicos, por lo que la superficie de los materiales es ácida. Esta naturaleza ácida también se confirma con los valores obtenidos a partir de pH_{PZC} . Los valores de azul de metileno son mayores que los valores de yodo para todos los materiales, por lo que se puede inferir que los materiales tienen una mayor cantidad de macroporos y una menor cantidad de meso/microporos. El área de Brunauer, Emmett y Teller (BET) muestra un área de

superficie muy pequeña (0,60-0,86 m²/g) en comparación con el carbón activado de origen mineral (3,000 m²/g).

Seguidamente se procede al estudio de la capacidad de adsorción de la RhB por diferentes materiales lignocelulósicos naturales, y para ello se varían las concentraciones iniciales de colorante, el tiempo de contacto y la temperatura del proceso de adsorción. Los datos experimentales se ajustan mediante modelos cinéticos e isoterms. El estudio de la variación del tiempo de contacto muestra una fase inicial de adsorción rápida en los primeros 30 minutos, seguido de un aumento casi insignificante de la capacidad de adsorción de acuerdo con Chen et al. (2010). Los datos experimentales presentan un mejor ajuste al modelo cinético pseudo-segundo orden, además la capacidad de adsorción (q_{e_cal}) calculada es más cercana al valor experimental (q_{e_exp}), lo que indica que la quimisorción (fuerzas de valencia o el intercambio de electrones) es el paso limitante de la adsorción. La capacidad de adsorción aumenta con el aumento de concentración inicial de colorante, debido a la mayor fuerza motriz del gradiente de concentración, lo que disminuye la resistencia a la transferencia de iones entre el medio acuoso y el sorbente (Aksu and Dönmez, 2003). El modelo de isoterma de Langmuir se ajusta mejor para los datos experimentales de adsorción de la RhB para la hoja de carnauba y la cáscara de piñón, lo que implica que el colorante se adsorbe homogéneamente en una monocapa y que cada molécula de colorante en la superficie biosorbente tiene una energía de activación (Ho et al., 2005). La adsorción en el endocarpio de macaúba muestra un mejor ajuste al modelo de Freundlich, lo que indica que la adsorción tiene lugar en diferentes sitios de unión. La capacidad máxima de adsorción monocapa fue de 36,54, 17,75 y 18,85 mg/g para hoja de carnauba, cáscara de nuez de piñón y endocarpio de macaúba, respectivamente. El aumento capacidad de adsorción con la temperatura muestra la naturaleza endotérmica del proceso, esto se debe aumento del grado de difusión de las moléculas en el soluto o a cambios en la superficie del sorbente (Srivastava and Rupainwar, 2009). Los parámetros termodinámicos muestran que el proceso es espontáneo en la naturaleza y endotérmico.

El siguiente objetivo fue estudiar la producción de azúcares reductores totales, por medio de hidrólisis enzimática, y después del proceso de adsorción y en comparación con los materiales sin adsorber. La producciones TRS por parte de los materiales lignocelulósicos antes de adsorción es de 42.86 g/L, 38.19 g/L y 32.67 g/L

para hoja de carnauba, endocarpio de macaúba y cáscara de piñón, respectivamente. Estos valores están dentro de los reportados por Leaes et al. (2013). Por su parte las producciones de TRS después de la adsorción son ligeramente inferiores en el caso de hoja de carnauba y endocarpio de macaúba (37,84 g/L y 32.60 g/L, respectivamente) y ligeramente superiores para la cascara de piñón (33,59 g/L). Las muestras C_{HE} , C_{RHE} y P_{RHE} presentan contenidos de HMF de 0,17 g/L, 0,09 g/L y 0,03 g/L, respectivamente. Mientras que aparecen contenidos de furfural en las muestras M_{RHE} (0,03 g/L) y P_{RHE} (0,01 g/L). Estos compuestos (furanos) puede tener un efecto perjudicial sobre el proceso de fermentación, en particular cuando se utilizan levaduras (Heer and Sauer, 2008). Los menores valores de lignina solubles indican que los materiales después de la absorción presentan mejor deslignificación, este contenido de lignina también puede ser un inhibidor de la hidrólisis enzimática (Koo et al., 2012). La glucosa (3.20 a 8.12 g/L) y xilosa (0,14 a 2,6 g) son los azúcares que mayor concentración presentan, esto se debe a que la glucosa y xilosa son los principales constituyentes de la celulosa y la hemicelulosa, respectivamente (Coletta et al., 2013). Las concentraciones más bajas se observan para la galactosa (0,05-0,16 g/L), arabinosa (0,01-0,12 g/L) y fructosa (0,21 a 1,22 g/L). El valor obtenido para la fructosa se puede atribuir a la isomerización de la glucosa. La suma de las concentraciones de azúcares identificados por cromatografía iónica diverge de los valores de azúcares reductores totales, debido a que la cromatografía iónica sólo mide los principales monosacáridos (glucosa, xilosa, galactosa, arabinosa y fructosa), mientras TRS mide todos los azúcares que contengan un grupo aldehído o capaces de formarlo.

Por último se procedió caracterización de la fase sólida antes y después de la hidrólisis enzimática por DRX y FTIR. Los índice de cristalinidad (CrI) del endocarpio de macaúba y la cáscaras de piñón muestran valores similares antes de la hidrólisis (42,26% y 42,0%, respectivamente), más altos que los de las hoja de carnauba (34,36%). Esto sugiere que las hojas de carnauba presentan zonas más amorfos y son por lo tanto más fácilmente atacadas por las enzimas (Park et al., 2010). El CrI aumenta después de la hidrólisis enzimática en el caso de la hoja de carnauba y la cascara de piñón, mientras que disminuye en caso del endocarpio de macaúba, debido a que la región amorfa se ha digerido y que la hidrólisis adicional de la región cristalina ha tenido lugar (Chen et al., 2007). Los materiales hidrolizados después de la adsorción de la hoja de carnauba, cáscara de macaúba y cáscara del piñón (C_{RHE} , M_{RHE} , P_{RHE}) poseen

mayor CrI en comparación con los materiales sin adsorber (C_{HE} , M_{HE} , P_{HE}). Los materiales con valores mayores de CrI (M_{HE} 41,10 vs. M_{RHE} 40,76) muestran concentraciones más bajas de TRS (M_{RHE} 32,60 g/L vs. M_{HE} 38,19 g/L), lo cual se debe al hecho de que la hidrólisis enzimática también elimina otros materiales amorfos tales como la lignina y/o hemicelulosa (Evans et al., 1995). En el espectro FTIR-ATR se observan picos a 2916 cm^{-1} y 2850 cm^{-1} , que corresponde a las vibraciones simétricas y asimétricas $-CH_2$ (guayacil, siringil) de la lignina (Carvalho, 1982), en particular para hojas de carnauba. La comparación de intensidades indica que la cantidad de lignina disminuye después de la hidrólisis enzimática. La banda a 1730 cm^{-1} se puede asignar a $C = O$ estiramiento en los anillos aromáticos no conjugados de lignina (Salcedo et al., 2013), y está inversamente relacionada con el enriquecimiento en holocelulosa (Dorado et al., 2001). Las bandas de absorción en el rango $1510\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ se debe a la vibración del esqueleto de los anillos aromáticos de la lignina (Bodîrlău and Teacă, 2009). Un aumento de este picos se observa para los tres materiales, lo que indica una eliminación parcial de la celulosa (Sun et al., 2005). La banda más prominente, que permanece inalterada entre los tratamientos, se encuentra en 1030 cm^{-1} y se asigna a vibraciones CO de los anillos piranosicos de la celulosa, lo que indica que estos no han sido atacados por la hidrólisis enzimática (Dorado et al., 2001).

7.2. Referencias

- Aksu, Z., and Dönmez, G. (2003). A comparative study on the biosorption characteristics of some yeasts for Remazol Blue reactive dye. *Chemosphere* **50**, 1075-1083.
- Amarasekara, A. S., and Wiredu, B. (2011). Degradation of cellulose in dilute aqueous solutions of acidic ionic liquid 1-(1-propylsulfonic)-3-methylimidazolium chloride, and p-toluenesulfonic acid at moderate temperatures and pressures. *Industrial and Engineering Chemistry Research* **50**, 12276-12280.
- Bellido, C., Bolado, S., Coca, M., Lucas, S., González-Benito, G., and García-Cubero, M. T. (2011). Effect of inhibitors formed during wheat straw pretreatment on ethanol fermentation by *Pichia stipitis*. *Bioresource Technology* **102**, 10868-10874.
- Bodîrlău, R., and Teacă, C. (2009). Fourier transform infrared spectroscopy and thermal analysis of lignocellulose fillers treated with organic anhydrides. In "8th International Balkan Workshop on Applied Physics", pp. 5-7.
- Bouchelta, C., Medjram, M. S., Bertrand, O., and Bellat, J.-P. (2008). Preparation and characterization of activated carbon from date stones by physical activation with steam. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **82**, 70-77.

- Caes, B. R., and Raines, R. T. (2011). Conversion of Fructose into 5-(Hydroxymethyl) furfural in Sulfolane. *ChemSusChem* **4**, 353-356.
- Cagnon, B., Py, X., Guillot, A., Stoeckli, F., and Chambat, G. (2009). Contributions of hemicellulose, cellulose and lignin to the mass and the porous properties of chars and steam activated carbons from various lignocellulosic precursors. *Bioresource Technology* **100**, 292-298.
- Cao, Q., Guo, X., Guan, J., Mu, X., and Zhang, D. (2011). A process for efficient conversion of fructose into 5-hydroxymethylfurfural in ammonium salts. *Applied Catalysis A: General* **403**, 98-103.
- Carvalho, J. B. d. M. (1982). "Ensaio sobre a Carnaubeira," 2/Ed. EMPARN, Natal.
- Coletta, V. C., Rezende, C. A., da Conceição, F. R., Polikarpov, I., and Guimarães, F. E. G. (2013). Mapping the lignin distribution in pretreated sugarcane bagasse by confocal and fluorescence lifetime imaging microscopy. *Biotechnology for biofuels* **6**, 43.
- Chen, S., Zhang, J., Zhang, C., Yue, Q., Li, Y., and Li, C. (2010). Equilibrium and kinetic studies of methyl orange and methyl violet adsorption on activated carbon derived from *Phragmites australis*. *Desalination* **252**, 149-156.
- Chin, S. X., Chia, C. H., Fang, Z., Zakaria, S., Li, X. K., and Zhang, F. (2014). A Kinetic Study on Acid Hydrolysis of Oil Palm Empty Fruit Bunch Fibers Using a Microwave Reactor System. *Energy and Fuels* **28**, 2589-2597.
- Dautzenberg, G., Gerhardt, M., and Kamm, B. (2011). Bio based fuels and fuel additives from lignocellulose feedstock via the production of levulinic acid and furfural. *Holzforschung* **65**, 439-451.
- Dorado, J., Almendros, G., Field, J. A., and Sierra-Alvarez, R. (2001). Infrared spectroscopy analysis of hemp (*Cannabis sativa*) after selective delignification by *Bjerkandera* sp. at different nitrogen levels. *Enzyme and Microbial Technology* **28**, 550-559.
- Evans, R., Newman, R. H., Roick, U. C., Suckling, I. D., and Wallis, A. F. (1995). Changes in cellulose crystallinity during kraft pulping. Comparison of infrared, X-ray diffraction and solid state NMR results. *Holzforschung-International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood* **49**, 498-504.
- Fernandez, M. E., Nunell, G. V., Bonelli, P. R., and Cukierman, A. L. (2014). Activated carbon developed from orange peels: Batch and dynamic competitive adsorption of basic dyes. *Industrial Crops and Products* **62**, 437-445.
- Freeman, J. J. (1990). Active carbon Edited by R. C. Bansal, J.-B. Donnet and F. Stoeckli. Marcel Dekker, New York, 1988, pp. xiv + 482, US\$150.00. ISBN 0-8247-7842-1. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* **48**, 240-241.
- Gad, H. M. H., and El-Sayed, A. A. (2009). Activated carbon from agricultural by-products for the removal of Rhodamine-B from aqueous solution. *Journal of Hazardous Materials* **168**, 1070-1081.
- Guo, Y., and Rockstraw, D. A. (2007). Physicochemical properties of carbons prepared from pecan shell by phosphoric acid activation. *Bioresource technology* **98**, 1513-1521.

- Heer, D., and Sauer, U. (2008). Identification of furfural as a key toxin in lignocellulosic hydrolysates and evolution of a tolerant yeast strain. *Microbial Biotechnology* **1**, 497-506.
- Ho, Y.-S., Chiang, T.-H., and Hsueh, Y.-M. (2005). Removal of basic dye from aqueous solution using tree fern as a biosorbent. *Process Biochemistry* **40**, 119-124.
- Hu, S., Zhang, Z., Zhou, Y., Han, B., Fan, H., Li, W., Song, J., and Xie, Y. (2008). Conversion of fructose to 5-hydroxymethylfurfural using ionic liquids prepared from renewable materials. *Green Chemistry* **10**, 1280-1283.
- Jagtoyen, M., and Derbyshire, F. (1998). Activated carbons from yellow poplar and white oak by H₃PO₄ activation. *Carbon* **36**, 1085-1097.
- Kadirvelu, K., Karthika, C., Vennilamani, N., and Patabhi, S. (2005). Activated carbon from industrial solid waste as an adsorbent for the removal of Rhodamine-B from aqueous solution: Kinetic and equilibrium studies. *Chemosphere* **60**, 1009-1017.
- Kawamoto, H., Horigoshi, S., and Saka, S. (2007). Pyrolysis reactions of various lignin model dimers. *Journal of wood science* **53**, 168-174.
- Kawamoto, H., Murayama, M., and Saka, S. (2003). Pyrolysis behavior of levoglucosan as an intermediate in cellulose pyrolysis: polymerization into polysaccharide as a key reaction to carbonized product formation. *Journal of Wood Science* **49**, 469-473.
- Keating, J. D., Panganiban, C., and Mansfield, S. D. (2006). Tolerance and adaptation of ethanologenic yeasts to lignocellulosic inhibitory compounds. *Biotechnology and Bioengineering* **93**, 1196-1206.
- Kim, D.-H., Lee, S.-B., and Jeong, G.-T. (2014). Production of reducing sugar from *Enteromorpha intestinalis* by hydrothermal and enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology* **161**, 348-353.
- Koo, B.-W., Min, B.-C., Gwak, K.-S., Lee, S.-M., Choi, J.-W., Yeo, H., and Choi, I.-G. (2012). Structural changes in lignin during organosolv pretreatment of *Liriodendron tulipifera* and the effect on enzymatic hydrolysis. *Biomass and Bioenergy* **42**, 24-32.
- Laopaiboon, L., Nuanpeng, S., Srinophakun, P., Klanrit, P., and Laopaiboon, P. (2009). Ethanol production from sweet sorghum juice using very high gravity technology: Effects of carbon and nitrogen supplementations. *Bioresource technology* **100**, 4176-4182.
- Leaes, E. X., Zimmermann, E., Souza, M., Ramon, A. P., Mezdri, E. T., Dal Prá, V., Terra, L. M., and Mazutti, M. A. (2013). Ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis of cassava waste to obtain fermentable sugars. *Biosystems Engineering* **115**, 1-6.
- Li, C., and Zhao, Z. K. (2007). Efficient Acid-Catalyzed Hydrolysis of Cellulose in Ionic Liquid. *Advanced Synthesis & Catalysis* **349**, 1847-1850.
- Mateus, L., Hernández, O., Velásquez, M., and Velásquez, J. d. J. D. (2012). Evaluación del pretratamiento con ácido sulfúrico diluido del pasto maralfalfa (*Pennisetum glaucum* x *Pennisetum purpureum*) para la producción de etanol. *Revista Colombiana de Biotecnología* **14**, 146-156.

- Miljkovic, M. (2009). "Carbohydrates: synthesis, mechanisms, and stereoelectronic effects," Springer.
- Namasivayam, C., Radhika, R., and Suba, S. (2001). Uptake of dyes by a promising locally available agricultural solid waste: coir pith. *Waste Management* **21**, 381-387.
- Park, S., Baker, J. O., Himmel, M. E., Parilla, P. A., and Johnson, D. K. (2010). Research Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnol Biofuels* **3**.
- Qi, X., Guo, H., and Li, L. (2011). Efficient conversion of fructose to 5-hydroxymethylfurfural catalyzed by sulfated zirconia in ionic liquids. *Industrial & Engineering Chemistry Research* **50**, 7985-7989.
- Qi, X., Watanabe, M., Aida, T. M., and Smith, R. L. (2009). Efficient Catalytic Conversion of Fructose into 5-Hydroxymethylfurfural in Ionic Liquids at Room Temperature. *ChemSusChem* **2**, 944-946.
- Rodríguez-Chong, A., Alberto Ramírez, J., Garrote, G., and Vázquez, M. (2004). Hydrolysis of sugar cane bagasse using nitric acid: a kinetic assessment. *Journal of Food Engineering* **61**, 143-152.
- Salcedo, J. G., Rios, J. M., Ferrer, A., López, J. E., Pardo, L. M., and Aiello, C. (2013). Efecto de pretratamientos deslignificantes sobre la cristalinidad, hidrólisis enzimática y ultraestructura de residuos de la cosecha de la caña de azúcar. *Acta Microscopica* **22**, 142-151.
- Saleh, M., Cuevas, M., García, J. F., and Sánchez, S. (2014). Valorization of olive stones for xylitol and ethanol production from dilute acid pretreatment via enzymatic hydrolysis and fermentation by *Pachysolen tannophilus*. *Biochemical Engineering Journal* **90**, 286-293.
- Santhi, T., Prasad, A. L., and Manonmani, S. (2014). A comparative study of microwave and chemically treated *Acacia nilotica* leaf as an eco friendly adsorbent for the removal of rhodamine B dye from aqueous solution. *Arabian Journal of Chemistry* **7**, 494-503.
- Sing, K. S. W. (1985). Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity (Recommendations 1984). In "Pure and Applied Chemistry", Vol. 57, pp. 603.
- Siqueira, B., Silva, M., and Moraes, C. (2013). Synthesis of HMF from glucose in aqueous medium using niobium and titanium oxides. *Brazilian Journal of Petroleum and Gas* **7**.
- Srivastava, R., and Rupainwar, D. C. (2009). Eucalyptus bark powder as an effective adsorbent: Evaluation of adsorptive characteristics for various dyes. *Desalination and Water Treatment* **11**, 302-313.
- Sun, X. F., Xu, F., Sun, R. C., Fowler, P., and Baird, M. S. (2005). Characteristics of degraded cellulose obtained from steam-exploded wheat straw. *Carbohydrate Research* **340**, 97-106.
- Tao, F.-R., Zhuang, C., Cui, Y.-Z., and Xu, J. (2014). Dehydration of glucose into 5-hydroxymethylfurfural in SO₃H-functionalized ionic liquids. *Chinese Chemical Letters* **25**, 757-761.

- Wang, L., Zhang, J., Zhao, R., Li, C., Li, Y., and Zhang, C. (2010). Adsorption of basic dyes on activated carbon prepared from *Polygonum orientale* Linn: Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies. *Desalination* **254**, 68-74.
- Wang, S., and Zhu, Z. H. (2007). Effects of acidic treatment of activated carbons on dye adsorption. *Dyes and Pigments* **75**, 306-314.
- Wijaya, Y. P., Putra, R. D. D., Widayana, V. T., Ha, J.-M., Suh, D. J., and Kim, C. S. (2014). Comparative study on two-step concentrated acid hydrolysis for the extraction of sugars from lignocellulosic biomass. *Bioresource technology* **164**, 221-231.
- Yang, Z., Kang, H., Guo, Y., Zhuang, G., Bai, Z., Zhang, H., Feng, C., and Dong, Y. (2013). Dilute-acid conversion of cotton straw to sugars and levulinic acid via 2-stage hydrolysis. *Industrial Crops and Products* **46**, 205-209.
- Yuan, Z., Xu, C., Cheng, S., and Leitch, M. (2011). Catalytic conversion of glucose to 5-hydroxymethyl furfural using inexpensive co-catalysts and solvents. *Carbohydrate Research* **346**, 2019-2023.
- Zhang, L.-X., Yu, H., Yu, H.-B., Chen, Z., and Yang, L. (2014). Conversion of xylose and xylan into furfural in biorenewable choline chloride–oxalic acid deep eutectic solvent with the addition of metal chloride. *Chinese Chemical Letters* **25**, 1132-1136.
- Zhou, A., Ma, X., and Song, C. (2009). Effects of oxidative modification of carbon surface on the adsorption of sulfur compounds in diesel fuel. *Applied Catalysis B: Environmental* **87**, 190-199.
- Zhou, N., Zhang, Y., Wu, X., Gong, X., and Wang, Q. (2011). Hydrolysis of *Chlorella* biomass for fermentable sugars in the presence of HCl and MgCl₂. *Bioresource Technology* **102**, 10158-10161.



8. CONCLUSIONES GENERALES

8.1. Conclusiones generales

De los resultados obtenidos del presente estudio sobre “Aprovechamiento de residuos lignocelulósicos para la producción de biocombustibles y biomateriales” se han elaborado por capítulos las siguientes conclusiones:

En relación con el capítulo “*Estudio cinético sobre la conversión asistida por microondas de celulosa y residuos de lignocelulosa en HMF/furfural*”

1. Tras el estudio de los diferentes medios de reacción se concluye que la mezcla eutéctica a base de cloruro de colina y ácido oxálico es la más favorable para la producción de HMF/furfural. Respecto a la elección de las condiciones óptimas que mejor favorecen la producción de HMF/furfural de los sustratos estudiados, se concluye que es la mezcla constituida por 5 ml de ChCl/Ox, 2 ml de sulfolane, 2 ml de agua, 0,02 g de TiO₂ y 0,1 g de sustrato, la más idónea cuando se utiliza la tecnología de microondas para el ataque de la celulosa y de los residuos lignocelulósicos objeto de estudio.
2. Una vez ajustado los datos experimentales de la hidrólisis ácida al modelo cinético de Saeman, se puede concluir que las condiciones óptimas para la conversión asistida por microondas para la producción de HMF + furfural, es cuando se opera en los reactores de microondas a una temperatura de 140°C durante 30 minutos para los diferentes sustratos de carnauba o macaúba, con la excepción de la cáscara de piñón, para la que se precisa aumentar la temperatura del tratamiento hasta los 160°C durante 30 minutos. En el caso de la celulosa nativa se observa que la mayor producción de HMF+ furfural, se produce a 200°C durante 30 minutos. Cuando se estudia por separado la producción de HMF y de furfural a partir de los diferentes sustratos estudiados (celulosa y materiales lignocelulósicos), se concluye que la mayor producción de HMF tiene lugar a 200°C, mientras que la mayor producción de furfural es a 140°C.
3. En relación con la elección de la posible incorporación de un sistema agitación combinada con un tratamiento de microondas durante la hidrólisis de los diferentes sustratos y de la realización de un pretratamiento previo con ultrasonidos, se concluye que la incorporación de estos sistemas favorece de manera drástica la

producción de HMF y furfural, frente al tratamiento en un horno de microondas convencional.

En relación con el capítulo: *“Hidrólisis ácida eficiente en líquidos iónicos, asistida por microondas, de materiales lignocelulósicos en azúcares reductores totales”* se han establecido las siguientes conclusiones:

4. Tras el estudio de los diferentes medios de reacción se concluye que las mezclas eutécticas a base de líquidos iónicos profundos (DES) (CHCl/oxálico y CHCl/urea) favorece una mejor producción de azúcares reductores totales (TRS) frente a cuando se elige trabajar con líquidos iónicos convencionales (TEAC y TEAB), siendo los primeros menos tóxicos y más verdes y adicionalmente se pueden preparar a gran escala. Una vez ajustado los datos experimentales de la hidrólisis ácida al modelo cinético de Saeman se concluye que la asociación ChCl/urea con 10% HNO₃, a 120°C y durante 30 min, es la mezcla de elección para una mayor producción de azúcares reductores totales (TRS) con bajos contenidos en furfural e HMF.
5. De los sustratos estudiados, la mayor producción de TRS se consigue para celulosa nativa (63.6%), seguida de la hoja de carnaúba (62.9%) debido a sus elevados contenidos en celulosa y baja cristalinidad y luego la cáscara de piñón (59.9%) y por último la cáscara de macaúba (48.3%).
6. Con respecto a la elección del ácido que consigue los mejores rendimientos en la producción de TRS a partir de sustratos lignocelulósicos se concluye que es el ácido nítrico HNO₃ al 10% en pesos y adicionalmente no inhibe la fermentación, pero cuando se opera con celulosa nativa se precisan condiciones más drásticas o dosis de ácido nítrico del 15%.

En relación con el capítulo: *“Remoción de Rhodamine B con carbones activados obtenidos de residuos lignocelulósicos”* se han establecido las siguientes conclusiones:

7. Tras el estudio del efecto del agente activador en las características de los carbones activados estudiados se concluye que la activación con CaCl₂ favorece la formación de mesoporos, presentado mayores valores de volumen y tamaño medio de poros, con respecto a los carbones activados con H₃PO₄.

8. Se concluye que la variación de pH, la dosis de carbón, el tiempo de reacción, la concentración inicial de colorante y la temperatura, son capaces de modificar la capacidad de absorción de los carbones objeto de estudio
9. Mediante los ajustes los datos experimentales a los modelos, se puede concluir que todos los carbones activados estudiados se ajustan a un modelo de pseudo-segundo orden, siendo la tasa de adsorción más dependiente de la disponibilidad de los sitios de adsorción que de la concentración de colorante en la solución. Los datos de equilibrio se ajustan al modelo isoterma de Freundlich, mostrando una adsorción en múltiples capas con una distribución heterogénea de energía de los sitios activos. Y a partir de los parámetros termodinámicos (ΔH^0 , ΔS^0 y ΔG^0) se puede concluir que el proceso de adsorción es endotérmico y espontáneo en la naturaleza.
10. Tras la evaluación de los resultados obtenidos durante el estudio del efecto del contenido de celulosa en el material precursor, se concluye que cuanto mayor es el contenido de celulosa de los materiales precursores, mayor es la capacidad de adsorción de los carbones resultantes, debido a la mayor presencia de mesoporos.

En relación con el capítulo: *“Un ejemplo de reutilización de residuos lignocelulósicos en dos etapas consecutivas: sorción de contaminantes e hidrólisis enzimática”* se han establecido las siguientes conclusiones:

11. Mediante el estudio de la capacidad de adsorción de Rodamina-B por parte de los diferentes materiales lignocelulósicos, se observa que los materiales estudiados se comportan como eficientes biosorbentes, siendo la afinidad de adsorción del endocarpio de macauba > cascara de piñón > hoja de carnauba.
12. Durante el estudio del efecto del tiempo de contacto en la adsorción, se concluye que los materiales requieren períodos cortos de tiempo para alcanzar el equilibrio (aproximadamente 30 minutos), favoreciendo así su aplicabilidad a sistemas de tratamiento de agua al disminuir sus tiempos de retención.
13. Mediante los ajustes los datos experimentales a los modelos se concluye que el estudio cinético se ajusta a un modelo cinético de orden pseudo-segundo, lo que implica que la quimisorción es el paso limitante. Por otro lado, los datos de equilibrio se ajustan a ambos modelos de Langmuir y Freundlich, lo que sugiere tanto la adsorción física como la química. Los resultados termodinámicos muestran la naturaleza viable, espontánea y endotérmica del proceso.

14. Con respecto a la producción de azúcares reductores totales (TRS) por hidrólisis enzimática a partir de materiales después de un proceso de adsorción de RhB, se puede concluir que estos tres materiales muestran una buena producción de azúcares después de su uso como biosorbentes, con valores muy próximos a los de las materiales sin adsorber.

En consecuencia se han alcanzado satisfactoriamente todo los objetivos planteados al comienzo de esta tesis.



9. LÍNEAS DE FUTURO

9.1. Líneas de futuro

La tesis también ha identificado áreas de investigación prometedoras que requieren un trabajo investigador adicional. Estos se resumen de la siguiente manera.

- En el **capítulo 3** se abre la posibilidad de realizar un estudio específico sobre los efectos tanto de los pretratamientos (ultrasonidos...etc) como de las condiciones de manejo del equipo de microondas (agitación, presión...etc). También cabe la posibilidad de estudiar otros medios de reacción que alcancen un adecuado comportamiento técnico, económico y medio ambiental.
- En el caso de la producción de azúcares reductores totales a partir de materiales lignocelulósicos mediante hidrólisis ácida (**capítulo 4**), también se propone el estudio de diferentes pretratamientos que puedan favorecer esta producción de azúcares, así como la variación de las condiciones de reacción (agitación, presión). Otra línea de investigación interesante sería el seguimiento del proceso hasta la fase final de producción de bioetanol y estudiar los efectos de los inhibidores y como poder minimizarlos.
- En el **capítulo 3 y 4** se ha trabajado con un horno de microondas, también sería interesante estudiar otras opciones, como puede ser el caso de llevar a cabo el estudio con un sonicador o equipo de ultrasonido directamente sobre el sustrato disperso en el medio de reacción y ver si existen diferencias significativas entre los dos sistemas o ambos combinados
- Dentro de las posibles líneas futuras en la fabricación y la aplicación de carbones activados a partir de materiales lignocelulósicos (**capítulo 5**), se proponen las siguientes nuevas experiencias: (i) Estudio pormenorizado de todos los parámetros que influyen en el proceso de fabricación de los carbones activados y determinar el más apto (ejemplo tiempo y temperatura de carbonización en el producto final), (ii) Estudiar cómo se comportan nuestros carbones en la absorción de otros contaminante (pesticidas, metales pesado..), (iii) Realizar al estudio de adsorción en columnas y ver cómo se comporta nuestros carbones dentro de un ciclo de adsorción/desorción.
- Por último el **capítulo 6** de la presente tesis presenta un nuevo panorama de aprovechamiento en dos fase de residuos lignocelulósicos, que habría que estudiar con más detenimiento centrándose en las posibles interferencias que

pueden aparecer entre los azúcares producidos y los posibles restos de colorantes presentes en la disolución, y estudiar cómo afectaría a la producción de bioetanol y al uso de diferentes herramientas para conseguir separar el colorante de los azúcares.

- Antes de iniciar cualquier tipo de proceso, sería necesario efectuar estudios teóricos teniendo en cuenta los parámetros que mejoran la solubilidad o parámetros de Hildebrand y de Hansen, al objeto de estimar de una forma cuantitativa el grado de interacción entre los sustratos objeto de estudio y los diferentes tipos de disolventes.