



FACULTAD DE CIENCIAS
Departamento de Química-Física Aplicada

HIDRÓLISIS ÁCIDA DE CELULOSA Y BIOMASA LIGNOCELULÓSICA ASISTIDA CON LÍQUIDOS IÓNICOS

MEMORIA

Para aspirar al grado de

DOCTOR EN CIENCIAS QUÍMICAS

Silvia Morales de la Rosa

Instituto de Catálisis y Petroleoquímica
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Madrid, 2015



SILVIA MORALES DE LA ROSA

**HIDRÓLISIS ÁCIDA DE CELULOSA Y BIOMASA
LIGNOCELULÓSICA ASISTIDA CON LÍQUIDOS IÓNICOS**

MEMORIA

Para aspirar al grado de

DOCTOR EN CIENCIAS QUÍMICAS

Director:

Dr. D. Jose Miguel Campos Martín

Investigador Científico

Instituto de Catálisis y Petroleoquímica (CSIC)

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS

Dpto. Química-Física Aplicada

Año, 2015

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Situación energética mundial.....	1
1.2. Biorrefinerías.....	11
1.3. Composición química de la biomasa lignocelulósica	19
1.3.1. Celulosa	21
1.3.2. Hemicelulosa.....	24
1.3.3. Lignina	25
1.3.4. Compuestos minoritarios.....	26
1.4. Tratamientos de celulosa y biomasa lignocelulósica.....	27
1.4.1. Objetivos principales del tratamiento de la biomasa lignocelulósica	28
1.4.2. Tratamientos físicos	31
1.4.3. Tratamientos químicos	34
1.4.4. Tratamientos biológicos.....	36
1.5. Los Líquido Iónicos	37
1.5.1. Características y propiedades de los líquidos iónicos (LIs).....	37
1.5.2. Punto de fusión de los líquidos iónicos (LIs).....	38
1.5.3. Los líquidos iónicos como disolventes para la celulosa	40
1.6. Hidrólisis ácida de biomasa lignocelulósica.....	43
1.6.1. La hidrólisis ácida de la biomasa en líquidos iónicos.....	44
1.7. Bibliografía	48

1.1. Situación energética mundial

La utilización de los combustibles fósiles ha sido un gran motor para el desarrollo de la sociedad, a medida que este recurso se agota, se hace más evidente la importancia de hacer una transición hacia un esquema energético más sostenible. Este esquema sustentable estaría basado en el aprovechamiento de distintas fuentes de energía y entre ellas destacan, las energías renovables [1]. En este contexto la Unión Europea (UE) ha propuesto un camino hacia una economía baja en carbono en Europa para el 2050 [2]. En este camino, se propone una combinación de propuestas basadas en el ahorro energético y la búsqueda de fuentes alternativas y renovables a las fuentes fósiles. En 2020, la UE pretende reducir sus emisiones de gases de efecto invernadero en un 20%, aumentar la cuota de energías renovables hasta al menos el 20% del consumo, y alcanzar un ahorro energético del 20% o más, además todos los países de la UE también deben alcanzar una cuota del 10% de energías renovables en su sector del transporte. El Consejo Europeo también ha dado un compromiso a largo plazo para el camino de la descarbonización con un objetivo para la UE y otros países industrializados de 80 a 95% de reducción de las emisiones para el año 2050. A través de la consecución de estos objetivos, la UE pretende ayudar a combatir el cambio climático y la contaminación del aire, disminuir su dependencia de los combustibles fósiles extranjeros, y mantener la energía asequible para los consumidores y las empresas. Para cumplir estos objetivos, la Estrategia Energética 2020 establece cinco prioridades:

1.- Hacer Europa más eficiente de la energía mediante la aceleración de las inversiones en eficiencia edificios, productos y transporte.

2.- Realizar un plan de mercado energético europeo mediante la construcción de las líneas de transmisión necesarias, oleoductos, terminales de GNL, y otras obras de infraestructura.

3.- Proteger los derechos del consumidor y el logro de altos niveles de seguridad en el sector energético.

4.- Aplicación del Plan Estratégico de Tecnología Energética. Acelerando el desarrollo y despliegue de tecnologías bajas en carbono, como la energía solar, redes inteligentes, y la captura y almacenamiento de carbono

5.- Mantener las buenas relaciones con los proveedores exteriores de energía de la UE y de los países en tránsito energético.

Sin embargo, en la actualidad existen pocas probabilidades de alcanzar todos los objetivos marcados para el 2020. La estrategia existente es totalmente inadecuada para los desafíos a largo plazo.

La sociedad ha alcanzado unos niveles muy altos de desarrollo durante el último siglo. Sin embargo, este progreso se ha logrado gracias a un consumo muy grande de los recursos naturales de la tierra tales como el petróleo, gas natural y carbón. Los combustibles fósiles han tardado millones de años en formarse y en la actualidad se están consumiendo a una velocidad de varios órdenes de magnitud superior que su ciclo de regeneración natural, por lo que no se consideran fuentes renovables de energía. Hoy en día, el consumo energético mundial sigue siendo muy dependiente de los combustibles fósiles [3].

En 2011, el 81 % de la demanda total de energía mundial fue de combustibles fósiles [4]. Aun así, el consumo mundial de energía primaria aumentó en 2013 a pesar del crecimiento económico mundial estancado. El consumo y la producción aumentaron en todos los combustibles, alcanzando niveles récord para cada tipo de combustible, excepto la energía nuclear

Introducción

(Figura 1.1). Para cada uno de los combustibles fósiles, el consumo mundial aumentó más rápidamente que la producción pero el aumento quedó por debajo de la media de los últimos 10 años. De todos los combustibles fósiles, el petróleo sigue siendo el combustible más importante del mundo, con 32,9% del consumo mundial de energía pero ha perdido participación en el mercado durante 14 años consecutivos. [5]. Sin embargo, en el año 2013 las energías renovables hidroeléctricas y de otro tipo también crecieron representando el 6,7 % y 2,2%, respectivamente de la producción de energía mundial y cerca del 3% del consumo de energía primaria [5].

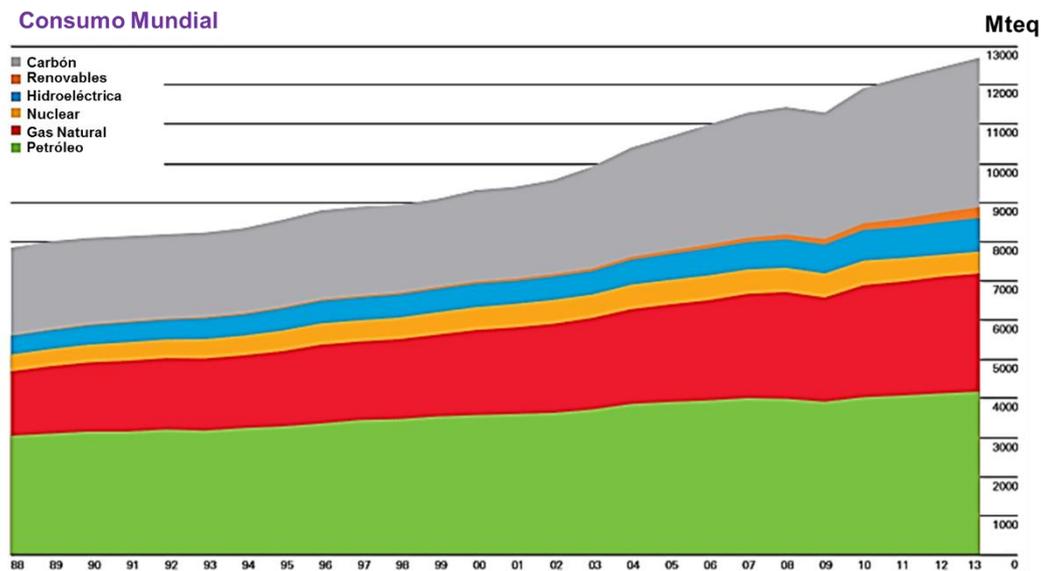


Figura 1.1: Consumo mundial de las diferentes energías primarias en Mteq (millones de toneladas equivalentes de petróleo) desde el año 1988 al 2013. Adaptada [5]

La región del Asia-Pacífico, en 2013 representó una vez más el mayor incremento del consumo mundial de energía primaria y sigue representando el mayor porcentaje del total mundial (40,5%) [5]. La región del Asia-Pacífico representaron más del 70 % del máximo del consumo mundial de carbón por

primera vez en 2013, y el carbón sigue siendo el combustible dominante de la región [5]. Si analizamos el consumo mundial por regiones en el año 2013 que se muestra en Figura 1.2, vemos que el petróleo es el combustible dominante en todas las demás regiones, excepto en Europa y Eurasia y el Oriente Medio, donde el gas natural es el dominante. En el Medio Oriente, el gas natural superó al petróleo como el combustible dominante (2013). En particular, los países fuera de la OCDE (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico) de Asia y el Oriente Medio representan el 85% del aumento total del consumo mundial de combustibles líquidos [6].

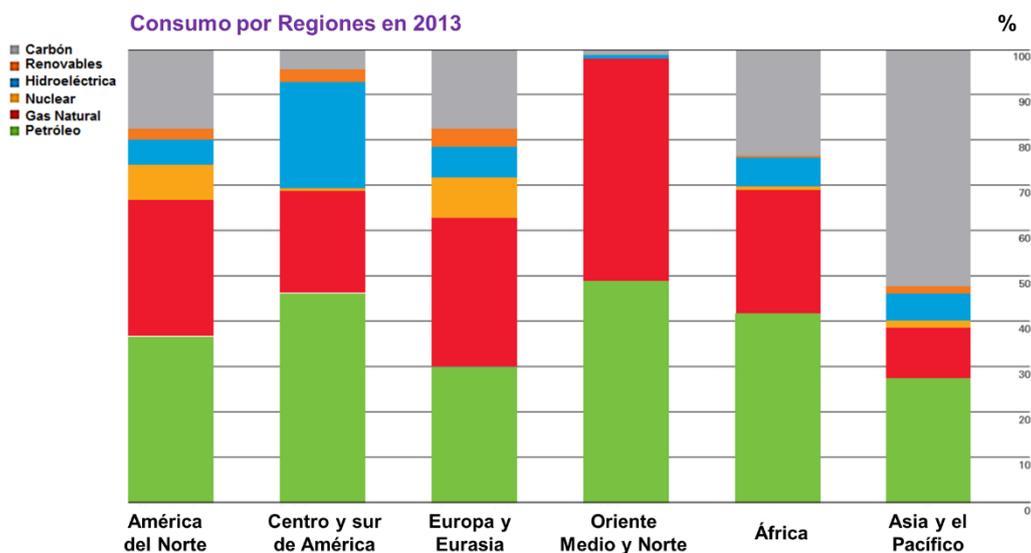


Figura 1.2: Consumo mundial por regiones en el año 2013. Adaptada de [5]

Con respecto a las fuentes de energías renovables en 2013, se ha registrado el mayor crecimiento gradual en China, seguido de los EE.UU., mientras que el crecimiento en los principales jugadores de Europa - Alemania, España e Italia - se mantuvo por debajo de la media. A nivel

Introducción

mundial, la energía eólica (+ 20,7%), una vez más ha representado más de la mitad del crecimiento de la generación de energía renovable siendo la generación de energía solar la que ha mostrado un crecimiento aún rápido (+ 33%), pero a partir de una base más pequeña. La producción de biocombustibles globales creció por debajo de la media, impulsados por el aumento en los dos mayores productores: Brasil (+ 16,8%) y los EE.UU. (+ 4,6%). En 2013 en Brasil se produjo el 24% de biocombustibles del mundo en 2013, convirtiéndose en el segundo mayor productor.

Los recursos de combustibles fósiles se utilizan para proporcionar energía para diversos sectores de la sociedad como son: residencial, comercial, industrial, transporte y energía eléctrica. Y es el sector del transporte, uno de los más grandes y de mayor crecimiento en los últimos años, responsable de casi un tercio de la energía total consumida en el mundo [3].

En las proyecciones de futuro hasta el año 2040, se prevé que los sectores de transporte e industriales representaran el 92% de la demanda mundial de combustibles líquidos, mientras que en todos los demás sectores el consumo de combustibles líquidos se verá disminuido en todo el mundo [6].

El crecimiento económico es uno de los factores más importantes a tener en cuenta en la proyección de los cambios en el consumo mundial de energía. Las proyecciones para el futuro indican que el consumo mundial de energía se incrementará en casi un 40% en los próximos 20 años y la gran mayoría del crecimiento provendrá de las economías en desarrollo de rápido crecimiento como India y China (Figura 1.3). Las regiones fuera de la OCDE representan prácticamente la totalidad del aumento de la demanda de petróleo y otros combustibles líquidos.

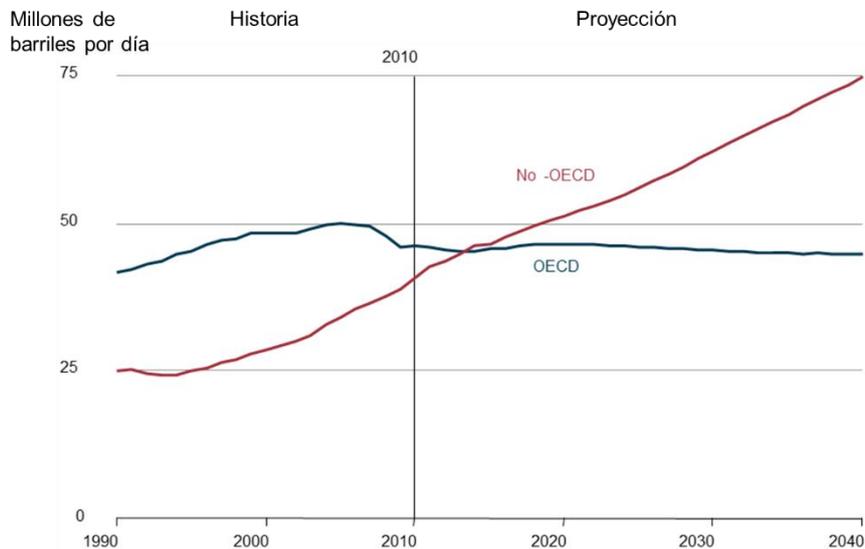


Figura 1.3: Proyección de futuro hasta el año 2040 del consumo de petróleo y otros combustibles líquidos para los países pertenecientes a la OECD y los no pertenecientes [6].

Los combustibles fósiles seguirán suministrando la mayor parte de esa demanda, en particular se espera que el gas natural sea el combustible fósil que crezca más fuerte. También, se espera que las energías renovables crezcan en promedio, alrededor de un 6,5% cada año, durante los próximos 20 años. Como resultado de ello, aumentarán su participación en la energía primaria alrededor del 8 % en 2035 [5].

Existen tres cuestiones importantes a gran escala que están asociados a la utilización de los combustibles fósiles: la disponibilidad, el calentamiento global y la distribución geográfica de las reservas.

- *El calentamiento global*

El calentamiento global es posiblemente el efecto colateral más dramático conocido por la utilización de combustibles fósiles. Los combustibles fósiles se transforman en energía por medio de reacciones de combustión, lo que lleva a emisiones de gases de efecto invernadero (CO_2 , CH_4 y NO_2). Las

Introducción

concentraciones de CO₂ en la atmósfera han aumentado considerablemente durante el siglo pasado, en comparación con el nivel más bien constante de la era pre-industrial (alrededor de 280 partes por millón en volumen, o ppmv). En 2013 la concentración de CO₂ (396 ppmv) fue de un 40% más que a mediados de la década de 1800, con un crecimiento promedio de 2 ppmv/año en los últimos diez años [7]. También se han producido aumentos significativos en los niveles de metano (CH₄) y óxido nitroso (N₂O) [7, 8]. En el Quinto Informe de Evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC) se afirma que la influencia humana en el sistema climático es clara.

Las emisiones de CO₂ acumuladas determinarán en gran medida el calentamiento medio global en superficie a finales del siglo XXI y posteriormente (Figura 1.4). La mayoría de los aspectos del cambio climático perdurarán durante muchos siglos, incluso aunque pararan las emisiones de CO₂, lo que supone una notable inexorabilidad del cambio climático durante varios siglos, debido a las emisiones de CO₂ pasadas, presentes y futuras [8].

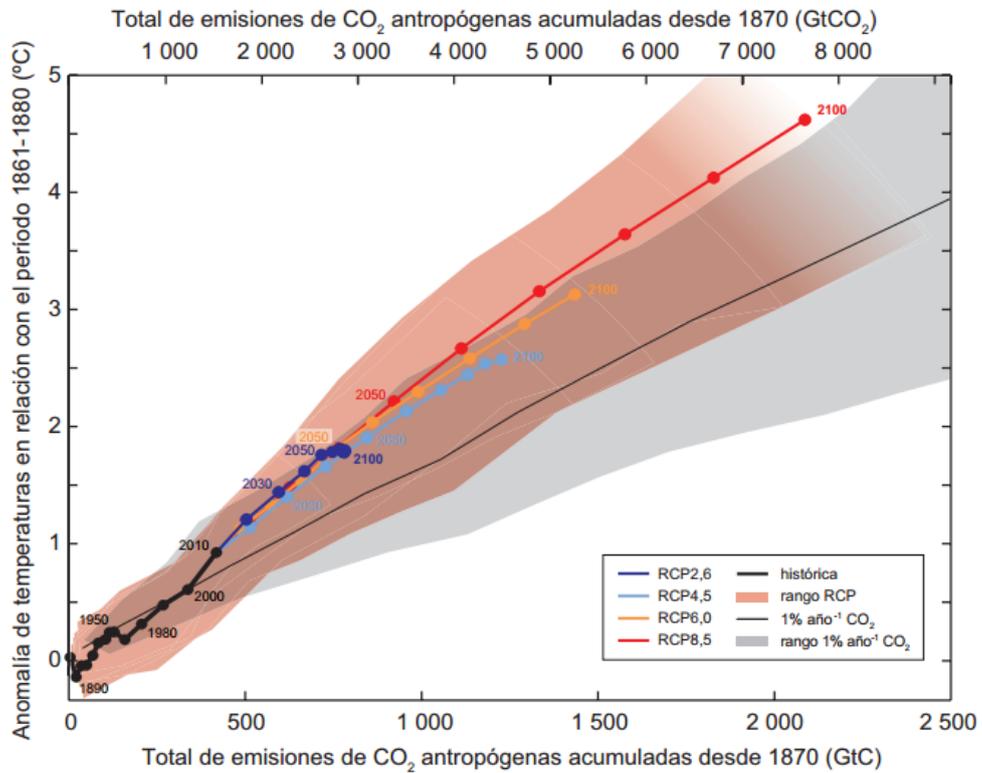


Figura 1.4: Aumento de la temperatura media global en superficie, como función del total de las emisiones globales acumuladas de CO₂ a partir de diversas líneas de evidencia [8].

Existen dos sectores en conjunto donde se producen las mayores emisiones de CO₂, el sector de la generación de electricidad y calor y el sector del transporte, solamente ellos representan casi dos tercios de las emisiones globales en el año 2012 (la Figura 1.5)



Figura 1.5: Emisiones de CO₂ mundiales por sectores en 2012. *Otras: incluye servicios comerciales y públicos; la agricultura y silvicultura; pesca; industrias de energía diferentes a la electricidad y la generación de calor y otras emisiones no especificadas Adaptado [7].

La mayoría de estas emisiones son debidas a la utilización de carbón y en menor medida a la del petróleo. Australia, China, India, Polonia y Sudáfrica producen más de dos tercios de su electricidad y calor a través de la combustión de carbón [7].

- *La distribución geográfica de las reservas*

Otra cuestión importante a tratar es que las reservas de combustibles fósiles no están igualmente distribuidos alrededor del mundo. Los países de Oriente Medio controlan el 60% de las reservas de petróleo y el 41 % del suministro del gas natural. Y entre 3 países (Estados Unidos, China y Rusia) se encuentra el 60 % de las reservas de carbón [6]. Esta situación puede conducir a inestabilidades económicas y además requiere el transporte de los

recursos de combustibles fósiles a través de largas distancias, y puede causar problemas políticos y de seguridad en todo el mundo.

Para solucionar todos estos problemas, se requieren de nuevas fuentes de energía para asegurar el progreso y proteger el medio ambiente para las futuras generaciones. Estas nuevas fuentes de energía tienen que cumplir con los requisitos: (i) Tener el potencial para sustituir efectivamente los combustibles fósiles en la producción actual de energía sistema y (ii) ser renovable, encontrándose distribuidos por todo el mundo, y no contribuyendo a la acumulación de gases de efecto invernadero en la atmósfera [3].

Las energías solar, eólica, hidroeléctrica y geotérmica se han propuesto como una excelente alternativa al carbón y el gas natural para la producción de calor y electricidad y la biomasa que es la única fuente sostenible de carbono orgánico disponible en la tierra, se considera el sustituto ideal de petróleo en la producción de combustibles, productos químicos y materiales a base de carbono [3, 9, 10].

Sin embargo, cuando se habla del diseño de estrategias para potenciar la sustitución de petróleo crudo por biomasa, es importante señalar como funciona la industria petroquímica. Actualmente se consumen tres cuartas partes del petróleo crudo para cubrir la demanda de combustibles de hidrocarburos líquidos en el sector del transporte y solamente se utiliza una pequeña fracción de petróleo en la síntesis de productos químicos industriales y otros derivados [11].

En la actualidad, solamente se han aplicado con éxito dos combustibles derivados de la biomasa (primera generación de biocombustibles) en el sector del transporte: el biodiesel y el etanol [3]

1.2. Biorrefinerías

Hoy en día los recursos fósiles suministran el 86% de nuestra energía y el 96% de los productos químicos orgánicos. Es poco probable que con la producción de petróleo en un futuro se puedan seguir satisfaciendo estas necesidades que además van creciendo. Debido a esto, se están abriendo nuevos campos de interés para la obtención de energía. La química verde está atrayendo cada vez más interés ya que ofrece nuevas oportunidades para la innovación a través del uso de tecnologías limpias y verdes, sustituyendo productos y el uso de materias primas renovables [12].

Entre las fuentes alternativas, la biomasa es una opción muy interesante, porque es una fuente renovable y con un balance neto de emisiones de CO₂ casi neutras (Figura 1.6). El término biomasa se refiere a toda la materia orgánica que, proveniente de árboles, plantas y desechos de animales, pueda ser transformada en productos y energía.

El carbono utilizado para construir la biomasa se absorbe de la atmósfera en forma de dióxido de carbono (CO₂) por la vida vegetal, utilizando la energía del sol. Las plantas pueden posteriormente ser comidas por los animales y por tanto convierten en biomasa animal. Sin embargo la absorción primaria se lleva a cabo por las plantas. Cuando esta biomasa se descompone, dependiendo del proceso involucrado, el carbono se libera a la atmósfera básicamente en forma de dióxido de carbono (CO₂) o metano (CH₄). Estos procesos son lo que se conoce como el ciclo del carbono (Figura 1.6) [13].

Como ya se ha dicho anteriormente, la biomasa podría proporcionar una alternativa renovable a los recursos fósiles a través de la combinación de su bajo impacto ambiental y las nuevas tecnologías. Pudiendo establecer una

nueva cadena de suministro sostenible para la producción de productos químicos de alto valor, combustibles, energía y materiales [11, 12].

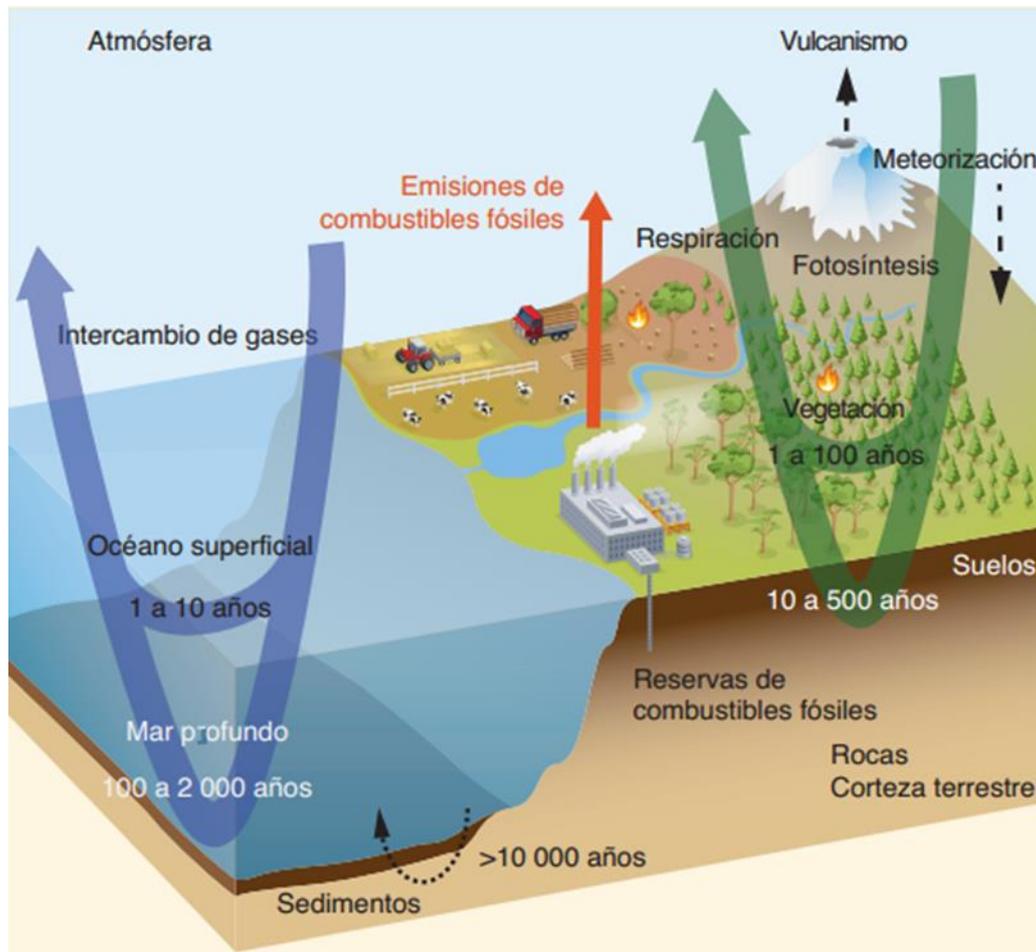


Figura 1.6: Esquema simplificado del ciclo del carbono global que muestra las escalas temporales típicas de renovación para las transferencias de carbono a través de los reservorios principales [8].

La conversión de biomasa se realiza actualmente en instalaciones separadas, con capacidad de obtención de escasos productos, en las que no se explota todo el potencial económico que ofrece la biomasa. Sin embargo,

Introducción

las aplicaciones futuras de la biomasa estarán basadas en una única instalación, denominada biorrefinería integrada, donde se aprovecharán todas las fracciones y los subproductos de la biomasa para producir una gran variedad de productos que incluyen energía (electricidad, calor), biocombustibles, sustancias químicas y biomateriales [10, 14]. De este modo, aumentará la rentabilidad de la utilización de la biomasa y se logrará una mayor flexibilidad frente a posibles fluctuaciones de mercado y a los cambios en las necesidades de los consumidores. Además, el concepto de biorrefinería integrada lleva asociado métodos complejos de conversión, tanto bioquímicos como termoquímicos, para la obtención de un amplio rango de productos. Estos procesos de conversión tendrán una mayor eficiencia energética, aumentando la sostenibilidad del proceso global [15].

Las biorrefinerías reciben este nombre por analogía con las refinerías convencionales que también procesan una materia prima compleja, y en ambos casos dan lugar a una gran variedad de productos químicos y combustibles con el máximo aprovechamiento de las materias primas [16]. Existe una gran variedad de definiciones de biorrefinería, una de las definiciones más aceptadas la ha realizado el Laboratorio Nacional de Energía Renovable (NREL) de USA: Una biorefinería es una instalación que facilita los procesos de conversión integral de la biomasa y equipos para producir combustibles, energía y productos químicos de valor añadido desde la biomasa. Otra definición la ha propuesto el Departamento de Energía (US-DOE) de USA: Una biorefinería es un concepto general de una planta de procesamiento en donde la biomasa es convertida en un espectro de productos de valor añadido. La Agencia Internacional de la Energía (Internacional Energy Agency, IEA) define la biorrefinería como la instalación donde se generan, de forma sostenible, un amplio espectro de productos de interés comercial a partir de la biomasa.

Introducción

Estas definiciones son muy amplias y se pueden aplicar a una gran variedad de instalaciones, aunque se pueden distinguir tres grandes bloques de la cadena de producción:

- Etapas iniciales (“upstream processing”), como son los procesos de fraccionamiento y extracción.
- Tecnologías de conversión (termoquímica y/o bioquímica).
- Etapas finales de la cadena de producción (“downstream processing”), como son los procesos de separación y purificación de productos.

Etapas iniciales

La biomasa presenta una gran complejidad, además de presentar una tipología y morfología muy dispar, por ello son necesarias una serie de operaciones de homogeneización y uniformización a la entrada de las plantas de tratamiento para facilitar las transformaciones posteriores. Entre las operaciones de tratamiento inicial se pueden citar: secado, prensado, triturado, astillado, picado, molienda, etc.

Tecnologías de Conversión

Las diferentes tecnologías de transformación de la biomasa se integran plataformas que varían dependiendo de cómo se modifica la biomasa para obtener los productos finales [20-22], estas plataformas son:

- Plataforma de azúcares y lignocelulosa
- Plataforma de Termoquímica
- Plataforma de lípidos (aceites y grasas)
- Otras Plataformas (proteínas, biogás...)

Existe una interacción entre las plataformas que dan lugar tanto a rutas alternativas como a la sinergia entre ellas, y en general varias plataformas pueden convivir en una misma biorrefinería (Figura 1.8).

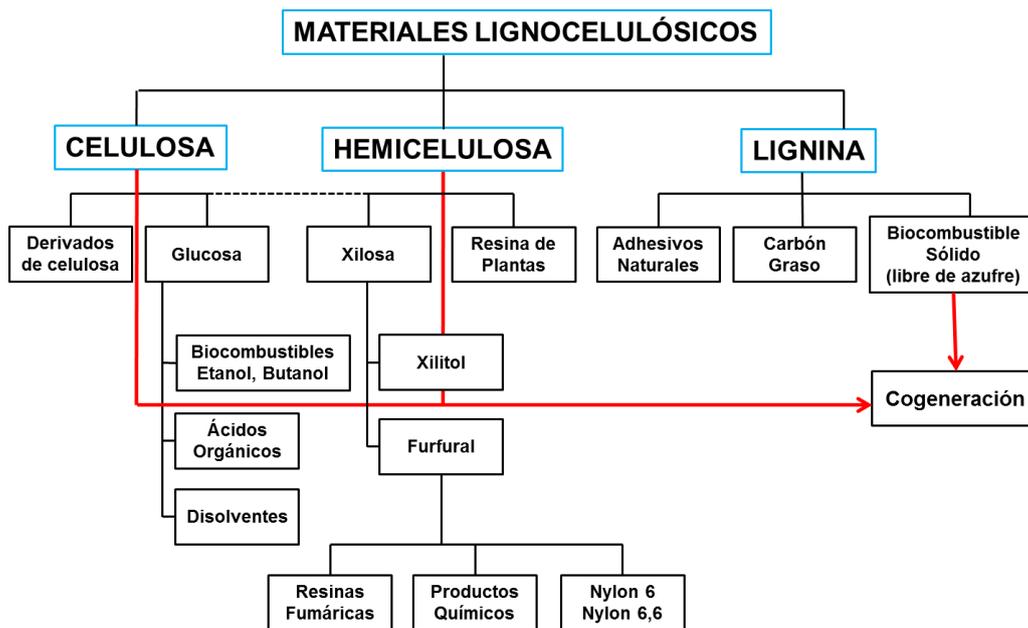


Figura 1.8: Esquema de productos que se pueden obtener a partir de las diferentes fracciones de la biomasa lignocelulósica [23].

Plataforma de azúcares y lignocelulosa

Esta plataforma es una extensión de las plantas de bioetanol hacia las de bioetanol de segunda generación, pero no se queda ahí sino que se amplía hacia un sistema de producción más avanzado con una mayor variedad de productos[17, 24-29]. En esta plataforma se distinguen varias etapas:

- Hidrólisis de los polisacáridos (la celulosa y la hemicelulosa) a monosacáridos de cinco y seis átomos, como la xilosa o la glucosa.

Introducción

- Conversión de la glucosa a compuestos químicos intermedios como el etanol, butanol, ácidos orgánicos,... empleando la fermentación y otras transformaciones químicas convencionales.
- Conversión de xilosa a productos como el etanol, xilitol, furfural, usando la fermentación y otras transformaciones.
- Valorización de la lignina y otros residuos.

Estas etapas pueden estar combinadas entre ellas, así en un único paso se puede producir la hidrólisis de los polisacáridos y la transformación de los sacáridos formados. Existe mucho interés en la producción de compuestos como el etanol, 1-butanol, 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) y ácido levulínico, debido a que se pueden emplear directamente como combustibles o mediante pequeñas transformaciones, se obtienen combustibles o productos químicos de interés. Estas transformaciones pueden ser fermentaciones, reacciones enzimáticas o reacciones químicas.

Plataforma de Termoquímica

Las biorrefinerías termoquímicas son instalaciones basadas en la descomposición por procesos termoquímicos de la biomasa para su transformación en productos químicos de interés o combustibles [19]. Esta descomposición se puede dividir en tres grandes bloques: Licuefacción, Pirólisis y Gasificación.

Plataforma de lípidos (aceites y grasas)

Esta plataforma se basa en el uso y transformación de los aceites y grasas de la biomasa (plantas y animales) [30]. Los primeros productos y posiblemente el ejemplo más conocido es la producción de biodiesel de 1ª generación por transesterificación de aceites vegetales con metanol [31]. Sin

embargo, existe polémicas por el uso de este tipo de combustible, porque dependiendo del tipo de aceite utilizado y el origen de las tierras de cultivo donde se produce, puede llegar a dar unas emisiones de gases de efecto invernadero mayores que el uso de un combustible de origen fósil, además las materias primas utilizadas en muchos casos compiten con su posible uso alimentario.

Otras Plataformas (biogás, proteínas...)

La plataforma del biogás se basa en la obtención y uso del llamado biogás, que es una mezcla de gases que contiene como componentes principales metano y dióxido de carbono. La biomasa se somete a la acción de microorganismos anaerobios para la obtención de biogás[32, 33]. El biogás puede ser empleado para la obtención de energía y otros productos. También durante este proceso se originan sustancias que pueden utilizarse como fertilizantes.

La plataforma de las proteínas se basa en el aprovechamiento y uso de las proteínas presentes en la biomasa. Las fuentes vegetales de proteínas más habituales son la soja, el maíz, la colza y el gluten de trigo. Prácticamente la totalidad de la producción de proteína se destina a la industria alimentaria, pero se están investigando nuevas aplicaciones, como la síntesis de fibras y polímeros a partir de proteínas vegetales o poliaminoácidos [34]. También es posible modificar genéticamente las propiedades de estas proteínas para adaptarlas a aplicaciones posteriores. Ciertas proteínas se emplean para el recubrimiento de materiales por sus propiedades adhesivas (proteína de soja), cohesivas, de viscoelasticidad (proteínas de colza), insolubilidad al agua (proteína zein) y biodegradabilidad. Igualmente presentan interés en los campos de la farmacia, cosmética y agroquímica.

1.3. Composición química de la biomasa lignocelulósica

La biomasa es todo material biológico derivado de los organismos vivos. En el contexto de la biomasa para la energía se utiliza a menudo en el sentido de material a base de plantas, pero el significado de biomasa se puede igualmente aplicar tanto a los materiales de origen animal como de origen vegetal [35]. La biomasa de origen vegetal puede provenir de la biomasa natural, producida por ecosistemas naturales, de la biomasa residual, generada como residuo en los procesos productivos de los sectores agrícola, forestal e industrial y de la biomasa producida a partir de cultivos energéticos que son aquellos dedicados a la producción de biomasa para su utilización energética con fines no alimentarios. Estos últimos son de los que provienen los biocombustibles de primera generación [21].

La biomasa lignocelulósica de origen vegetal, está constituida por tejidos de los vegetales cuyas células presenta una pared celular constituida a su vez por un entramado de microfibrillas de celulosa formando capas recubiertas de hemicelulosa y sobre las que se deposita la lignina (Figura 1.9) [13]. Esta pared celular permite crear y sostener la estructura de las plantas para captar la radiación solar, confiriéndoles una mayor resistencia mecánica y a posibles patógenos. Es por esto por lo que es tan difícil su aprovechamiento para la obtención de compuestos derivados de la biomasa. Se requieren de métodos de tratamiento o fraccionamiento para poder acceder a ellos pero ninguno de ellos es capaz de aislar completamente cada componente sin modificarlo o degradarlo en al menos una parte.

Para un mejor entendimiento de lo que es la biomasa lignocelulósica y poder aprovecharla, se deben conocer cuáles son los componentes principales de las paredes celulares y estos a su vez, se pueden dividir en tres

fracciones orgánicas con las siguientes composiciones representativas en peso seco: 20% -50% de celulosa, 15% -35% de hemicelulosa y 10% -30% de lignina [36-38]. Además, también contiene cantidades más pequeñas de otros componentes minoritarios; proteínas (3-10%), lípidos (1.5%), azúcares solubles, denominados extractivos y minerales (10.5%), que en los análisis químicos se estiman como cenizas [37, 39].

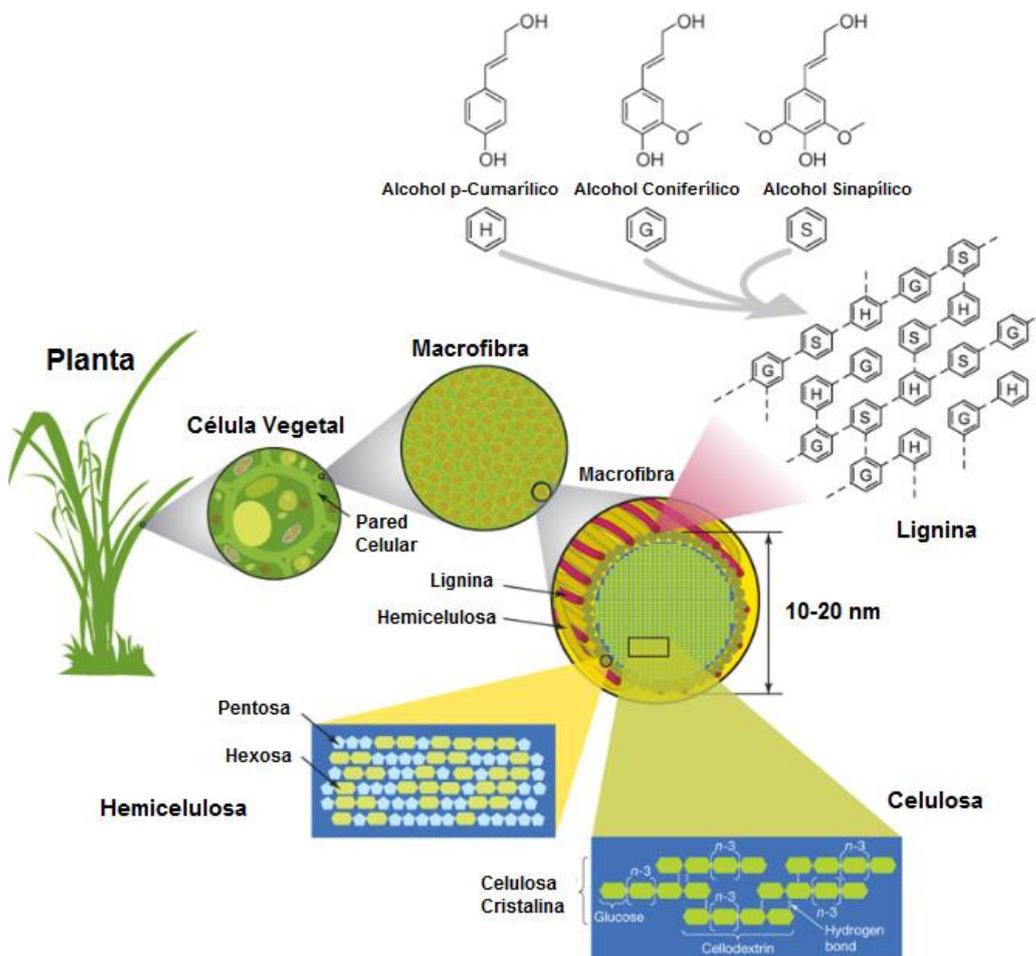


Figura 1.9: Estructura de biomasa lignocelulósica (imagen traducida de [13])

1.3.1. Celulosa

La celulosa fue identificada por primera vez por el químico francés Anselme Payen en 1838 que aisló la celulosa de varias plantas y determinó su fórmula molecular ($C_6H_{10}O_5$), mediante análisis elemental [40]. En 1922, Staudinger, introdujo la representación de la estructura de la celulosa, que actualmente se acepta [41]. Por sus contribuciones sobresalientes en la química de la celulosa y macromoléculas, Staudinger fue galardonado con el premio Nobel en 1953 [38].

Desde el punto de vista actual, la celulosa es el polímero orgánico más abundante en el mundo. Se estima que representa alrededor del $1,5 \cdot 10^{12}$ toneladas de la producción total anual de biomasa y se considera una fuente casi inagotable de materia prima para la demanda creciente de productos sostenibles con el medio ambiente [40].

La celulosa es un polisacárido lineal de elevado peso molecular y un grado alto de polimerización (GP), además de ser el componente principal en las paredes celulares de los vegetales. El grado de polimerización de la celulosa se define como el número a repetir de unidades de anhidro glucosa (β -D-glucopiranosas) unidas entre sí mediante un enlace glicosídico entre el carbono 1 y 4 en la cadena polimérica [38]. El promedio del GP depende del origen y el tratamiento de la celulosa. Por ejemplo, el algodón crudo tiene un GP de 7.000 unidades, mientras que el GP del algodón purificado oscila entre 300 y 1.500 unidades. La celulosa microcristalina es una celulosa purificada obtenida por una hidrólisis parcial y este material muestra un GP entre 150 y 300 unidades. A mayor GP, más difícil de hidrolizar la celulosa y es por esta razón, muchos autores decidieron centrarse en disolventes con la capacidad de disolver la celulosa, independientemente de su cristalinidad o GP, sin tratamiento, y sin degradar o derivatizar el biopolímero [42].

El enlace glicosídico (Figura 1.10) se forma por la reacción del grupo –OH hemiacetálico del carbono anomérico (carbono 1) de la β -D-glucopiranososa con el grupo –OH del carbono 4 de otra β -D-glucopiranososa. Por esta razón, las unidades de glucosa en los extremos de la cadena celulósica no son químicamente iguales. Uno de los extremos de la cadena de celulosa presenta un carbono anomérico que no está implicado en el enlace glicosídico, en este carbono 1 un grupo aldehído de carácter reductor y en el otro lado al final de la cadena el carbono anomérico está protegido por el enlace glicosídico, no mostrando propiedades reductoras [43]. La conformación piranosa, donde los carbonos y oxígenos son tetraédricos y la forma más estable es la de silla, presentan a los grupos –CH₂OH, -OH y los enlaces glicosídicos en posición ecuatorial y los hidrógenos en posición axial. El que los grupos –OH se encuentren en posición ecuatorial, permite a la celulosa formar uniones por puentes de hidrógeno inter e intramoleculares dando lugar a la fibrillas elementales.

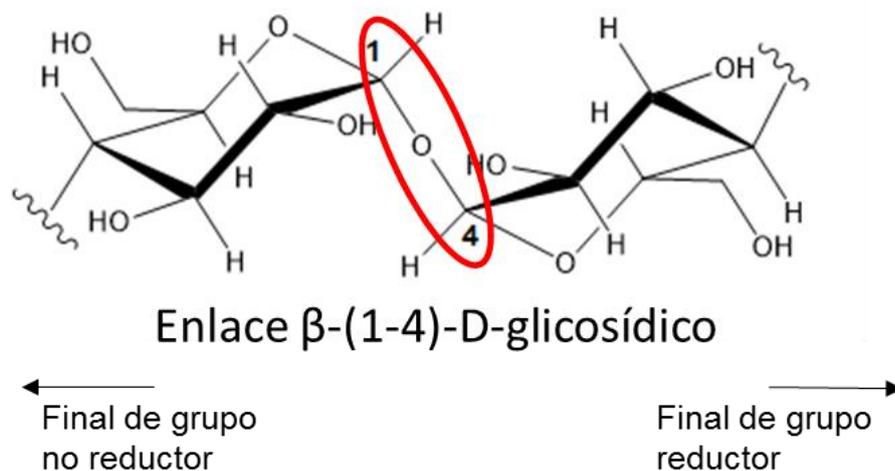


Figura 1.10: Estructura primaria de la celulosa.

Introducción

Las fibras elementales o micelas, están formadas entre 40 y 100 cadenas de celulosa donde se presentan zonas con una estructura cristalina que le confiere a la celulosa una gran resistencia y otras regiones amorfas que le otorgan elasticidad. La presencia de regiones amorfas en las fibras elementales permiten mejor penetración de reactivos químicos, por tanto mayor reactividad. A esta pérdida de zonas cristalinas aumentando las regiones amorfas se la suele designar como pérdida de cristalinidad.

Las microfibras que a su vez están formadas de las fibras elementales con los grupos $-OH$ formando puentes de hidrógeno y los hidrógenos en su superficie, tiene como resultado no solo una estructura empaquetada altamente resistente sino que la hace que sea hidrofóbica (Figura 1.11). Se conocen siete polimorfos de celulosa (I_α , I_β , II, III_I, III_{II}, IV_I, IV_{II}) [44, 45], pero en la naturaleza solamente se encuentran las formas de celulosas I_α y I_β [38]. La forma I_α , se encuentra predominantemente en las paredes celulares de las algas y bacterias, mientras que la forma I_β , es predominante en el algodón y madera [46]. Ambas celulosas I_α y I_β , se pueden encontrar a la vez en la misma microfibra [38].

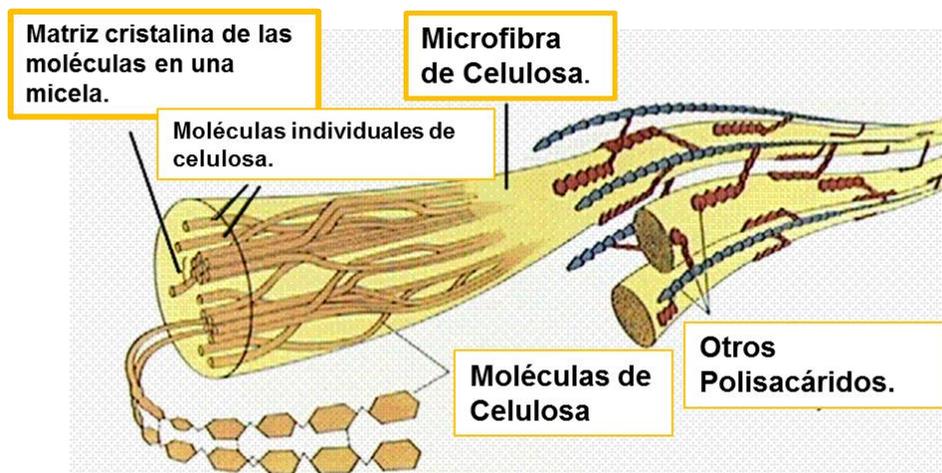


Figura 1.11: Estructura de las fibras de celulosa en la pared celular de las plantas [47].

1.3.2. Hemicelulosa

La hemicelulosa está compuesta por polímeros de diferentes azúcares con cadenas más cortas y ramificadas, lo que la hace más amorfa y más fácil de hidrolizar en sus azúcares constituyentes que la celulosa. En estado natural consigue tener un grado de polimerización que no excede a los 200 monómeros [48]. Su papel es suministrar la unión entre la lignina y la celulosa para proporcionar rigidez a la pared celular y son insolubles en agua.

Los monosacáridos principales que encontramos en las hemicelulosas son cinco, glucosa, manosa y galactosa que son hexosas y xilosa y arabinosa que son pentosas. Además de algunos ácidos urónicos. (Figura 1.12)

Las hemicelulosas son más difíciles de clasificar y los autores no siempre las clasifican de la misma forma. Una forma en la que se pueden clasificar es según la cadena principal, en xilanos, xiloglucanos, mananos y glucomananos [49]. Otros autores lo clasifican en xilanos, glucuronoxilanos, arabinoxilanos, mananos, glucomananos y galactoglucomananos. Los azúcares están unidos por enlaces β -(1 \rightarrow 4) entre sí, todos en posición ecuatorial en el C1 y C4. y ocasionalmente por enlaces β -(1 \rightarrow 3).[50]

Además nos encontramos con lo que se denomina, las sustancias pécticas (pectinas) que son polisacáridos heterogéneos y contienen un alto porcentaje de ácidos galacturónicos (Figura 1.4). Son polisacáridos con estructuras y propiedades físico-químicos altamente variados que se encuentran en la pared celular [6] y que al igual que la celulosa, hemicelulosa confieren resistencia a la estructura vegetal.

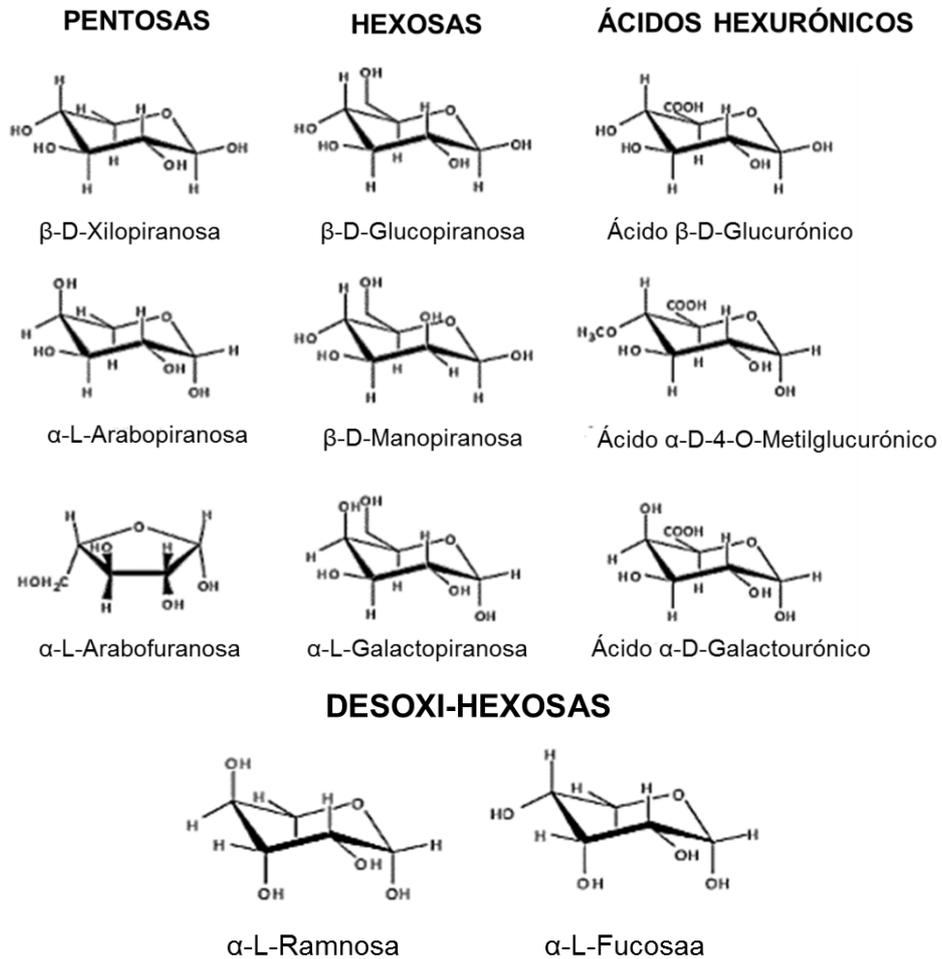


Figura 1.12: Diferentes posibles monómeros presentes en cadena principal y cadena lateral de hemicelulosas (adaptado de Fengel y Wegener [51]).

1.3.3. Lignina

La lignina se encuentra en la biomasa entre un 10 y 30 % dependiendo de la especie vegetal. Detrás de celulosa y hemicelulosa, es el tercer biopolímero más abundante en la Tierra. Se encuentra principalmente en la

lámina media de la pared celular y en las capas de la pared celular formando junto con la hemicelulosa una matriz alrededor de las microfibras de la celulosa [48].

La lignina tiene una composición química muy compleja pero de forma muy básica se pueden diferenciar tres tipos de unidades que se encuentran repetidas a lo largo de su estructura ramificada y amorfa. Estas unidades son: Unidad H (cumaril) que deriva del alcohol p-cumárico, la unidad G (guaiacil) que deriva del alcohol coniferílico y la unidad S (siringil) que deriva del alcohol sinapílico. Se diferencian en la sustitución con un grupo metoxilo (-OMe) en las posiciones 3 y 5 de la unidad aromática (Figura 1.9) [13, 48, 52].

1.3.4. Compuestos minoritarios

Los compuestos minoritarios representan la menor cantidad en peso total del material lignocelulósico. Estos compuestos cubren una amplia variedad de compuestos de bajo peso molecular y se pueden clasificar en extraíbles hidrofílicos que se pueden extraer con agua, los extraíbles hidrofílicos que se pueden extraer con disolventes orgánicos (compuestos no volátiles como grasas, fitoesteroides, etc.) y por otro lado están las proteínas y cenizas (carbonatos, oxalatos, sílice y metales) [51].

1.4. Tratamientos de celulosa y biomasa lignocelulósica

En la conversión de materias lignocelulósicas se requieren 4 etapas principales para que este proceso sea efectivo: reducción de tamaño de la biomasa, tratamiento, hidrólisis y conversión a productos finales como biocombustibles [53].

Los factores clave para que un tratamiento de biomasa lignocelulósica sea eficaz y de bajo costo y no influyan negativamente en las etapas posteriores especialmente en la hidrólisis y fermentación para la obtención de biocombustibles son [54]:

- El tratamiento debe de ser el más adecuado dependiendo de la materia prima escogida y así obtener rendimientos altos. Tipo de cultivo, sitio, edad, tiempos de cosecha,...
- El tratamiento de los sólidos deben de mejorar los procesos posteriores en las fases de hidrólisis y fermentación con respecto a los no tratados.
- La degradación de los azúcares no debe ser significativa.
- Obtención de una cantidad mínima de compuestos tóxicos que pueden inhibir los procesos posteriores.
- Reducción del tamaño de la biomas. Hay que tener en cuentas que la molienda o trituración de la materia prima a tamaños pequeños de partículas antes tratamiento son tecnologías costosas y de alto consumo energético,
- Procesos de operación de tamaño razonable y reactores de costes moderados. Minimizando el volumen y utilizando materiales adecuados para ambientes químicos corrosivos.

- No se deben producir residuos de los sólidos tratados.
- Bajo contenido de humedad.
- Obtención de un alto contenido en azúcares.
- Compatibilidad con procesos posteriores.
- Recuperación de la lignina.
- Procesos con gastos mínimos de energía.

En el siguiente apartado se procederá a dar un breve repaso de las ventajas y desventajas de los diferentes tratamientos que existen hoy en día para facilitar la hidrólisis de la biomasa lignocelulósica.

1.4.1. *Objetivos principales del tratamiento de la biomasa lignocelulósica*

Una de las etapas más importantes para la conversión de biomasa lignocelulósica en productos para los biocombustibles es el tratamiento de la biomasa. Aunque existen numerosos estudios de procesos en los que se realizan hidrólisis y conversión a productos sin pasar por una etapa previa de tratamiento [55, 56], es bien sabido que el efecto del tratamiento de estos materiales es más beneficioso en la obtención de mejores resultados.

Los objetivos del proceso de tratamiento son principalmente reducir la cristalinidad de la celulosa y aumentar la porosidad de los materiales lignocelulósicos, además de intentar eliminar la lignina y la hemicelulosa. Todo tratamiento debe cumplir con una serie de requisitos: (1) mejorar la formación de azúcares o la capacidad de formarlos posteriormente en la hidrólisis, (2) evitar la degradación o pérdida de los hidratos de carbono, (3) evitar la formación de subproductos que puedan inhibir etapas posteriores como en los procesos de hidrólisis y fermentación y finalmente (4) deben de ser rentables [57, 58].

Tabla 1.1: Tecnologías de tratamientos más prometedoras. Adaptado de, (Menon y Rao, 2012)[22].

Procesos de Tratamiento	Ventajas	Limitaciones y desventajas
Tratamientos Físicos		
Fragmentación Mecánica y Pirolisis	<ul style="list-style-type: none"> - Reduce la cristalinidad de la celulosa. 	<ul style="list-style-type: none"> - Mayor consumo de energía de la que se puede obtener de la biomasa.
Explosión de Vapor	<ul style="list-style-type: none"> - Degradación de la hemicelulosa y transformación de la lignina. - Coste efectivo 	<ul style="list-style-type: none"> - Destrucción de una porción de la fracción xilano. - Ruptura incompleta de la lignina. - Generación de compuestos inhibidores de microorganismos.
Explosión de Fibra de Amoniaco	<ul style="list-style-type: none"> - Aumenta la superficie de acceso. Coste efectivo. - No forma compuestos inhibidores para las etapas siguientes. 	<ul style="list-style-type: none"> - No es eficiente para biomasa con alto contenido en lignina.
Explosión con CO₂	<ul style="list-style-type: none"> - Reduce el contenido de lignina. - No produce residuos tóxicos 	<ul style="list-style-type: none"> - No es eficiente para biomasa con alto contenido en lignina.
Pirólisis por Impulsos de Campo Eléctrico	<ul style="list-style-type: none"> - Obtención de productos gaseosos y líquidos en condiciones ambientales. - Altera las células vegetales. - Requiere un equipamiento simple. 	<ul style="list-style-type: none"> - Temperatura elevada - Producción de ceniza - El proceso está todavía en desarrollo.

Procesos de Tratamiento	Ventajas	Limitaciones y desventajas
Tratamientos Químicos		
Ozonolisis	<ul style="list-style-type: none">- Reduce el contenido de lignina.- No produce residuos tóxicos.	<ul style="list-style-type: none">- Requiere grandes cantidades de ozono.- Alto coste.
Hidrólisis Ácida	<ul style="list-style-type: none">- Hidroliza la hemicelulosa a xilosa y otros azúcares.- Altera la estructura de la lignina.	<ul style="list-style-type: none">- Corrosión del equipo.- Formación de sustancias tóxicas.- Alto coste.
Hidrólisis Alcalina	<ul style="list-style-type: none">- Elimina la hemicelulosa y la lignina; Aumenta la superficie de acceso.	<ul style="list-style-type: none">- Requiere largos tiempos de residencia.- Formación de sales irre recuperables y que se incorporan a la biomasa.
Organosolventes	<ul style="list-style-type: none">- Hidrólisis de la lignina y la hemicelulosa.	<ul style="list-style-type: none">- Los disolventes necesitan ser drenados del reactor, evaporados, condensados y reciclados.- Alto coste.
Tratamientos Biológicos		
Biológica	<ul style="list-style-type: none">- Degrada la lignina y la hemicelulosa.- Requiere poca energía.	<ul style="list-style-type: none">- Hidrólisis lenta.

Introducción

Los métodos de tratamiento se pueden dividir en 3 diferentes categorías: físicos, químicos y biológicos [57-59]. Aunque a veces estos tratamientos requieren de una combinación entre ellos. Las siguientes tecnologías de tratamiento que se pasarán a explicar son bastante prometedoras para la obtención de procesos rentables en la conversión de biomasa a combustibles y productos químicos (Tabla 1.1).

1.4.2. Tratamientos físicos

Dentro de esta categoría de tratamientos se pueden citar: fragmentación mecánica y pirolisis; explosión de vapor; explosión con amoníaco y explosión con CO₂ (Tabla 1.1).

Fragmentación mecánica

La mayor parte de la biomasa lignocelulósica requiere de un tratamiento mecánico previo para reducir el tamaño. Existen varios métodos con los que se puede fragmentar la biomasa como; la molienda, resultando el molino de bolas el más eficaz [57, 59]; la irradiación (se pueden utilizar rayos gamma, haz de electrones, radiaciones de microondas, etc) y la extrusión. Todos ellos mejoran los resultados obtenidos en la hidrólisis no solo por la reducción del tamaño de partícula sino porque se mejoran las características de transferencia de masa. En estos procesos, la energía requerida es mayor que el contenido energético teórico disponible en la biomasa. Estos métodos son caros y es probable que no se utilicen a gran escala [22].

Pirólisis

La pirólisis se lleva a cabo en ausencia de aire y temperaturas superiores a los 300 °C [57]. Durante el calentamiento de la biomasa se forman gases, líquido y residuos calcinados en diferentes proporciones dependiendo del sistema de pirólisis que se utilice. La hemicelulosa se descompone entre 250 y 400 °C, la celulosa requiere temperaturas un poco más altas entre 310-430 °C y la lignina se descompone entre 300-530 °C. A temperaturas aún más altas, se produce una ruptura de los enlaces C-C y C-H, dando lugar a C_{2-4} oxigenados y productos de gasificación como: CO, CO₂, H₂ y CH₄ [60].

Explosión de Vapor

La explosión de vapor es el método más utilizado para el tratamiento de materiales lignocelulósicos y está reconocido como uno de los métodos más rentables [57]. En este método la biomasa se trata con vapor de agua saturada a presión alta (a unas temperaturas entre 160-260 °C con unas presiones correspondientes entre 0,69 a 4,83 MPa), a continuación la presión se reduce súbitamente, lo que provoca una descompresión explosiva en los materiales. Finalmente el material se enfría rápidamente. El proceso causa la degradación de la hemicelulosa y la transformación de la lignina [59, 61, 62].

Explosión de Fibra de Amoniaco

Este método es un tratamiento físico-químico de la biomasa lignocelulósica que se expone con amoniaco anhídrido líquido a altas temperaturas (60-100 °C) y presión alta (1,7 - 2 MPa) [63] durante un periodo de tiempo corto y a continuación se reduce rápidamente la presión. Es un

Introducción

proceso similar al de explosión de vapor [59]. Casi todo el amoníaco se puede recuperar y reutilizar [63].

Explosión con CO₂

Es un tratamiento similar al de explosión por vapor y explosión de fibra de amoníaco. Se utiliza esta metodología con CO₂ supercrítico porque requiera de menor temperatura y un gasto menor que con la explosión de amoníaco. Esta temperatura más baja impide que se produzca la descomposición de monosacáridos [57].

Pirólisis por Impulsos de Campo Eléctrico

En este tratamiento se aplica una ráfaga corta de alta tensión a una muestra que se coloca entre dos electrodos. Se genera un campo eléctrico entre dos placas de electrodos paralelos, la intensidad de campo (I),

$$I = \frac{V}{d}$$

Este tratamiento tiene grandes efectos en la estructura de los tejidos de la planta. Con una intensidad alta, se aplica un campo eléctrico externo y se induce un potencial eléctrico crítico a través de la membrana celular, lo que conduce a una ruptura eléctrica rápida y de esta manera se producen cambios estructurales en la membrana celular, la pared celular y por tanto en el tejido de la planta [57]. Este método está en proceso de desarrollo.

1.4.3. Tratamientos químicos

Los tratamientos químicos que se describen en bibliografía son; la ozonólisis; hidrólisis ácida; hidrólisis alcalina; deslignificación oxidativa y procesos con disolventes orgánicos.

Ozonólisis

Es un tratamiento químico con ozono que reduce el contenido de lignina en los materiales lignocelulósicos. La degradación se limita principalmente a la lignina. La hemicelulosa queda afectada ligeramente pero la celulosa no le afecta. Estos procesos se llevan a cabo a temperatura y presión ambiente [59]. El inconveniente principal de la ozonólisis es que se requiere una gran cantidad de ozono y hace que el proceso sea caro [57].

Hidrólisis Ácida

Es bien sabido que la hidrólisis ácida de biomasa lignocelulósica puede resultar una mejora en la obtención de azúcares fermentables. Ácidos tales como H_3PO_4 , H_2SO_4 y HCl se han utilizado para el tratamiento de materiales lignocelulósicos. Las condiciones de concentración y temperatura son variables [56, 64]. De este proceso, se obtiene una fracción líquida, rica en azúcares fermentables y una fracción sólida compuesta principalmente de celulosa y lignina. El tratamiento ácido, es eficiente en la disolución de la hemicelulosa, en especial el xilano. Sin embargo, este método, no resulta efectivo para la eliminación de la lignina. Aunque son poderosos agentes para hidrólisis de la celulosa, estos ácidos concentrados son tóxicos, corrosivos y peligrosos, y por lo tanto requieren de procesos resistentes a la corrosión, lo que provoca un encarecimiento de costes [57].

Hidrólisis Alcalina

El tratamiento alcalino es capaz de separar tanto la hemicelulosa como la lignina, sin tener grandes efectos sobre los demás componentes [65]. Los reactivos más utilizados son NaOH, NH₃, CaO y Ca(OH)₂, y a diferencia de los tratamientos ácidos, no necesitan temperaturas tan altas, aunque si por lo general, necesitan tiempos más prolongados de reacción, además no degradan tanto los azúcares [54, 57]. El uso de un álcali provoca la degradación del éster y cadenas laterales alterando la estructura de la lignina. De esta manera se provoca una pérdida de la cristalinidad de la celulosa y solvatación parcial de la hemicelulosa [66]. Sin embargo, este tratamiento tiene como desventaja, que algunas bases se convierten a sus sales no pudiendo recuperarlas y algunas de estas sales pueden quedar incorporadas en la biomasa en el proceso del tratamiento [65].

“Organosolv”

Los métodos de tratamiento “organosolv” están diseñados para fraccionar la madera en sus principales componentes. La lignina y hemicelulosa se despolimerizan y se recuperan como sólidos secos, mientras que la fracción fibrosa de la celulosa se convierte en una disolución acuosa concentrada de glucosa que se obtiene por medio de la hidrólisis enzimática [67].

En el proceso “organosolv”, se utiliza una mezcla de disolvente orgánico acuoso u orgánico con catalizadores ácidos (HCl o H₂SO₄), de esta manera se rompe la lignina interna y los enlaces de la hemicelulosa. Los disolventes usados comúnmente en este proceso son metanol, etanol, acetona, etilenglicol, trietilenglicol y alcohol tetrahidrofurfurilo. Otros ácidos orgánicos tales como el ácido oxálico, ácido acetilsalicílico, también pueden ser utilizados como catalizadores en este proceso [57].

Dentro de los tratamientos químicos se incluyen además la disolución de biomasa lignocelulósica con líquidos iónicos. Este tipo de tratamiento es el que se ha utilizado a lo largo de esta tesis y se desarrollará más ampliamente en un apartado posterior.

1.4.4. Tratamientos biológicos

En este tipo de tratamientos se utilizan diferentes tipos de hongos y bacterias para reducir la cristalinidad de la biomasa lignocelulósica y facilitar los procesos de conversión a productos finales para los biocombustibles.

El tratamiento de la biomasa con microorganismos se muestra como una técnica prometedora, ya que cuenta con varias ventajas: no necesita de reactivos químicos que comprometan el medio ambiente, bajo costo energético, y en general sus mecanismos así como sus condiciones de trabajo son amigables al medio ambiente. Los microorganismos más utilizados son los hongos, que según su mecanismo de degradación de la biomasa leñosa se pueden identificar como, hongos de pudrición blanca, parda o blanda. Los dos últimos tienen comprobada acción en la celulosa; sin embargo, solo los hongos de pudrición blanca tienen capacidad de degradar la lignina [54]. Varios hongos de la pudrición blanca como *Phanerochaete chrysosporium*, *Ceriporia lacerata*, *Cyathus stercolerus*, *Ceriporiopsis subvermispora*, *Pycnoporus cinnabarinus* y *Pleurotus ostreatus* se han examinado en diferentes biomasa lignocelulósica mostrando una alta eficiencia de deslignificación [57].

El tratamiento biológico también se extiende al reino procariota, pero la degradación bacteriana de la lignocelulosa es un proceso lento, ya que carecen de enzimas potentes en la degradación de la lignocelulosa. Los tratamientos biológicos son lentos, y requieren de un riguroso control del

crecimiento microbiano, además, muchos de los microorganismos ligninolíticos consumen parte de la celulosa y hemicelulosa [59].

1.5. Los Líquido Iónicos

1.5.1. Características y propiedades de los líquidos iónicos (LIs)

En los últimos años, los líquidos iónicos han sido utilizados en varios campos de la investigación como disolventes en catálisis, en electroquímica, síntesis orgánica entre otros [68-72]. Los líquidos iónicos o sales fundidas, se definen como sales con un punto de fusión por debajo de 100 °C y que están formadas generalmente por un catión orgánico y un anión orgánico o inorgánico [70].

Los líquidos iónicos exhiben propiedades únicas tales como; presión de vapor despreciable, extraordinarias propiedades de disolución, muchos de ellos son líquidos a temperatura ambiente, conductividad eléctrica alta, volatilidad baja e inflamabilidad baja. Además tienen gran estabilidad térmica y química y pueden presentar interacciones iónicas y no iónicas. Otra propiedades son: viscosidad elevada a temperaturas bajas aunque varía de forma compleja, densidad entre 1-6 g/cm³, aumentando con la longitud de la cadena, capacidad calorífica mayor a la del agua y una conductividad térmica entre el tolueno y el agua [70, 73-75].

En la Figura 1.13, se representan algunos de los iones típicos de los líquidos iónicos. Normalmente, los líquidos iónicos comprenden de cationes grandes tales como el amonio orgánico, fosfónio, imidazolio o piridinio. Los aniones típicos son haluros, acetatos, boratos o fosfatos. Y como alquilo más comunes nos encontramos con el etilo, butilo, hexilo, octilo y decilo [73, 76]. En esta tesis, se presta especial atención a los líquidos iónicos basados en los cationes de imidazolio porque la combinación de estos cationes con aniones

con enlaces fuertes de H-aceptor, tales como acetato, cloruro y bromuro, hacen que los líquidos iónicos presenten unas excelentes propiedades de solvatación para la disolución de la celulosa [77, 78]. Los LIs son también llamados disolventes de diseño, debido a que sus propiedades fisicoquímicas se pueden cambiar según las elecciones que se hagan de sus iones, pudiendo modificar su polaridad, hidrofobicidad y su actuación como disolventes [69, 74, 76]. Se prevé que se pueden hacer aproximadamente 1.018 combinaciones de iones para obtener ILs útiles [69].

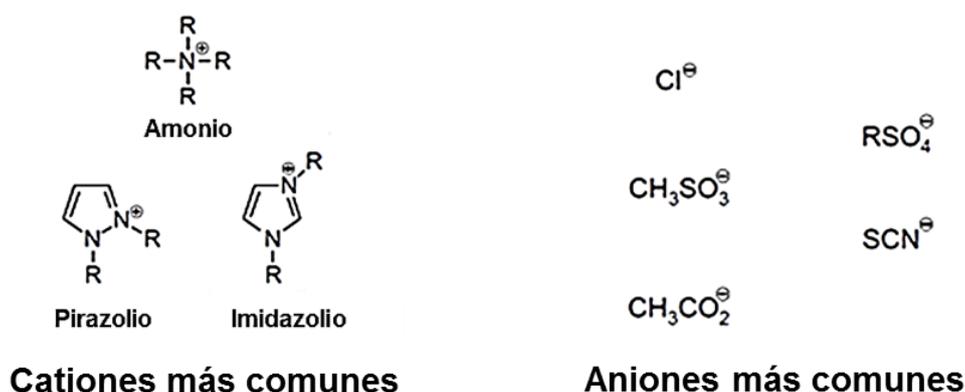


Figura 1.13: Algunos cationes y aniones más comunes de los líquidos iónicos.

1.5.2. Punto de fusión de los líquidos iónicos (LIs)

El punto de fusión tan bajo es la principal característica que distingue a los LIs del resto de las sales. Mientras que el punto de fusión del cloruro de sodio es 801 °C (Tabla 1.2), el cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio ([BMIM]Cl) funde a 65 °C [76]. La razón por la que los LIs tienen puntos de ebullición tan bajos es porque tienen parámetros de red grande. Los iones se mantienen unidos por fuerzas electrostáticas y como se describe por la ley de Coulomb (ver

Introducción

ecuación), la presencia de iones grandes y asimétricos en un compuesto iónico hace que la interacción entre estos iones sea débil, haciendo que su punto de fusión sea bajo.

$$F = \frac{1}{4 \pi \epsilon_0} \cdot \frac{q_1 \cdot q_2}{r^2}$$

Donde F es la fuerza de Coulomb, $\epsilon_0 = 8,854 \cdot 10^{-12} \text{CV}^{-1}\text{m}^{-1}$, q es la carga de cada ion y r es la distancia entre los centros de los iones.

Por otra parte, se deslocaliza la carga positiva de los cationes 1-alquil-3-imidazolio a lo largo del anillo de imidazolio. Como resultado, hay una reducción de la densidad de la carga global, también debilita las fuerzas electrostáticas entre el par iónico. Otro factor que hace que los puntos de fusión sean menores es debido al polimorfismo cristalino que impide la cristalización de los líquidos iónicos. Este es el caso de varios cationes 1-alquil-3-metilimidazolio con cadenas alquilo largas. La cristalización se inhibe debido a la coexistencia de varias estructuras posibles que también pueden causar la disminución de la temperatura de fusión en los LIs [79].

En la Tabla 1.2, podemos ver el punto de ebullición de diferentes 1-alquil-3-metilimidazolio, en donde se puede comprobar que este disminuye cuando aumenta la longitud de la cadena alquílica (entradas 1-3). El aumento de la longitud de los alquilo, debilita las fuerzas de Coulomb, se reduce la simetría porque se produce un desorden local y contribuye a una disminución del punto de fusión [80]. Sin embargo cuando se tiene el anión trifluorometilsulfonato (CF_3SO_3^-) (entradas 4 y 5), un aumento de la longitud de la cadena alquilo, mejora las interacciones de Van der Waals, lo que provoca una ordenación de la estructura más eficiente, mostrando un aumento en el punto de fusión [80]. Así mismo, los LIs que contienen aniones más grandes, comúnmente muestran puntos de fusión más bajos, como pasa con el caso de CF_3SO_3^- .

Tabla 1.2: Puntos de fusión de algunas sales de dialquilimidazolio [76].

Entrada			
	R	X ⁻	Pf/°C
1	Metil	Cl	125
2	Etil	Cl	87
3	n-Butil	Cl	65
4	Etil	CF ₃ SO ₃	-9
5	n-Butil	CF ₃ SO ₃	16
6		NaCl	801

1.5.3. Los líquidos iónicos como disolventes para la celulosa

En 2002, Rogers y col. [81] encontraron que los cloruros de 1-alkil-3-metilimidazolio disolvían la celulosa y madera. En el proceso de la disolución de la celulosa, lo que ocurre es que la estructura cristalina de la celulosa se desmonta, dejando accesibles los enlaces β -(1-4)-D-glicosídicos para los catalizadores. Este avance hizo que se abrieran nuevos horizontes en el estudio de la disolución de celulosa y biomasa en LIs y durante los siguientes años la importancia de este proceso se ha visto reflejada en un gran aumento del número de patentes [82] y publicaciones [64, 83, 84]

Un hecho que hay que tener en cuenta con los LIs es que las propiedades de estos varían enormemente de unos a otros dependiendo de los aniones, cationes y alquilo que tengan, como ya se ha explicado en el

Introducción

apartado anterior y es por esto por lo que no todos los LIs son capaces de disolver la celulosa. Serán buenos disolventes de celulosa aquellos que posean aniones con una gran capacidad de aceptar H en sus bandas de valencia, además el anión no debe ser hidrófobo o contener sustituyentes alquílicos muy voluminosos. Los aniones como acetatos [64], fosfatos [85], sulfatos [86] y haluros como cloruros [64, 83, 87, 88] o bromuros y sus sales de 1,3-dialquilimidazolio [89] son buenos disolventes de celulosa. Por ejemplo, el cloruro de 1-etil-3-metil imidazolio ([EMIM]Cl) y el cloruro de 1-butil-3-metil imidazolio ([BMIM]Cl), son buenos disolventes para la celulosa [64, 83], el anión cloruro está fuertemente implicado en la interrupción de los puentes de hidrógeno que se encuentran uniendo entre sí las microfibras de la celulosa (Figura 1.14).

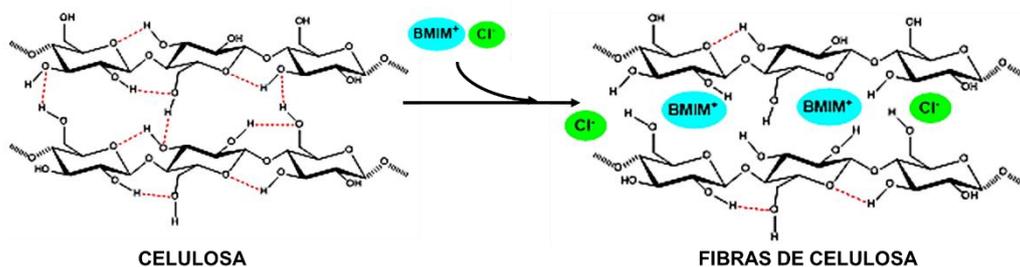


Figura 1.14: Disolución de celulosa en el líquido iónico [BMIM]Cl.

El catión también afecta a las propiedades de disolución de la celulosa. En general, los cationes formados por heterociclos aromáticos planos muestran buenas capacidades de disolución de la celulosa. Por el contrario, los líquidos iónicos que tienen cationes piperidinio y pirrolidinio tetraédricos no pueden disolver celulosa (Figura 1.15). Esto es porque en el catión imidazolio y piridinio, existe debido a la deslocalización de la carga hay de cierta manera

una participación de todos los átomos de hidrógeno en el anillo en la ruptura de los puentes de hidrógeno que hay entre las fibras de celulosa [42].

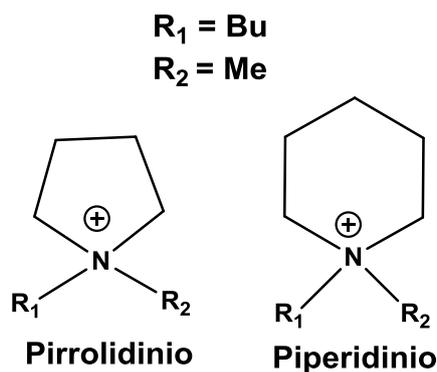


Figura 1.15: Cationes de Lis que no tienen buenas habilidades de disolución de celulosa.

En la práctica, la disolución de la celulosa no sólo depende de la temperatura y tiempo de disolución, sino que también depende del tamaño de las partículas de celulosa, cristalinidad y grado de polimerización [42, 90], además de una buena agitación dentro del reactor [64, 83]. Además es importante añadir la muestra con cuidado para que no se formen aglomeraciones de celulosa que necesitarían más tiempo para disolverse.

1.6. Hidrólisis ácida de biomasa lignocelulósica

La biomasa lignocelulósica, que viene de la parte estructural de las plantas, pueden ser hidrolizada para producir componentes químicos que a su vez pueden ser utilizados como fuentes renovables de carbono para producir biocombustibles y compuestos químicos. En apartados anteriores, se ha estudiado que la biomasa lignocelulósica está compuesta principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina. La ruptura de estos da lugar a la formación de compuestos químicos que pueden ser utilizados para la producción de biocombustibles y compuestos químicos. La celulosa es un polímero de glucosa que puede ser despolimerizado a través de hidrólisis en monómeros, estos se pueden utilizar en una biorrefinería de azúcares para producir combustibles con alta densidad de energía y productos químicos [52, 91-93].

El enfoque conceptual para despolimerizar celulosa en monómeros de azúcar es similar a la seguida durante décadas en las refinerías de petróleo convencionales para producir combustibles y productos químicos. Por lo tanto, se cree que, en el futuro, diferentes plataformas de biorrefinería (termoquímica, lípidos y/o bioquímica) puede suministrar biocombustibles renovables y productos bioquímicos para sustituir, al menos en parte, a los obtenidos a partir de recursos fósiles. El desarrollo de los biocombustibles de segunda y tercera generación solo será posible mediante el uso eficiente de la biomasa lignocelulósica y las microalgas para la producción de biocombustibles a gran escala, estas fuentes de biomasa no compiten de forma directa con la producción de alimentos como es el caso de algunos biocombustibles de primera generación hecho de maíz, caña de azúcar y soja [21].

Uno de los cuellos de botella más importantes en el aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica es la dificultad de realizar de una manera efectiva y económica en la hidrólisis de la celulosa [94, 95]. Los enlaces β -

glicosídicos de las moléculas de azúcar contenidas en la celulosa o lignocelulosa son muy fuertes, además, la celulosa en las materias primas, se encuentra formando una estructura de cadenas de celulosa en microfibras, que a su vez están unidas por numerosos puentes de hidrógeno entre ellas, lo que hace que sea muy difícil su hidrólisis.

La manera más simple para hidrolizar químicamente la celulosa en glucosa es mediante la utilización de un catalizador ácido. El polímero de celulosa está compuesto por monómeros glucopiranosilo unidos por enlaces β -(1,4) glicosídicos, y estos enlaces se pueden romper en presencia de un catalizador ácido [96, 97]. La hidrólisis de la celulosa catalizada químicamente ha visto varios períodos de renacimiento y de vez en cuando se ha combinado con etapas de fermentación biocatalíticas para convertir azúcares en compuestos químicos secundarios [98]. Industrialmente hablando, el proceso más importante es la hidrólisis con ácidos minerales concentrados o diluidos, predominantemente ácido sulfúrico [45]. Una ventaja de este proceso sobre la hidrólisis enzimática es su alto velocidad de hidrólisis. Sin embargo, dependiendo de las condiciones de reacción, la glucosa se pueden transformar en otras moléculas más pequeñas, disminuyendo así el rendimiento [92]. Además, algunos productos de degradación de la glucosa, actúan como los inhibidores frente a transformaciones biológicas de los azúcares obtenidos, como puede ser una etapa de fermentación para obtener etanol.

1.6.1. *La hidrólisis ácida de la biomasa en líquidos iónicos*

La disolución de la celulosa o la biomasa lignocelulósica en líquidos iónicos facilita de una forma extraordinaria la hidrólisis de los biopolímeros (celulosa y hemicelulosa) debido a la eliminación de las barreras de protección

Introducción

estructurales, enlaces de Van der Waals y por puentes de hidrógeno, de los centros de hidrólisis. Así, una vez que se disuelve en líquido iónico, la hidrólisis ácida se produce incluso a temperaturas por debajo de 100 °C [64, 99, 100]. En la Figura 1.16 se muestra la cadena de reacciones de la celulosa catalizada por ácidos. En la primera etapa, la celulosa se hidroliza hacia oligómeros (1,4-β-glucanos) y glucosa. La glucosa no es suficiente estable en condiciones ácidas y es propensa a sufrir deshidratación hacia 5-hidroximetil furfural (5-HMF) y otros productos diferentes. El 5-HMF a su vez, se puede descomponer en dos moléculas: en ácido levulínico y en ácido fórmico en medios acuosos [52, 101]. Estos compuestos y los azúcares pueden reaccionar formando polímeros indefinidos, llamados húmicos [102].

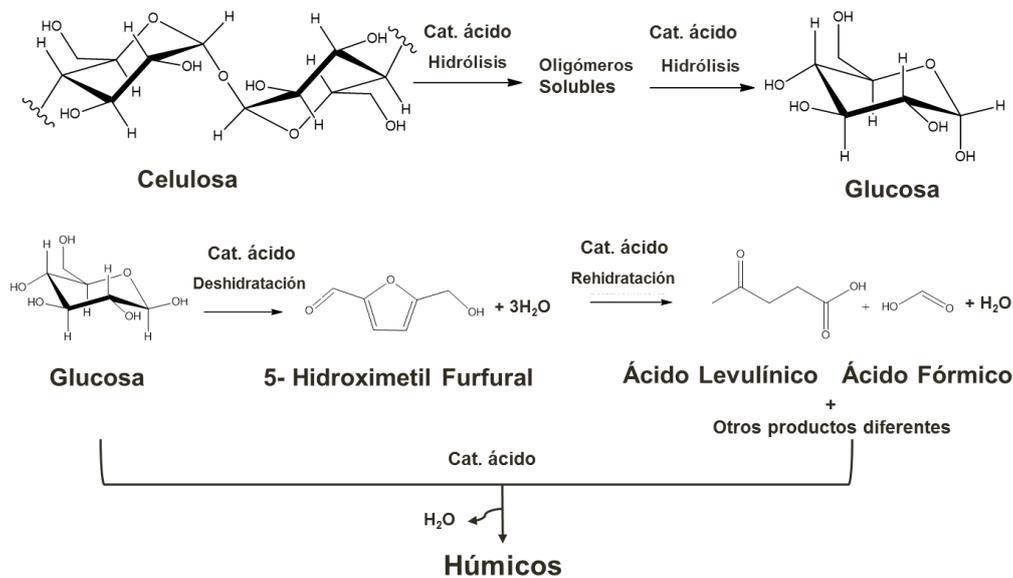


Figura 1.16: Despolimerización de la celulosa.

Sin embargo, cuando se trabaja con biomasa lignocelulósica, uno de los obstáculos más importantes es la necesidad de separar la lignina, que está presente como una cubierta protectora en las células de las plantas y hace que la celulosa y la hemicelulosa sean resistentes a la hidrólisis enzimática. Esta es una de las razones por las que se suelen llevar a cabo procedimientos de tratamiento previos a la hidrólisis ácida, como la disolución en líquidos iónicos, para romper el marco estructural de las plantas y despolimerizar la biomasa lignocelulósica.

En un trabajo pionero, Fort y cols. descubrieron que los sistemas de disolventes basados en cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio/dimetil sulfóxido [BMIM]Cl/DMSO mezclado en una proporción de 84/16 % en peso eran capaces de disolver parcialmente las astillas de madera [103]. Se observó que, en base en la intensidad del color y la viscosidad de la mezcla de la disolución, las partículas de madera se hinchaban y se reducían en tamaño durante la disolución. Del mismo modo, Kilpeläinen y cols. publicaron la disolución completa de un 8% en peso de muestras de serrín de madera seca (pino) en los líquidos iónicos (LIs), [BMIM]Cl y en 1-alil-3-metilimidazolio cloruro de ([AMIM]Cl), en el rango de temperatura entre 80 a 130 °C después de las 8h [104]. ILs han sido reconocidos como disolventes prometedores para la hidrólisis suave y rápida de materias primas de biomasa [38, 64, 105-107]. Sin embargo, el alto coste de los líquidos iónicos puede ser un potencial inconveniente. Por lo tanto, los ILs deben ser recuperados a partir del hidrolizado de manera eficiente mediante el uso de una tecnología de separación rentable. Los cálculos preliminares indican que al menos el 98% del LI utilizado en estos procesos debe ser recuperado para que el proceso económicamente viable [107]. La extracción es difícil porque los azúcares fermentables y los líquidos iónicos usados para disolver la biomasa, como el cloruro de 1-etil-3-metilimidazolio ([EMIM]Cl) presentan solubilidades similares en diversos disolventes [108]. Es por esto, por lo que se ha propuesto una

Introducción

estrategia diferente: el tratamiento previo de la biomasa lignocelulósica mediante el uso de líquidos iónicos y posterior precipitación de la biomasa con un antidisolvente [82]. Mediante esta metodología se puede eliminar eficazmente la lignina y reducir la cristalinidad de la celulosa para permitir la hidrólisis enzimática con altas cargas de sólidos y bajas concentraciones de enzima; por lo tanto, se acelera sustancialmente la velocidad de hidrólisis enzimática y aumenta el rendimiento de azúcares fermentables [109, 110]. Del mismo modo, el tratamiento de biomasa lignocelulósica mediante el uso de líquidos iónicos puede reducir la cristalinidad de la celulosa presente en la biomasa, y eliminar o al menos reducir el sistema de protección de la lignina, y de esta forma favorecer la hidrólisis química a concentraciones muy bajas de ácido, y por lo tanto, aumentar el rendimiento de los azúcares fermentables.

1.7. Bibliografía

[1] J.C. Lovett, S. Hards, J. Clancy, C. Snell, Multiple objectives in biofuels sustainability policy, *Energy Environ. Sci.*, 4 (2011) 261.

[2] Energy Roadmap 2050, COM(2011) 885/2, in.

[3] J.C. Serrano-Ruiz, J.A. Dumesic, Catalytic routes for the conversion of biomass into liquid hydrocarbon transportation fuels, *Energy and Environmental Science*, 4 (2011) 83-99.

[4] International Energy A. (IEA), Tracking Clean Energy Progress 2014. Energy Technology Perspectives 2014 Excerpt IEA Input to the Clean Energy Ministerial, in, 2014.

[5] BP Statistical Review of World Energy June 2014 <http://www.bp.com/> Accedido en Febrero 2015, in.

[6] INTERNATIONAL ENERGY OUTLOOK 2014. <http://www.eia.gov/forecasts/ieo/index.cfm>. Accedido en Febrero 2015

in.

[7] International Energy A.I. Statistics, CO2 EMISSIONS FROM FUEL COMBUSTION, in, 2014.

[8] G.I.d.E.s.e.C.C. (IPCC), CAMBIO CLIMÁTICO 2013 Bases físicas. , (2013).

[9] J.N. Chheda, G.W. Huber, J.A. Dumesic, Liquid-phase catalytic processing of biomass-derived oxygenated hydrocarbons to fuels and chemicals, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 46 (2007) 7164-7183.

- [10] A.J. Ragauskas, C.K. Williams, B.H. Davison, G. Britovsek, J. Cairney, C.A. Eckert, W.J. Frederick Jr, J.P. Hallett, D.J. Leak, C.L. Liotta, J.R. Mielenz, R. Murphy, R. Templer, T. Tschaplinski, The path forward for biofuels and biomaterials, *Science*, 311 (2006) 484-489.
- [11] R. Rinaldi, F. Schüth, Design of solid catalysts for the conversion of biomass, *Energy Environ. Sci.*, 2 (2009) 610.
- [12] L.A. Pfaltzgraff, J.H. Clark, Green chemistry, biorefineries and second generation strategies for re-use of waste: an overview, in: *Advances in Biorefineries: Biomass and Waste Supply Chain Exploitation* Elsevier Ltd., 2014, pp. 3-33.
- [13] E.M. Rubin, Genomics of cellulosic biofuels, *Nature*, 454 (2008) 841-845.
- [14] B. Kamm, M. Kamm, Principles of biorefineries, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 64 (2004) 137-145.
- [15] J.H. Clark, F.E.I. Deswarte, T.J. Farmer, The integration of green chemistry into future biorefineries, *Biofuels, Bioprod. Bioref.*, 3 (2009) 72-90.
- [16] J. Regalbuto, An NSF perspective on next generation hydrocarbon biorefineries, *Computers & Chemical Engineering*, 34 (2010) 1393-1396.
- [17] S. Murat Sen, C.A. Henao, D.J. Braden, J.A. Dumesic, C.T. Maravelias, Catalytic conversion of lignocellulosic biomass to fuels: Process development and techno-economic evaluation, *Chemical Engineering Science*, 67 (2012) 57-67.
- [18] G.W. Huber, S. Iborra, A. Corma, Synthesis of Transportation Fuels from Biomass: Chemistry, Catalysts, and Engineering, *Chem. Rev.*, 106 (2006) 4044-4098.

- [19] H.B. Goyal, D. Seal, R.C. Saxena, Bio-fuels from thermochemical conversion of renewable resources: A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 12 (2008) 504-517.
- [20] A.M. Ruppert, K. Weinberg, R. Palkovits, Hydrogenolysis Goes Bio: From Carbohydrates and Sugar Alcohols to Platform Chemicals, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 51 (2012) 2564-2601.
- [21] S. Morales-Delarosa, J.M. Campos-Martin, Catalytic processes and catalyst development in biorefining, in: *Advances in Biorefineries: Biomass and Waste Supply Chain Exploitation*, Elsevier Ltd., 2014, pp. 152-198.
- [22] V. Menon, M. Rao, Trends in bioconversion of lignocellulose: Biofuels, platform chemicals & biorefinery concept, *Prog. Energy Combust. Sci.*, 38 (2012) 522-550.
- [23] M.d. Prado-García, Biorrefinerías: Situación Actual y Perspectivas de Futuro Informe de Vigilancia Tecnológica (M. Ballesteros, M. J. Negro Eds.), Fundación Española para el Desarrollo de la Investigación en Genómica y Proteómica / Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas, Madrid, 2009.
- [24] J.-P. Lange, Lignocellulose conversion: an introduction to chemistry, process and economics, *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 1 (2007) 39-48.
- [25] F.W. Lichtenthaler, S. Peters, Carbohydrates as green raw materials for the chemical industry, *Comptes Rendus Chimie*, 7 (2004) 65-90.
- [26] D.A. Simonetti, J.A. Dumesic, Catalytic Production of Liquid Fuels from Biomass-Derived Oxygenated Hydrocarbons: Catalytic Coupling at Multiple Length Scales, *Catalysis Reviews*, 51 (2009) 441-484.

- [27] P. Langan, S. Gnanakaran, K.D. Rector, N. Pawley, D.T. Fox, D.W. Cho, K.E. Hammel, Exploring new strategies for cellulosic biofuels production, *Energy Environ. Sci.*, 4 (2011) 3820.
- [28] M. FitzPatrick, P. Champagne, M.F. Cunningham, R.A. Whitney, A biorefinery processing perspective: Treatment of lignocellulosic materials for the production of value-added products, *Bioresour. Technol.*, 101 (2010) 8915-8922.
- [29] D. Martin Alonso, J.Q. Bond, J.A. Dumesic, Catalytic conversion of biomass to biofuels, *Green Chemistry*, 12 (2010) 1493.
- [30] G. Santori, G. Di Nicola, M. Moglie, F. Polonara, A review analyzing the industrial biodiesel production practice starting from vegetable oil refining, *Applied Energy*, 92 (2012) 109-132.
- [31] D.Y.C. Leung, X. Wu, M.K.H. Leung, A review on biodiesel production using catalyzed transesterification, *Applied Energy*, 87 (2010) 1083-1095.
- [32] A.T.W.M. Hendriks, G. Zeeman, Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass, *Bioresour. Technol.*, 100 (2008) 10-18.
- [33] J. Mata-Alvarez, S. Macé, P. Llabrés, Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives, *Bioresour. Technol.*, 74 (2000) 3-16.
- [34] F. Börnke, I. Broer, Tailoring plant metabolism for the production of novel polymers and platform chemicals, *Current Opinion in Plant Biology*, 13 (2010) 354-362.
- [35] Biomass Energy Center, What is BIOMASS?, in, UK.

- [36] C.E. Wyman, Biomass Ethanol: Technical Progress, Opportunities, and Commercial Challenges, *Annual Review of Environment* 24 (1999) 189-226.
- [37] S.P.S. Chundawat, G.T. Beckham, M.E. Himmel, B.E. Dale, Deconstruction of Lignocellulosic Biomass to Fuels and Chemicals, *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, 2 (2011) 121-145.
- [38] R. Rinaldi, F. Schuth, Acid hydrolysis of cellulose as the entry point into biorefinery schemes, *ChemSusChem*, 2 (2009) 1096-1107.
- [39] Pauly M, K. K., Cell wall carbohydrates and their modifications as a resource for biofuels, *The Plant Journal*, 54 (2008) 559-568.
- [40] Dieter Klemm, B. Heublein, H.-P. Fink, A. Bohn, Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material, *Angewandte Chemie International Edition*, 44 (2005) 3358 – 3393.
- [41] D.S. Hon, Cellulose: a random walk along its historical path, *Cellulose*, 1 (1994) 1-25.
- [42] A. Pinkert, K.N. Marsh, S. Pang, Reflections on the Solubility of Cellulose, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 49 (2010) 11121-11130.
- [43] M.B. Casillas, Pretratamiento de biomasa celulósica para la obtención de etanol en el marco de una biorrefinería, in: *Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Forestal, Universidad Politécnica de Madrid.*, 2010.
- [44] M. Wada, H. Chanzy, Y. Nishiyama, P. Langan, Cellulose III_C Crystal Structure and Hydrogen Bonding by Synchrotron X-ray and Neutron Fiber Diffraction, *Macromolecules*, 37 (2004) 8548-8555.
- [45] S. Van de Vyver, J. Geboers, P.A. Jacobs, B.F. Sels, Recent Advances in the Catalytic Conversion of Cellulose, *ChemCatChem*, 3 (2011) 82-94.

- [46] Y. Nishiyama, G. Johnson, A. French, Diffraction from nonperiodic models of cellulose crystals, *Cellulose*, 19 (2012) 319-336.
- [47] <http://www.chem.vt.edu/chem-dept/helm/3434WOOD/chime/lignin.html>, in.
- [48] P. Prinsen, Composición química de diversos materiales lignocelulósicos de interés industrial y análisis estructural de sus ligninas, in, CSIC - Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS) Universidad de Sevilla, 2010.
- [49] S.V. Scheller, P. Ulvskov, Hemicelluloses, *Annual Review of Plant Biology*, 61 (2010) 263-289.
- [50] J. Pérez, J. Muñoz-Dorado, T.d.l. Rubia, J. Martínez, Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview, *International Microbiology*, 5 (2002) 53-63.
- [51] Dietrich Fengel, Gerd Wegener, *Wood: Chemistry, ultrastructure, reactions.*, Berlin, 1984.
- [52] A. Brandt, J. Gräsvik, J.P. Hallett, T. Welton, Deconstruction of lignocellulosic biomass with ionic liquids, *Green Chem.*, 15 (2013) 550.
- [53] A. Carroll, C. Somerville, Cellulosic Biofuels, *Annual Review of Plant Biology*, 60 (2009) 165-182.
- [54] P. Alvira, E. Tomas-Pejo, M. Ballesteros, M.J. Negro, Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review, *Bioresour Technol*, 101 (2010) 4851-4861.

- [55] N. Ji, T. Zhang, M. Zheng, A. Wang, H. Wang, X. Wang, J.G. Chen, Direct Catalytic Conversion of Cellulose into Ethylene Glycol Using Nickel-Promoted Tungsten Carbide Catalysts, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 47 (2008) 8510-8513.
- [56] S. Morales-delaRosa, J.M. Campos-Martin, J.L.G. Fierro, Optimization of the process of chemical hydrolysis of cellulose to glucose, *Cellulose*, (2014) DOI: 10.1007/s10570-10014-10280-10579.
- [57] P. Kumar, D.M. Barrett, M.J. Delwiche, P. Stroeve, Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 48 (2009) 3713-3729.
- [58] N. Mosier, C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y.Y. Lee, M. Holtzapple, M. Ladisch, Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass, *Bioresour. Technol.*, 96 (2005) 673-686.
- [59] Y. Sun, J. Cheng, Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review, *Bioresour. Technol.*, 83 (2002) 1-11.
- [60] D.A. Bulushev, J.R.H. Ross, Catalysis for conversion of biomass to fuels via pyrolysis and gasification: A review, *Catal. Today*, 171 (2011) 1-13.
- [61] I. Ballesteros, M.J. Negro, Jose Miguel Oliva, A. Cabañas, P. Manzanares, M. Ballesteros, Ethanol Production From Steam-Explosion Pretreated Wheat Straw, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 129-132 (2006) 496-508.
- [62] C. Hongzhang, L. Liying, Unpolluted fractionation of wheat straw by steam explosion and ethanol extraction, *Bioresour. Technol.*, 98 (2007) 666-676.
- [63] F. Teymouri, L. Laureano-Perez, H. Alizadeh, B.E. Dale, Optimization of the ammonia fiber explosion (AFEX) treatment parameters for enzymatic hydrolysis of corn stover, *Bioresour. Technol.*, 96 (2005) 2014-2018.

Introducción

- [64] S. Morales-delaRosa, J.M. Campos-Martin, J.L.G. Fierro, High glucose yields from the hydrolysis of cellulose dissolved in ionic liquids, *Chem. Eng. J.*, 181-182 (2012) 538-541.
- [65] M. Balat, Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review, *Energy Convers. Manage.*, 52 (2011) 858-875.
- [66] G. Brodeur, E. Yau, K. Badal, J. Collier, K.B. Ramachandran, S. Ramakrishnan, Chemical and physicochemical pretreatment of lignocellulosic biomass: A review, *Enzyme Res.*, 2011 (2011).
- [67] J. Viell, A. Harwardt, J. Seiler, W. Marquardt, Is biomass fractionation by Organosolv-like processes economically viable? A conceptual design study, *Bioresour. Technol.*, 150 (2013) 89-97.
- [68] T. Welton, Ionic liquids in catalysis, *Coord. Chem. Rev.*, 248 (2004) 2459-2477.
- [69] A.R. Katritzky, R. Jain, A. Lomaka, R. Petrukhin, M. Karelson, A.E. Visser, R.D. Rogers, Correlation of the Melting Points of Potential Ionic Liquids (Imidazolium Bromides and Benzimidazolium Bromides) Using the CODESSA Program, *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 42 (2002) 225-231.
- [70] A. Pinkert, K.N. Marsh, S. Pang, M.P. Staiger, Ionic Liquids and Their Interaction with Cellulose, *Chem. Rev.*, 109 (2009) 6712-6728.
- [71] H. Olivier-Bourbigou, L. Magna, D. Morvan, Ionic liquids and catalysis: Recent progress from knowledge to applications, *Appl. Catal., A*, 373 (2010) 1-56.

- [72] C.M. Gordon, New developments in catalysis using ionic liquids, *Appl. Catal., A*, 222 (2001) 101–117.
- [73] H. Olivier-Bourbigou, L. Magna, Ionic liquids: perspectives for organic and catalytic reactions, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, 182-183 (2002) 419–437.
- [74] J.G. Huddleston, A.E. Visser, W.M. Reichert, H.D. Willauer, G.A. Broker, R.D. Rogers, Characterization and comparison of hydrophilic and hydrophobic room temperature ionic liquids incorporating the imidazolium cation, *Green Chem.*, 3 (2001) 156-164.
- [75] Wilkes, J., Properties of ionic liquid solvents for catalysis, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, 214 (2004) 11-17.
- [76] R. Sheldon, Catalytic reactions in ionic liquids, *Chem. Commun.*, (2001) 2399–2407.
- [77] M. Zavrel, D. Bross, M. Funke, J. Büchs, A.C. Spiess, High-throughput screening for ionic liquids dissolving (ligno-)cellulose, *Bioresour. Technol.*, 100 (2009) 2580-2587.
- [78] H. Ohno, Y. Fukaya, Task Specific Ionic Liquids for Cellulose Technology, *Chem. Lett.*, 38 (2009) 2-7.
- [79] H. Hamaguchi, R. Ozawa, *Advances in Chemical Physics*, John Wiley & Sons, Inc., 2005.
- [80] I. López-Martin, E. Burello, P.N. Davey, K.R. Seddon, G. Rothenberg, Anion and Cation Effects on Imidazolium Salt Melting Points: A Descriptor Modelling Study, *ChemPhysChem*, 8 (2007) 690-695.
- [81] R.P. Swatloski, S.K. Spear, J.D. Holbrey, R.D. Rogers, Dissolution of Cellose with Ionic Liquids, *J. Am. Chem. Soc.*, 124 (2002) 4974-4975.

- [82] S. Morales de la Rosa, J.L. García Fierro, J.M. Campos-Martín, Method for the hydrolysis of lignocellulosic biomass, in: WO2015/004296, Consejo Superior Investigaciones Científicas, 2015.
- [83] S. Morales-delaRosa, J.M. Campos-Martin, J.L.G. Fierro, Complete Chemical Hydrolysis of Cellulose into Fermentable Sugars through Ionic Liquids and Antisolvent Pretreatments, *ChemSusChem*, 7 (2014) 3467-3475.
- [84] H. Garcia, R. Ferreira, M. Petkovic, J.L. Ferguson, M.C. Leitao, H.Q.N. Gunaratne, K.R. Seddon, L.P.N. Rebelo, C. Silva Pereira, Dissolution of cork biopolymers in biocompatible ionic liquids, *Green Chem.*, 12 (2010) 367-369.
- [85] Y. Fukaya, K. Hayashi, M. Wada, H. Ohno, Cellulose dissolution with polar ionic liquids under mild conditions: required factors for anions, *Green Chem.*, 10 (2008) 44.
- [86] A. Brandt, M.J. Ray, T.Q. To, D.J. Leak, R.J. Murphy, T. Welton, Ionic liquid pretreatment of lignocellulosic biomass with ionic liquid–water mixtures, *Green Chem.*, 13 (2011) 2489.
- [87] B. Kosan, C. Michels, F. Meister, Dissolution and forming of cellulose with ionic liquids, *Cellulose*, 15 (2007) 59-66.
- [88] H.T. Tan, K.T. Lee, A.R. Mohamed, Pretreatment of lignocellulosic palm biomass using a solvent-ionic liquid [BMIM]Cl for glucose recovery: An optimisation study using response surface methodology, *Carbohydr. Polym.*, 83 (2011) 1862-1868.
- [89] S. Xia, G.A. Baker, H. Li, S. Ravula, H. Zhao, Aqueous ionic liquids and deep eutectic solvents for cellulosic biomass pretreatment and saccharification, *RSC Advances*, 4 (2014) 10586-10596.

- [90] N. Sathitsuksanoh, A. George, Y.H.P. Zhang, New lignocellulose pretreatments using cellulose solvents: a review, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 88 (2013) 169-180.
- [91] D.M. Alonso, J.Q. Bond, J.A. Dumesic, Catalytic conversion of biomass to biofuels, *Green Chem.*, 12 (2010) 1493.
- [92] J.A. Geboers, S. Van de Vyver, R. Ooms, B. Op de Beeck, P.A. Jacobs, B.F. Sels, Chemocatalytic conversion of cellulose: opportunities, advances and pitfalls, *Catal. Sci. Tech.*, 1 (2011) 714.
- [93] H.J. Huang, S. Ramaswamy, U.W. Tschirner, B.V. Ramarao, A review of separation technologies in current and future biorefineries, *Sep. Purif. Technol.*, 62 (2008) 1-21.
- [94] S. Banerjee, S. Mudliar, R. Sen, B. Giri, D. Satpute, T. Chakrabarti, R.A. Pandey, Commercializing lignocellulosic bioethanol: technology bottlenecks and possible remedies, *Biofuels, Bioprod. Bioref.*, 4 (2010) 77-93.
- [95] S. Kumar, S.P. Singh, I.M. Mishra, D.K. Adhikari, Recent Advances in Production of Bioethanol from Lignocellulosic Biomass, *Chem. Eng. Technol.*, 32 (2009) 517-526.
- [96] W.K. El-Zawawy, M.M. Ibrahim, Y.R. Abdel-Fattah, N.A. Soliman, M.M. Mahmoud, Acid and enzyme hydrolysis to convert pretreated lignocellulosic materials into glucose for ethanol production, *Carbohydr. Polym.*, 84 (2011) 865-871.
- [97] J. Tian, J. Wang, S. Zhao, C. Jiang, X. Zhang, X. Wang, Hydrolysis of cellulose by the heteropoly acid H₃PW₁₂O₄₀, *Cellulose*, 17 (2010) 587-594.

- [98] P. Maki-Arvela, T. Salmi, B. Holmbom, S. Willfor, D.Y. Murzin, Synthesis of sugars by hydrolysis of hemicelluloses--a review, *Chem Rev*, 111 (2011) 5638-5666.
- [99] R. Rinaldi, R. Palkovits, F. Schüth, Depolymerization of Cellulose Using Solid Catalysts in Ionic Liquids, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 47 (2008) 8047-8050.
- [100] C. Li, Z.K. Zhao, Efficient Acid-Catalyzed Hydrolysis of Cellulose in Ionic Liquid, *Adv. Synth. Catal.*, 349 (2007) 1847-1850.
- [101] D.M. Alonso, J.M.R. Gallo, M.A. Mellmer, S.G. Wettstein, J.A. Dumesic, Direct conversion of cellulose to levulinic acid and gamma-valerolactone using solid acid catalysts, *Catal. Sci. Tech.*, 3 (2013) 927.
- [102] S.J. Dee, A.T. Bell, A study of the acid-catalyzed hydrolysis of cellulose dissolved in ionic liquids and the factors influencing the dehydration of glucose and the formation of humins, *ChemSusChem*, 4 (2011) 1166-1173.
- [103] D.A. Fort, R.C. Remsing, R.P. Swatloski, P. Moyna, G. Moyna, R.D. Rogers, Can ionic liquids dissolve wood? Processing and analysis of lignocellulosic materials with 1-n-butyl-3-methylimidazolium chloride, *Green Chem.*, 9 (2007) 63-69.
- [104] I. Kilpeläinen, H. Xie, A. King, M. Granstrom, S. Heikkinen, D.S. Argyropoulos, Dissolution of Wood in Ionic Liquids, *J. Agric. Food. Chem.*, 55 (2007) 9142-9148.
- [105] H. Zhang, J. Wu, J. Zhang, J. He, 1-Allyl-3-methylimidazolium Chloride Room Temperature Ionic Liquid: A New and Powerful Nonderivatizing Solvent for Cellulose, *Macromolecules*, 38 (2005) 8272-8277.

- [106] N. Kamiya, Y. Matsushita, M. Hanaki, K. Nakashima, M. Narita, M. Goto, H. Takahashi, Enzymatic in situ saccharification of cellulose in aqueous-ionic liquid media, *Biotechnol. Lett.*, 30 (2008) 1037-1040.
- [107] J.B. Binder, R.T. Raines, Fermentable sugars by chemical hydrolysis of biomass, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 107 (2010) 4516-4521.
- [108] C. Sievers, M.B. Valenzuela-Olarte, T. Marzialetti, I. Musin, P.K. Agrawal, C.W. Jones, Ionic-Liquid-Phase Hydrolysis of Pine Wood, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 48 (2009) 1277-1286.
- [109] Y. Wang, M. Radosevich, D. Hayes, N. Labbé, Compatible Ionic liquid-cellulases system for hydrolysis of lignocellulosic biomass, *Biotechnol. Bioeng.*, 108 (2011) 1042-1048.
- [110] R. Rinaldi, P. Engel, J. Buchs, A.C. Spiess, F. Schuth, An integrated catalytic approach to fermentable sugars from cellulose, *ChemSusChem*, 3 (2010) 1151-1153.

2. OBJETIVOS

Objetivos

El **objetivo principal** del trabajo descrito en esta memoria es maximizar la producción de azúcares fermentables en el proceso de hidrólisis ácida de celulosa asistida por líquidos iónicos y posteriormente aplicar estos procesos a muestras de biomasa lignocelulósica real. Para ello:

- Se estudiarán las condiciones de operación de la reacción de hidrólisis química de celulosa, y basado en este estudio se definirán las condiciones que maximicen la producción de glucosa para los diferentes aproximaciones a que se realicen para abordar la hidrólisis de celulosa.
- Se comprobarán que los resultados obtenidos con celulosa es aplicable a la biomasa lignocelulósica completa, y el efecto de la presencia de otros componentes de la biomasa, principalmente lignina y hemicelulosa, en rendimiento a azúcares.
- Se correlacionará la fuerza ácida de diferentes Catalizadores Homogéneos con la eficiencia en la hidrólisis de celulosa a azúcares solubles y fermentables.
- Se estudiará el uso de líquidos iónicos basados en sales de imidazolio en diferentes procedimientos de hidrólisis asistida, y de esta forma seleccionar los más adecuados en la disolución de celulosa y biomasa lignocelulósica e hidrólisis ácida.
- Se analizará la interacción de los líquidos iónicos con la celulosa y la biomasa lignocelulósica mediante la caracterización fisicoquímica de las muestras antes y después de estar en contacto con el líquido iónico.
- Se explorará la utilización Catalizadores Heterogéneos en la hidrólisis ácida asistida con líquidos iónicos.

3. MÉTODOS EXPERIMENTALES

3.1. Reactivos y Compuestos.....	1
3.2. Técnicas de Caracterización	4
3.2.1. Difracción de Rayos X.....	4
3.2.2. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM, Scanning Electron Microscope)	7
3.2.3. Espectroscopia Ultravioleta Visible (UV-VIS).....	10
3.3. Medidas de Actividad.....	13
3.3.1. Hidrólisis ácida de celulosa y biomasa lignocelulósica en líquidos iónicos “in situ”	13
3.3.2. Procesos de hidrólisis ácida homogénea de la celulosa y biomasa lignocelulósica sin tratar y tratada con LIs.....	15
3.3.3. Procesos de hidrólisis ácida heterogénea de la celulosa sin tratar y tratada con LIs	17
3.3.4. Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC, high performance liquid chromatography).....	17
3.3.5. Determinación de los Azúcares Reductores Totales (TRS).	24
3.4. Bibliografía	26

3.1. Reactivos y Compuestos

En el desarrollo de las actividades descritas en esta memoria se utilizaron dos muestras de celulosa comercial en las diferentes reacciones de hidrólisis ácida: celulosa fibrosa (C6288) y celulosa microgranular (C6413), ambas provienen de fibra de algodón y fueron adquiridas en Sigma-Aldrich.

Los líquidos iónicos (LIs) utilizados en la disolución de celulosa y biomasa lignocelulósica, fueron fabricados por BASF (Basionic) y se adquirieron en Sigma-Aldrich. Los LIs que utilizamos fueron: el cloruro de 1-etil-3-metilimidazolio [EMIM]Cl, el cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio [BMIM]Cl y el 1-etil-3-acetato metilimidazolio [EMIM]Ac. Todos ellos se utilizaron sin purificar y no se realizó ningún tratamiento previo con ellos.

Los catalizadores ácidos homogéneos probados en la hidrólisis fueron: ácido sulfúrico (H_2SO_4), ácido para-toluensulfónico (p-TSA), ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$), ácido clorhídrico (HCl), ácido fosfórico (H_3PO_4), ácido acético (AA), ácido oxálico (AO), ácido trifluorometanosulfónico (TFMS) y ácido trifluoroacético (TFAA). Todos ellos fueron adquiridos en Sigma-Aldrich.

Los catalizadores ácidos heterogéneos probados en la hidrólisis fueron: Amberlyst 70 proporcionada por la empresa Dow Chemical, Si-PropilSulfonic (40-63 μm), Si-Tosic Acid (40-63 μm) y Si-Tosic Acid (500-1000 μm) catalizadores comprados a Silicycle.

Los patrones de análisis para la cromatografía de alta resolución HPLC fueron: glucosa, celobiosa, xilosa, arabinosa, galactosa, ácido levulínico, 5-HMF y furfural. Todos ellos se adquirieron en Sigma-Aldrich.

Las muestras de biomasa lignocelulósica que se utilizaron fueron: paja de cebada, paja de trigo y ramón de olivo. Todas las muestras fueron amablemente cedidas y caracterizadas por la Unidad de Biocarburantes del

Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT).

Los métodos de caracterización de biomasa son procedimientos adaptados de los métodos estándares de análisis de biomasa del National Renewable Energy Laboratory (NREL; Colorado, EE UU) [1] y los análisis se realizaron en los laboratorios de la Unidad de Biocarburantes del CIEMAT.

Después de preparar la muestra (molienda y cribado), las muestras se sometieron a una extracción en dos etapas con agua y etanol, con el fin de determinar el contenido en extractivos y proceder al análisis de carbohidratos y lignina en la biomasa libre de extractivos. Posteriormente, los resultados se corrigieron para expresar los datos en la biomasa completa. Las determinaciones de extractivos se hicieron por cuadruplicado y el análisis de componentes se realizó por triplicado sobre las muestras extraídas. En la Tabla 3.1 se recogen los valores medios para las muestras analizadas.

Como se puede comprobar en la Tabla 3.1, las muestras de paja de cebada y de trigo tienen un mayor contenido de celulosa en torno al 40 % en peso y de hemicelulosa aproximadamente del 28 % con respecto al ramón de olivo que tiene un 24 % de celulosa y 19 % de hemicelulosa. Sin embargo, la concentración de extractivos acuosos en el ramón de olivo es mayor que en las otras muestras, en torno al 22 %, frente a un 10 % en las muestras de paja de cebada y trigo.

Métodos Experimentales

Tabla 3.1: Análisis de composición de muestras de ramón olivo, paja de trigo y paja de cebada. Datos de composición en % sobre peso seco a 105 °C.

	Ramón olivo	Paja cebada	Paja trigo
Extractivos	25,3± 0,85	13,4±0,6	12,2± 0,7
Acuosos	22,0±0,9	10,8±0,5	9,9±0,4
Orgánicos	3,3±0,07	2,6±0,07	1,7±1,22
Celulosa	24,4± 0,2	39,7±0,5	40,1±0,2
Hemicelulosa	18,9±0,1	27,3±0,1	28,6±0,3
Xilano	11,9±0,1	23,3±0,1	24,2±0,2
Galactano	2,7±0,03	0,9±0,02	1,6±0,01
Arabinano + manano	4,3±0,02	3,1±0,05	2,8±0,14
Lignina ácido insoluble	16,4±0,05	13,7±0,5	15,4±0,3
Cenizas	4,3±0,09	6,6±0,2	3,6±0,1
Grupos acetilo	2,4±0,06	1,5±0,05	1,6±0,02

En la fracción de extractivos acuosos determinamos azúcares y en la Tabla 3.2 se muestran los datos en relación a glucosa, que es el azúcar mayoritario. El ramón de olivo contiene una cantidad considerable en glucosa que es extraída mediante extracción acuosa, se cree que podrían ser derivados de almidón soluble.

Tabla 3.2: Análisis de composición en glucosa determinada en los extractos acuosos. Datos de composición en % sobre peso seco a 105 °C

	Glucosa monomérica	Glucosa ⁽¹⁾ en forma oligomérica y monomérica
Ramón olivo	0,94±0,05	6,20±0,29
Paja de cebada	0,49±0,07	1,39±0,17
Paja de trigo	0,23±0,08	1,04±0,13

(1) Glucosa medida en el extracto acuoso después de una hidrólisis (Ácido sulfúrico 4%, 120°C, 30 min)

3.2. Técnicas de Caracterización

3.2.1. Difracción de Rayos X

La técnica de difracción de rayos X, se basa en el hecho de que una gran parte de los sólidos están compuestos por sustancias cristalinas, al formar sus átomos redes tridimensionales, que pueden actuar como rejillas de difracción para rayos incidentes monocromáticos, siempre que la longitud de onda incidente sea del orden de la distancia entre átomos. Por tanto, para que ocurra el fenómeno de difracción, la longitud de onda del haz incidente debe ser del orden de la distancia entre átomos y por este motivo se emplean rayos X. En las mismas condiciones, cada sustancia cristalina produce un difractograma único que puede ser empleado para su identificación. Esta técnica se puede emplear como una técnica analítica para identificar no solo cualitativamente sino también cuantitativamente los compuestos cristalinos constituyentes de una sustancia.

La difracción de rayos X se basa en la reflexión de las ondas electromagnéticas incidentes por planos sucesivos de átomos en un cristal. Al incidir un haz de rayos X según un ángulo θ parte de la radiación se refleja y parte sigue su camino en una estructura ordenada. La ley Bragg establece que para que las ondas “reflejadas” estén en concordancia de fase, y por tanto originen una interferencia constructiva (difracción), es necesario que la diferencia de camino recorrido de la dos reflexiones sea múltiplo entero de la longitud de onda del haz incidente [2]. Esta observación se traduce matemáticamente en la siguiente expresión:

$$n \cdot \lambda \text{ (n = 0, 1, 2...)} = 2L \cdot \text{sen } \theta$$

donde n es un número entero, λ es la longitud de onda incidente, L es la distancia interplanar y θ es el ángulo formado entre el rayo incidente y la muestra.

Las distancias entre los diferentes planos que definen la red cristalina determinan el valor del ángulo de Bragg, cuya posición se considera como una “huella de identidad” del sólido ordenado (Figura 3.1). De este modo, los patrones de difracción suministran información inequívoca de la estructura cristalina. La posición angular de los máximos de difracción se relaciona con los parámetros de la celda unidad, mientras que la intensidad refleja la simetría de la red y la densidad electrónica dentro de la celda unidad [3].

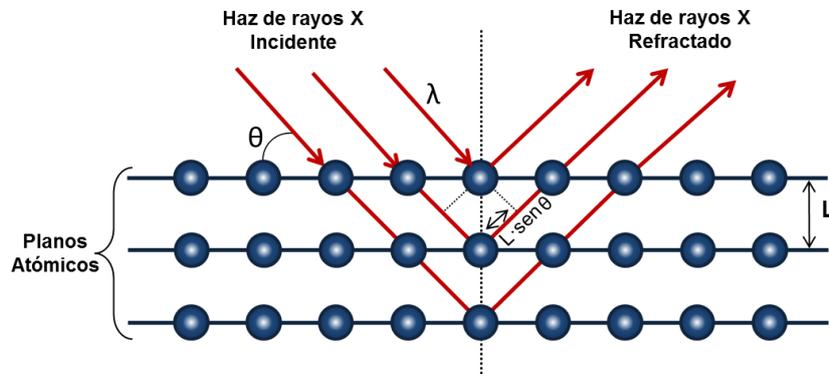


Figura 3.1: Difracción de rayos X producidos por los diferentes planos de un cristal.

El tamaño promedio de partícula de las fases cristalinas presentes en los catalizadores se puede calcular mediante la ecuación de Scherrer [4]. Esta ecuación muestra que la anchura a mitad de altura de una línea de difracción, se relaciona con el tamaño efectivo del cristal por la relación:

$$\tau = \frac{K \cdot \lambda}{B \cdot \cos \theta}$$

donde K es una constante que depende de la forma de la partícula; λ , es la longitud de onda de la radiación empleada; B, es la anchura de pico a la mitad de la altura; θ , es la posición angular del máximos de la línea de difracción y τ , es el tamaño promedio del cristal.

La interpretación de la ecuación de Scherrer establece que los picos de difracción muy estrechos se corresponden a partículas grandes y cristalinas, mientras que los picos ensanchados se corresponden a partículas pequeños o poco cristalinas. La información obtenida a partir de la difracción de rayos X se refiere a un tamaño promedio de los cristales en el sólido.

Existen unos límites experimentales a partir de los cuales la medida del tamaño de la partícula ya no es precisa. El límite superior es de aproximadamente 500 nm. En partículas de muy pequeño tamaño, los picos

se deforman sustancialmente, por lo que la relación señal-ruido es la que determina el límite de detección inferior (normalmente en torno a 7 nm).

El difractor consiste en un tubo de rayos X, un portamuestras plano con la muestra en polvo centrada en el centro óptico de un goniómetro y un detector ubicado sobre el borde del sistema angular. El número de cuentas obtenidas por unidad de tiempo es proporcional a la intensidad de radiación (I) incidente sobre el detector. La intensidad I en función del ángulo 2θ , se representa gráficamente, lo que se denomina difractograma de rayos X.

Para la obtención de los difractogramas de rayos X recogidos en el presente trabajo tanto para las muestras de celulosa y como de biomasa lignocelulósica, es un difractor PANalytical X'Pert Pro equipado con una fuente de radiación de $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 0,15418$ nm) y Detector X'Celerator basado en Real Time Multiple Strip (RTMS). Las muestras se colocaron en una placa de acero inoxidable para su análisis. El registro de difracción de las muestras se obtuvo en el rango del ángulo de Bragg (2θ) entre 4° y 90° a una velocidad de barrido de $0,02^\circ$ por paso y un tiempo de acumulación de 50s. Los difractogramas fueron analizados con el software X'Pert HighScore Plus.

3.2.2. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM, Scanning Electron Microscope)

Las técnicas de microscopía electrónica se basan en la información contenida en los electrones que atraviesan, microscopía electrónica de transmisión, (TEM, transmission electron microscope) o rebotan, microscopía electrónica de barrido, SEM sobre la superficie de un material al hacer incidir un haz electrónico coherente y a gran velocidad.

En lo referente a la microscopía electrónica de barrido (SEM), es importante destacar que su gran profundidad de campo la convierte en una

técnica especialmente adecuada para la observación de muestras con una topografía de superficie bastante variada. Es una de las técnicas más versátiles para la visualización y el análisis de las características microestructurales de muestras sólidas, debido principalmente, a su elevado poder de resolución (alrededor de 3 nm) y a su gran profundidad de campo, lo que permite una visualización tridimensional. Las características más importantes de SEM son: poder de resolución (entre 5 y 2 nm), profundidad del campo y contraste.

El sistema de formación de una imagen en SEM, está basado en el sistema óptico de reflexión (Figura 3.2). El objeto se ilumina frontalmente, siendo los haces reflejados los responsables de la información final.

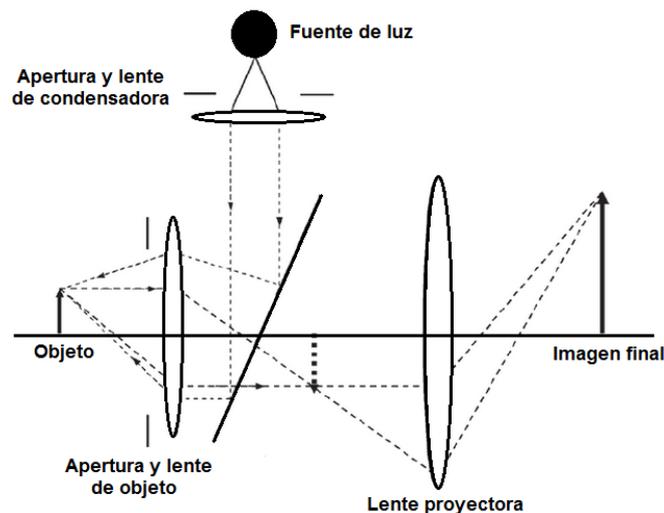


Figura 3.2: Componentes de un sistema óptico de reflexión [4].

En un microscopio electrónico de barrido, el haz pasa a través de las lentes condensadoras y de objetivo, y es barrido a lo largo de la muestra por las bobinas de energía emitidos por cada punto de la superficie. En la Figura 3.3, se muestran los principales componentes de un microscopio electrónico

de barrido, que básicamente consiste en un haz fino de electrones con energía de hasta 40 kV que es enfocado y barrido sobre la superficie de una muestra. Las lentes en SEM no son parte del sistema de la imagen, sino que se usan para ampliar y enfocar el haz de electrones sobre la superficie de la muestra.

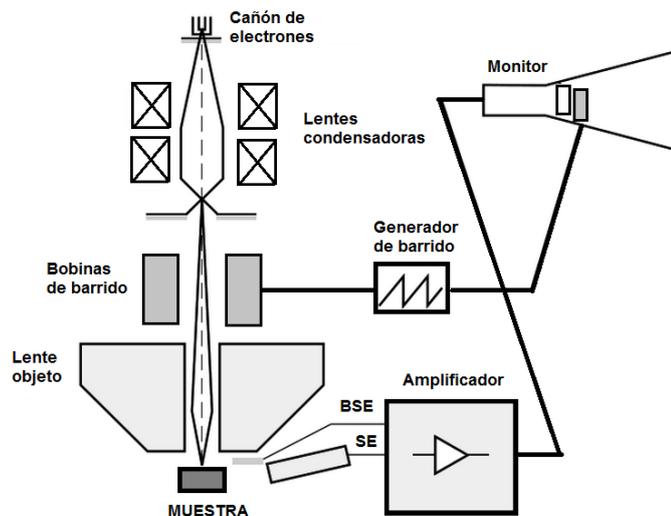


Figura 3.3: Representación esquemática de un microscopio electrónico de barrido [4].

De cualquier forma, debido a los procesos asociados a la preparación de la muestra, esta técnica presenta limitaciones en cuanto a análisis cuantitativo pero desde el punto de vista cualitativo se puede extraer mucha información que debe ser contrastada con otras técnicas.

Las muestras analizadas en SEM deben de estar completamente secas, por lo que existen diferentes equipos en el mercado que permiten el secado de las muestras. Además, en el caso de análisis de muestras de celulosa y biomasa, como son las de la presente tesis, no tienen capacidad

de reflejar electrones, por lo que tienen que ser recubiertas por un metal (oro o plata) antes de ser analizadas.

Las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido (SEM) de las muestras de celulosa y biomasa tanto tratadas como sin tratar con líquidos iónicos se tomaron con un equipo Hitachi S-3000 N.

Anteriormente al análisis se realizó una preparación de las muestras, de tal manera que, inicialmente las muestras fueron tratadas con concentraciones crecientes de etanol/agua (50%, 70%, 80%, 90% y finalmente 100% en etanol) para fijar su estructura y deshidratar las muestras. Seguidamente, las muestras se secaron mediante un secador de punto crítico Polaron CPD7501. Finalmente, las muestras se metalizaron en un Balzers SCD 004, utilizando una pulverización catódica de una capa de oro delgada para que tuvieran capacidad de reflejar los electrones.

3.2.3. Espectroscopia Ultravioleta Visible (UV-VIS)

La espectroscopia UV-Vis se basa en la absorción de fotones con una longitud de onda entre 100 y 1100 nm. La energía de estos fotones es capaz de producir transiciones entre niveles electrónicos de los orbitales moleculares o atómicos. El espectro de absorción UV-VIS de un compuesto se debe por lo general a tres tipos de transiciones: Transiciones producidas por electrones π , σ y n ; transiciones producidas por electrones d y f y las producidas por transferencia de carga. Y se puede decir que el espectro UV-VIS de las moléculas está asociado a transiciones electrónicas entre los diferentes niveles energéticos en ciertos grupos o átomos de la molécula y no caracterizan a la molécula como entidad.

La zona del espectro electromagnético UV-VIS, se divide a su vez en: La región del VIS que comprende un rango de longitudes de onda de 400 a

900 nm, la región del UV cercano que comprende el rango de 190 a 400 nm y finalmente la región del UV de vacío, que comprende de 100 a 190 nm.

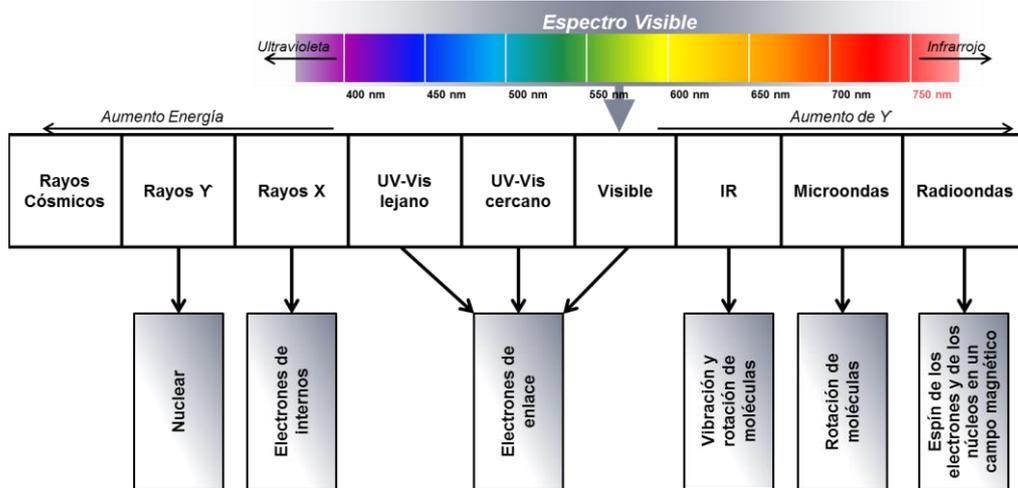


Figura 3.4: Regiones del espectro electromagnético y tipos de transiciones asociadas (adaptación del esquema en [4]).

Las medidas cuantitativas de la espectroscopia UV-VIS consiste en medir la radiación absorbida a una longitud de onda específica dentro del rango del espectro UV-VIS (Figura 3.4) y compararla con otras disoluciones de concentración conocida (disoluciones estándar) que contengan la misma especie absorbente. Para tener esta relación se emplea la Ley de Lambert-Beer, que establece que para una misma especie absorbente en una celda de espesor constante, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración. La relación que existe entre la concentración y la absorbancia se describe;

$$A = c \cdot l \cdot \epsilon$$

La absorción de la radiación por parte de la muestra es proporcional a la longitud del camino óptico (l), a la concentración de la disolución (c) y a una constante (ϵ), denominada absortividad molar. Esta ley lineal se cumple únicamente para disoluciones diluidas ($c \leq 0,1 \text{ M}$), pudiéndose producir desviaciones de la linealidad a concentraciones más elevadas al variar ϵ como consecuencia de cambios en el índice de refracción de la disolución. Otras desviaciones de la linealidad tienen su origen en la propia instrumentación.

En este trabajo, se ha utilizado un espectrómetro UV-VIS, modelo Cary 60 de Agilent (Figura 3.5), para la medición de los azúcares reductores totales [5] de nuestras muestras a una longitud de onda de 550 nm. Para ello, inicialmente se prepararon patrones de concentración conocida.

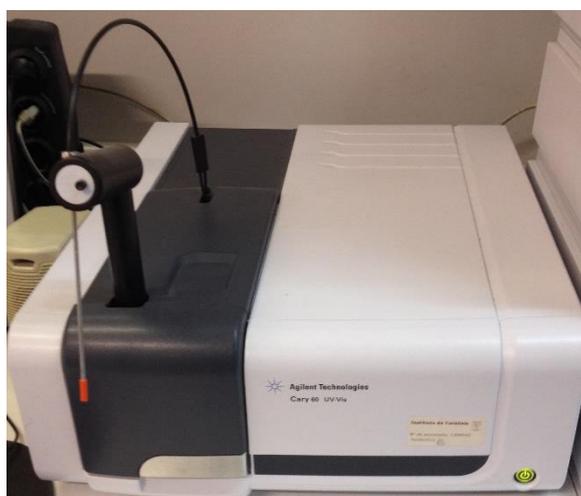


Figura 3.5: Equipo de espectroscopia UV-VIS utilizado para las medidas de azúcares reductores totales (Cary 60 de Agilent).

3.3. Medidas de Actividad

3.3.1. Hidrólisis ácida de celulosa y biomasa lignocelulósica en líquidos iónicos “in situ”

La hidrólisis ácida “in situ” con líquidos iónicos se llevó a cabo disolviendo la muestra (celulosa o biomasa) (0,5 g) en 9,50 g de líquido iónico caliente, en un rango de temperatura entre 100 y 140°C, en el reactor Mettler-Toledo Easy Max® del tipo tanque agitado discontinuo (ver Figura 3.6), equipado con agitación mecánica mediante una hélice. Después de la disolución completa del sólido, la temperatura se llevó a la seleccionada para la hidrólisis, y se adicionó el catalizador ácido a la mezcla usando una disolución acuosa de ácido (1,66 M). Esta mezcla se mantuvo en agitación durante 180 min. Se adicionaron alícuotas de agua desionizada durante la hidrólisis en los siguientes tiempos de reacción: 10 min, 2000 µL; 20 min, 1000 µL; 30 min, 1500 µL; y 60 min, 2500 µL. Finalmente, la reacción se detuvo por adición de 17,52 ml de agua.

La adición de agua al final de la reacción provoca la precipitación de celulosa o la biomasa lignocelulósica sin reaccionar. El sólido obtenido se lavó con agua y luego se recuperó por filtración con filtros de Nylon (0,1 µm). Las muestras sólidas recuperadas se secaron a 90 °C durante 12 h en una estufa a vacío. La cantidad de muestra recuperada sirvió para determinar la cantidad de muestra hidrolizada.



Figura 3.6: Reactor Mettler-Toledo Easy Max® discontinuo a presión atmosférica.

En este mismo reactor (Figura 3.6), se realizaron también todos los tratamientos de la celulosa y biomasa con los diferentes líquidos iónicos utilizados y posterior precipitación para llevar seguidamente las muestras a hidrólisis en el reactor a presión que se explican seguidamente en los siguientes apartados.

3.3.2. Procesos de hidrólisis ácida homogénea de la celulosa y biomasa lignocelulósica sin tratar y tratada con LIs

Las reacciones de hidrólisis ácida se llevaron a cabo en un reactor agitado de acero, revestido de teflón de la marca Berghof y equipado con un embudo de adición de presión de 100 mL (Figura 3.7). En este reactor se adicionaron 0,5 g de muestra de celulosa o biomasa y 40 mL de agua y se mezclaron por agitación magnética. La suspensión se calentó utilizando diferentes temperaturas, en un rango desde 120 °C hasta los 160 °C (140 °C en el caso de muestras de biomasa), una vez alcanzada la temperatura de reacción se añadieron 10 mL de una disolución que contiene el catalizador ácido. El tiempo de reacción se mide desde el momento en el que se adiciona el catalizador ácido a la reacción. El volumen total del líquido en el reactor fue de 50 mL. La concentración del catalizador ácido se varió en un rango de 0,2 a 2,5 mol/L. Se tomaron alícuotas de forma periódica para determinar el grado de avance de la reacción. El tiempo de reacción osciló entre 2 y 5 horas. Tras finalizar la reacción, el reactor se enfrió rápidamente sumergiéndolo en una mezcla de agua y hielo para detener la reacción.



Figura 3.7 Reactor Berghof discontinuo a presión.

Al final de la reacción, el sólido sin reaccionar se recuperó por centrifugación y se lavó con agua destilada. Las muestras recuperadas se secaron a 90 °C durante la noche en una estufa a vacío. La cantidad de muestra recuperada sirvió para determinar la cantidad de muestra hidrolizada.

El tratamiento de la celulosa y biomasa antes de llevar a reacción consistió en la disolución completa de la celulosa (0,5 g) en un líquido iónico (9,5 g) a 135 °C, usando un reactor de tanque agitado (Mettler Toledo Easy Max®, Figura 3.6). El tiempo y temperatura de disolución depende del tipo de muestra, porque cada tipo de muestra se disolvió a diferentes tiempos. Una vez disuelta la muestra se produjo la precipitación por la adición de 50 ml de agua. El sólido obtenido se lavó varias veces con agua (cuatro veces con 25

mL) para eliminar todo resto de la IL y se pesó. Se tomaron alícuotas de esta muestra sólida y se secaron en la estufa a 90 °C durante toda la noche, determinando así por diferencia de pesada, la cantidad de agua en las muestras tratadas. Se tomaron muestras líquidas procedentes del IL/agua del primer filtrado y de los sucesivos lavados para su posterior análisis.

3.3.3. Procesos de hidrólisis ácida heterogénea de la celulosa sin tratar y tratada con LIs

En este caso el procedimiento llevado a cabo fue el mismo que en el anterior apartado (3.3.2) ya que se utilizaron los mismos reactores (Figura 3.6 y 3.7) para los diferentes pasos. Para llevar a cabo la reacción se añadió conjuntamente la muestra, el agua y el catalizador y se calienta la muestra sin agitación para minimizar la reacción, una vez llegada a la temperatura de reacción, se comenzó la agitación de la reacción a 1000 rpm. En ese preciso instante, se comenzó a contabilizar el tiempo de reacción.

Al final de la reacción, la celulosa sin reaccionar se lavó con agua y se filtró con filtros de Nylon (0,1 µm). Finalmente la conversión se determinó por diferencia de pesada.

3.3.4. Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC, high performance liquid chromatography)

La cromatografía líquida de alta resolución es una técnica de separación y cuantificación muy utilizada hoy en día, debido principalmente a su versatilidad, alta sensibilidad, fácil adaptabilidad, precisión, por la posibilidad de utilizar especies no volátiles o inestables térmicamente y su gran aplicabilidad a sustancias de interés tanto para la industria como para la investigación.

Esta técnica analítica es primordial a la hora de analizar los hidratos de carbono y sus productos derivados de las reacciones de hidrólisis en los materiales lignocelulósicos que se han estudiado en este trabajo.

Básicamente un equipo de HPLC dispone de los componentes que se muestran en la Figura 3.8. Existen otros módulos complementarios que a veces son necesarios para las diferentes aplicaciones. Como puede ser en nuestro estudio, del acople en serie de diferentes detectores y precolumnas.

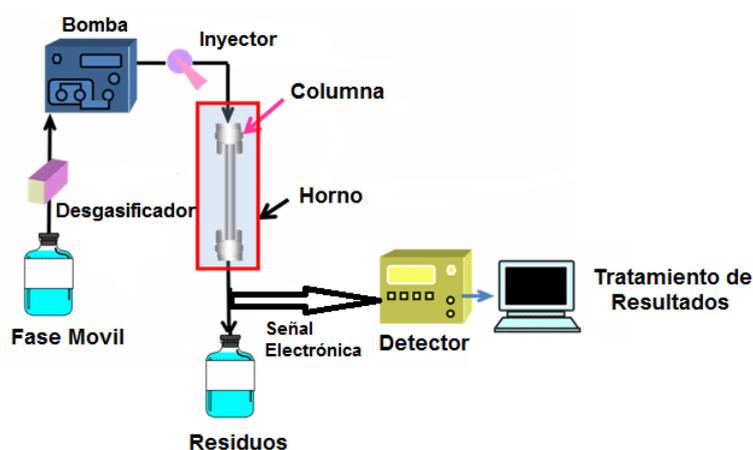


Figura 3.8: Componentes principales de un equipo HPLC.

Es una técnica rápida, se basa en las diferencias de absorción de los analitos que están disueltos en la fase móvil con la fase estacionaria presente en la columna. Estas diferencias producen una migración diferencial de los compuestos en la columna, por lo que unos compuestos eluyen antes que otros de la columna dando lugar a la separación cromatográfica. Si se instala un detector al final de la columna se puede detectar y cuantificar cuando eluyen los componentes de la mezcla a analizar.

Existen múltiples tipos de detectores que se pueden acoplar a esta técnica dependiendo de la aplicación de análisis cromatográfico. Los detectores utilizados en este trabajo fueron, un detector de absorbancia o fotométricos (UV-Vis) y un detector de índice de refracción (RID) acoplados en serie [4, 6].

Detector de índice de refracción (RID, refractive index detector)

Los detectores de índice de refracción son detectores universales, es decir, responden a la presencia de prácticamente cualquier tipo de soluto.

En la celda de detección se mide la variación de la refracción de un haz de luz cuando la fase móvil lleva un compuesto disueltos respecto a la fase móvil pura (celda de referencia). Su sensibilidad es limitada con respecto a otros detectores.

En este trabajo se ha utilizado este detector para la medición de los hidratos de carbono obtenidos a partir de las hidrólisis ácidas. Se han analizado, la glucosa, xilosa, celobiosa, manosa, galactosa,... además del ácido levulínico, 5-HMF y furfural (productos secundarios de la hidrólisis).

Detector de absorbancia o fotométrico (UV-Vis)

Los detectores de absorbancia, están basados en la absorción de la luz UV-Vis definida por la ley de Lambert-Beer. La linealidad de esta ley es la propiedad más importante. Son detectores muy versátiles, ya que la mayoría de los compuestos orgánicos absorben en alguna zona del espectro. En general, estos detectores se suelen utilizar para analizar compuestos que posean uno o varios dobles enlaces. Son detectores que presentan una alta sensibilidad y son compatibles con el empleo de gradientes de elución, siempre y cuando los disolventes empleados no absorban radiación en dicha longitud de onda.

Existen dos grandes grupos de detectores UV-Vis: los que utilizan una o varias longitudes de onda discretas, y los que emplean un rango espectral continuo (photodiode-array). En este trabajo se ha utilizado el primer tipo de detector, en el cual se han medido los productos de degradación de los hidratos de carbono: 5-HMF y furfural, ambos con dobles enlaces en su estructura molecular. La longitud de onda a la cual se midieron fue de 285 nm. Además también se midieron con este detector los diferentes LIs recuperados de las disoluciones de biomasa a 240 nm ya que también presentan dobles enlaces en su estructura.

Las muestras líquidas se analizaron por HPLC usando un equipo Agilent Technologies HPLC de la serie 1200 y otro de la serie 1260 (Figura 3.9). Las separaciones cromatográficas se llevaron a cabo usando dos tipos de columnas para analizar los diferentes compuestos: Una columna HPX-87H Aminex de Biorad a 65 °C, utilizando 0,6 ml·min⁻¹ de solución acuosa de ácido sulfúrico (0,01 mmol·L⁻¹) como la fase móvil para el análisis de glucosa, celobiosa, ácido levulínico, 5-HMF y furfural y otra columna Coregel 87P de Transgenomics a 80 °C, utilizando 0,6 ml·min⁻¹ de agua calidad HPLC como fase móvil para el análisis del resto de los compuestos. Los azúcares (glucosa, celobiosa, xilosa,...) y la deshidratación de los productos (5-hidroximetilfurfural y furfural) se identificaron por comparación de los tiempos de retención con patrones comerciales.

En el análisis de los LIs la columna utilizada fue una Zorbax Eclipse XDB-C18 a 20°C, con una fase móvil de acetato amónico 20 mM y un 1% de ácido acético a 1 mL·min⁻¹.



Figura 3.9: Equipos HPLC utilizados para las medidas de los diferentes azúcares, ácidos y productos secundarios de reacción (Agilent Technologies).

Las cantidades de los productos se cuantificaron utilizando el método del patrón externo. Las curvas de calibración señal/concentración se obtuvieron a partir de disoluciones de los compuestos con concentración conocida obtenida a partir de los compuestos puros.

En este trabajo, no se muestran los resultados obtenidos para el rendimiento de 5-HMF (salvo en algunos casos significativos), en la hidrólisis de la celulosa y biomasa ya que se trabajó en la fase acuosa, donde este compuesto se descompone fácilmente a ácido levulínico y ácido fórmico, dando como resultado cantidades insignificantes de 5-HMF. Por esta razón, sólo se analizaron los resultados relacionados con la glucosa y el ácido

levulínico en estos casos. La glucosa y los rendimientos de ácido levulínico se calcularon utilizando las siguientes ecuaciones:

Los rendimientos a glucosa y ácido levulínico se calcularon a partir de las siguientes ecuaciones:

$$\% \text{ Rendimiento a Glucosa} = G_{\text{CON}} \cdot 100 / G_{\text{MX}}$$

$$\% \text{ Rendimiento a Ácido Levulínico} = L_{\text{CON}} \cdot 100 / L_{\text{MX}}$$

$$G_{\text{MX}} = \text{Masa Celulosa} \cdot \text{factor} \cdot 1000 / \text{Volumen disolución}$$

$$L_{\text{MX}} = \text{Masa Celulosa} \cdot \text{factor} \cdot 1000 / \text{Volumen disolución}$$

donde, G_{CON} , es la concentración de glucosa medida por cromatografía (g/L), G_{MX} , es la concentración máxima de glucosa (g/L) que se puede obtener en base a la cantidad de celulosa que se añade al reactor, L_{CON} , es la concentración de ácido levulínico medida por cromatografía (g/L) y L_{MX} , es la concentración máxima de ácido levulínico (g/L) que se puede formar a partir de la celulosa añadida al reactor. En el caso de análisis de muestras de biomasa lignocelulósica, se tendrá en cuenta en el valor de la L_{MX} el % de hexosas que hay en la hemicelulosa de la muestra. El valor del *factor* en el caso del cálculo de rendimientos a glucosa y todos los azúcares monoméricos que sean hexosas es; 1,1 y para el cálculo del rendimiento a ácido levulínico es; 0,709. En el caso del 5-HMF su valor es; 0,77.

De igual manera, se obtuvieron los resultados de los rendimientos de xilosa y furfural para la hidrólisis de biomasa lignocelulósica:

$$\% \text{ Rendimiento a Xilosa} = X_{\text{CON}} \cdot 100 / X_{\text{MX}}$$

$$\% \text{ Rendimiento a Furfural} = F_{\text{CON}} \cdot 100 / F_{\text{MX}}$$

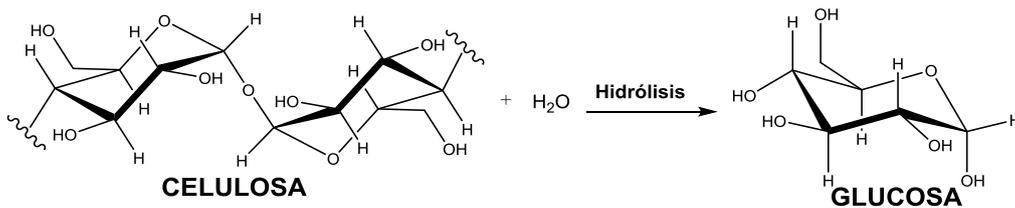
$$X_{\text{MX}} = \text{Masa Biomasa} \cdot \text{factor} \cdot \% \text{Xilano (biomasa)} \cdot 10 / \text{Vol. Disol.}$$

$$F_{\text{MX}} = \text{Masa Biomasa} \cdot \text{factor} \cdot \% (\text{Xilano} + \text{Arabano}) \cdot 10 / \text{Vol. Disol.}$$

Métodos Experimentales

donde, X_{CON} , es la concentración de xilosa medida por cromatografía (g/L), X_{MX} , es la concentración máxima de xilosa (g/L) que se puede obtener en base a la cantidad de biomasa que se añade al reactor, F_{CON} , es la concentración de furfural medida por cromatografía (g/L) y F_{MX} , es la concentración máxima de furfural (g/L) que se puede formar a partir de la biomasa añadida al reactor. El valor del *factor* en el caso del cálculo de rendimientos a xilosa y todas las pentosas es; 1,13 y para el cálculo del rendimiento a furfural es; 0,723.

Ejemplos para el cálculo de factores en los rendimientos a los diferentes compuestos que podemos obtener en reacción. En las Figura 3.10 y 3.11 se muestran los valores de los factores para la glucosa y ácido levulínico:



Datos	Reactivos		Productos
	Celulosa	Agua	Glucosa
Peso molecular (g/mol)	-----	18,02	180,16
Masa (g)	1		1,1
mmoles	6,16		6,16

Figura 3.10: Cálculo del factor para obtener la concentración máxima de glucosa (g/L)(G_{MX}).

Métodos Experimentales

concentración de los azúcares reductores totales presentes en la muestra se determinan empleando la Ley de Lambert-Beer. Para relacionar adsorbancia y concentración de azúcares se ha empleado una curva de calibrado realizada con disoluciones patrón de azúcar (en este caso el estándar utilizado es la glucosa).



Figura 3.12: Preparación de las muestras para el análisis de los TRS por el método de Miller [5].

Para llevar a cabo este procedimiento de análisis de los TRS, inicialmente se prepara el reactivo DNS según bibliografía [5]. Una vez mezclada la muestra con el reactivo DNS, se colocaron durante 5 min en un baño maría a ebullición. Seguidamente se enfrían las muestras y se dejan reposar durante 15 min (Figura 3.12). Junto con las muestras se realiza un blanco con agua destilada. Finalmente, se mide la absorbancia con el espectrómetro UV-VIS a 550 nm. Para cada muestra se realizan cinco réplicas de absorbancia y se promedia para obtener el valor final. Las desviaciones estándar fueron menores del 0,04%.

3.4. Bibliografía

[1] N.R.E.L. (NREL), National Renewable Energy Laboratory, in, Web, Colorado, EE UU.

[2] R. Jenkins, R.L. Snyder, "Introduction to X-ray powder diffractometry", John Wiley & Sons, Inc., New York, 1996.

[3] C. Suryanarayana, M.G. Norton, "X-ray diffraction: a practical approach", Plenum Press, New York, 1998.

[4] Técnicas de análisis y caracterización de materiales (2a. ed.), Editorial CSIC Consejo Superior de Investigaciones Científicas, España, 2011.

[5] G.L. Miller, Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars, Anal. Chem., 31 (1959) 426-428.

[6] L.R. Snyder, J.J. Kirkland, J.W. Dolan, Introduction to modern liquid chromatography, John Wiley & Sons, Inc., 2009.

4. HIDRÓLISIS ÁCIDA DE CELULOSA Y BIOMASA LIGNOCELULÓSICA EN LÍQUIDOS IÓNICOS

4.1.	<i>Introducción</i>	1
4.2.	<i>Hidrólisis ácida homogénea de celulosa en líquidos iónicos (LIs)</i>	3
4.2.1.	<i>Estudios previos</i>	3
4.2.2.	<i>Hidrólisis ácida de celulosa en LIs</i>	6
4.2.2.1.	Efecto de la fuerza ácida del catalizador	7
4.2.2.2.	Efecto de la temperatura de disolución de la celulosa	11
4.2.2.3.	Efecto del tipo de celulosa utilizado	13
4.2.2.4.	Efecto del tipo de líquido iónico utilizado en disolución	15
4.2.2.5.	Estudio con diferentes cantidades de celulosa	17
4.2.3.	<i>Hidrólisis ácida de biomasa lignocelulósica en líquidos iónicos</i>	22
4.3.	<i>Bibliografía</i>	30

4.1. Introducción

A lo largo de este capítulo se desarrollará el estudio de la hidrólisis ácida de la celulosa y biomasa lignocelulósica “in situ” disuelta en diferentes líquidos iónicos. Se ha optado por una aproximación alternativa mediante el uso de diferentes líquidos iónicos (LIs) ya que como se ha explicado en el capítulo 1 de esta memoria, son capaces de disolver la celulosa y la biomasa lignocelulósica mejorando la producción de azúcares fermentables aptos para la utilización en posteriores etapas de fermentación.

Los líquidos iónicos razón aumentan la accesibilidad de los protones a los enlaces β -(1-4) D-glicosídicos que catalizan la hidrólisis [1-4]. Esta eliminación de la “barrera física” permite realizar la reacción de hidrólisis catalizada por ácido en unas condiciones suaves de reacción y una carga de catalizador inferior.

Existen diferentes estudios que utilizan la hidrólisis química de la celulosa en líquidos iónicos para producir glucosa, obteniendo rendimientos a glucosa moderados [5-7], y que se contrastan con los rendimientos más altos obtenidos a partir de celulosa utilizando ácidos concentrados y otros disolventes de celulosa [8]. El que se obtenga un rendimiento bajo o más alto a glucosa depende del agua presente o añadida en reacción en presencia de un LI, de tal manera que una gran cantidad de agua conduce a la precipitación de la celulosa sin reaccionar. Sin embargo, es esencial un exceso de agua en estos procesos si se quiere llegar a obtener rendimientos más altos de azúcares disueltos en líquidos iónicos, ya que favorece la hidrólisis de celulosa y retarda la deshidratación de la glucosa. Este efecto, es descrito por el "Principio de Le Chatelier" (ver Figura 4.1) Mediante la adición sucesiva de agua durante la reacción, se puede aumentar el rendimiento a azucares [9].

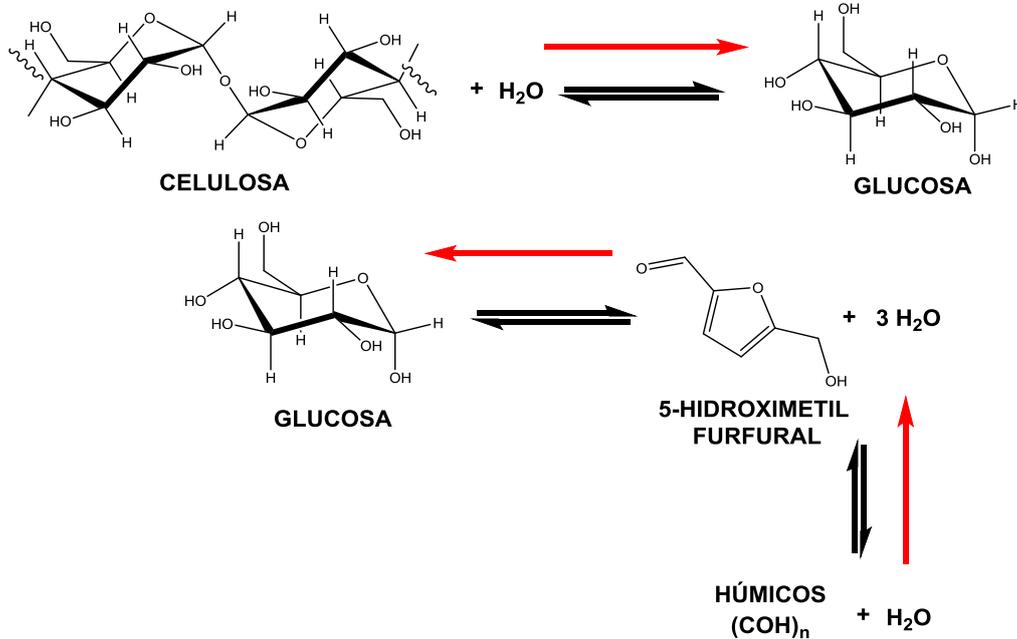


Figura 4.1: Principio de Le Chatelier, aplicado a la hidrólisis de celulosa disuelta en líquidos iónicos.

En este capítulo 4 de la tesis, se presenta un método simple para hidrolizar selectivamente la celulosa a glucosa y celobiosa, en el cual se llegan a obtener los rendimientos más altos de glucosa y celobiosa que se han descrito en bibliografía, cuando se seleccionan unas condiciones óptimas de disolución y de hidrólisis de la celulosa en líquidos iónicos.

4.2. Hidrólisis ácida homogénea de celulosa en líquidos iónicos (LIs)

4.2.1. Estudios previos

Inicialmente, se hizo un estudio previo de hidrólisis de celulosa. Para ello se utilizó un reactor discontinuo de tanque agitado Mettler-Toledo Easy Max. En el cual se disolvió 1,0 g de celulosa en 20,0 g de LI ([BMIM]Cl), en un rango de temperaturas de disolución y reacción de 100 °C a 140 °C, a diferentes tiempos (máximo 24 horas). La hidrólisis se llevó a cabo en presencia de catalizadores ácidos homogéneos (0,46 mmoles). Los ácidos se adicionaron empleando disoluciones al 20 % en peso, y 450 µL de agua. El tiempo de la reacción fue de 5 horas [6].

También se realizaron reacciones blanco sin adicionar ningún catalizador ácido, simplemente se disolvió la celulosa en el líquido iónico, cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio ([BMIM]Cl), se añadió 450 µL de agua y se tomaron las muestras después de 60 min de reacción. El objetivo de realizar estas reacciones era comprobar si el [BMIM]Cl, era capaz de hidrolizar la celulosa en azúcares por sí solo en presencia solamente de agua.

En la Tabla 4.1, se muestran los resultados obtenidos de la reacción de hidrólisis. Se puede comprobar que el [BMIM]Cl por si solo es suficientemente ácido como para hidrolizar la celulosa a tiempos largos de reacción (24 h), obteniendo conversiones a celulosa del 84%. En este caso, la mayor parte de los azúcares obtenidos nos hace pensar que son diferentes oligómeros solubles de glucosa (68%) que no habían acabado de hidrolizar a monómero de glucosa, ya que la selectividad a celobiosa+glucosa (C+G) es algo mayor del 30%. Sin embargo, a tiempos de 6 h de reacción, la conversión a celulosa es solamente del 5%.

Tabla 4.1: Hidrólisis de la celulosa disuelta en [BMIM]Cl y sin catalizador a 100 °C. El tiempo de disolución fue de 6 y 24 h. y el tiempo de reacción fue de 60 min.

Catalizador Ácido	% Conv. Celulosa	% Select. Celobiosa	% Select. Glucosa	% Select. HMF	% Select. Otros	Tiempo disolución	Tª Disol. y Reacc. (°C)
H₂O	5,0	7,1	8,3	0,0	84,6	6 horas	100
	84,0	11,1	20,7	0,1	68,1	24 horas	100

Estos datos, nos indican que es de gran importancia, el líquido iónico que se elija en la reacción de hidrólisis de celulosa, ya que este puede participar en la reacción. Especialmente aquellos que tengan cierto carácter ácido, como es el caso de los LIs con iones cloruro, bromuro, sulfónicos,...debido a la presencia de impurezas ácidas procedentes de las síntesis del LI.

Siguiendo esta misma pauta de trabajo, se realizaron hidrólisis de celulosa con diferentes catalizadores homogéneos ácidos como el ácido sulfúrico (H₂SO₄), ácido fosfórico (H₃PO₄), y el ácido acético (AA) y se compararon los resultados obtenidos después de 24 h de disolución en el líquido iónico [BMIM]Cl y 60 min de reacción (Tabla 4.2). En todos los casos, la conversión de la celulosa fue prácticamente total, obteniendo selectividades a azúcares comparables en los casos del H₂SO₄ y el H₃PO₄, en torno al 42-46% (C+G), siendo el resto de compuestos obtenidos, los diferentes oligómeros de glucosa solubles en el LI y productos secundarios degradación de la glucosa. Sin embargo, en el caso del AA, aunque su conversión fue total, su selectividad a azúcares fue inferior a los anteriores ácidos (28% C+G). Esto es debido a que el AA es un ácido menos fuerte que el H₂SO₄ y H₃PO₄.

Hidrólisis Ácida de Celulosa y Biomasa Lignocelulósica en Líquidos Iónicos

Tabla 4.2: Hidrólisis de la celulosa disuelta en [BMIM]Cl y catalizada por varios ácidos (20 % en peso) a 100 °C. El tiempo de disolución fue de 24 h. y el tiempo de reacción fue de 60 min.

Catalizador Ácido	pKa	% Conv. Celulosa	% Select. Celobiosa	% Select. Glucosa	% Select. 5-HMF	% Select. Otros	Tª Disol. y Reacc. (°C)
H ₂ SO ₄	-6,6	100,0	11,4	35,7	0,5	52,4	100
H ₃ PO ₄	2,1	97,0	10,4	32,5	0,2	56,9	100
AA ⁽¹⁾	4,75	100,0	2,9	25,7	0,2	71,2	100

⁽¹⁾ Ácido Acético (AA).

Una vez analizados estos datos de reacción, se decidió seleccionar el H₂SO₄ como catalizador ácido para continuar con el estudio de la hidrólisis, ya que había dado resultados ligeramente mejores que el H₃PO₄. Para ello, se realizaron varias reacciones de hidrólisis de celulosa a diferentes temperaturas de reacción 100 °C, 120 °C y 140 °C y se compararon los diferentes resultados (Tabla 4.3).

Tabla 4.3: Hidrólisis de la celulosa disuelta en [BMIM]Cl y catalizada con ácido sulfúrico (20 % en peso) a diferentes temperaturas. El tiempo de disolución fue de 24 h. y el tiempo de reacción fue de 60 min.

Catalizador Ácido	% Conv. Celulosa	% Select. Celobiosa	% Select. Glucosa	% Select. 5-HMF	% Select. Otros	Tª Disol. y Reacc. (°C)
	100,0	11,4	35,7	0,5	52,4	100
H ₂ SO ₄	100,0	0,0	6,0	1,1	92,9	120
	100,0	0,0	3,4	0,7	95,9	140

Las conversiones en todos los casos fueron totales pero sorprendentemente y contrariamente a lo esperado, que el aumento de la temperatura de hidrólisis aumentaría la selectividad a glucosa por la hidrólisis de oligómeros solubles de celulosa, esto no ocurrió. Se produjo un aumento de la selectividad a otros compuestos, probablemente húmicos, llegando a un 96 % de selectividad a productos no deseados trabajando a 140 °C. Este hecho, indicó que cuando se aumenta en estas condiciones de operación la temperatura de reacción con un ácido fuerte, no solo se aumenta la hidrólisis de los oligómeros de celulosa, sino que también se favorecen las reacciones de formación de productos de degradación de la glucosa, lo que impide obtener los azúcares deseados en altas concentraciones.

Por tanto, este método de trabajo no es adecuado para la obtención de glucosa como producto de la hidrólisis de la celulosa y se tiene que aplicar otro método para la obtención de los azúcares de interés en elevada selectividad.

4.2.2. Hidrólisis ácida de celulosa en LIs

La baja selectividad a glucosa obtenida con el procedimiento descrito en el apartado anterior (4.2.1) se puede deber a que el agua presente en el medio de reacción es bajo para favorecer la hidrólisis de los enlaces β -(1-4) D-glicosídicos, y reducir las reacciones secundarias que consumen la glucosa formada. Puesto que si hay poco agua en el medio de reacción, la glucosa obtenida, rápidamente sufrirá un proceso de descomposición a compuestos húmicos (Figura 4.1) [9]. Así que se cambió la metodología de trabajo, en la cual ahora se añadiría agua al medio de reacción para que las reacciones se desplacen hacia la formación de la glucosa como producto de reacción y desfavorecer la formación de sus productos de deshidratación siguiendo el

Cap.4-6

Hidrólisis Ácida de Celulosa y Biomasa Lignocelulósica en Líquidos Iónicos

Principio de Le Chatelier [9, 10]. Para ello, es muy importante añadir una cantidad de agua adecuada para que se favorezca la producción del producto de interés, pero no suficientemente grande para que la celulosa no precipite sin reaccionar puesto que el agua es un antisolvente de la celulosa en el IL, y si la celulosa precipita no se obtendría tampoco la glucosa deseada.

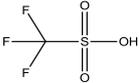
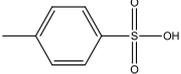
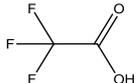
Este método de reacción se aplicó primeramente a las muestras de celulosa para su optimización y finalmente se compararon los resultados con muestras de biomasa lignocelulósica reales con el método ya optimizado.

El nuevo procedimiento seguido de hidrólisis ácida de celulosa en LI “in situ” está descrito en el capítulo 3 (apartado 3.3.1) de esta memoria.

4.2.2.1. Efecto de la fuerza ácida del catalizador

En primer lugar, se hizo un estudio con diferentes ácidos para comprobar su comportamiento en este método de hidrólisis y el efecto de la fuerza del ácido en la hidrólisis de la celulosa a azúcares. Para ello, se disolvió la celulosa en el líquido iónico 1-butil-3-metilimidazolio ([BMIM]Cl). El pKa de los ácidos ensayados varió desde -14,9 a 4,8 (desde el ácido Trifluorometanosulfónico hasta el ácido acético), ver Tabla 4.4.

Tabla 4.4: Los catalizadores ácidos empleados en la hidrólisis de la celulosa disuelta en líquidos iónicos.

Formula		pK _a
	TFMS	-14.9
HCl	HCl	-8.0
H ₂ SO ₄	H ₂ SO ₄	-6.6
	p-TSA	-2.5
	TFAA	-0.3
H ₃ PO ₄	H ₃ PO ₄	2.1
	AA	4.8

En el estudio de la hidrólisis de estos catalizadores ácidos en reacción, se vio que la fuerza del ácido tenía un marcado efecto en la reactividad del proceso, observando que los ácidos con un pKa negativo produjeron una conversión de la celulosa completa, mientras que los ácidos con que tienen un pKa positivo, tenían un nivel de conversión muy bajo (Tabla 4.5).

Hidrólisis Ácida de Celulosa y Biomasa Lignocelulósica en Líquidos Iónicos

Tabla 4.5: Hidrólisis de la celulosa disuelta en [BMIM]Cl y catalizada por varios ácidos a 105°C. El tiempo de disolución fue 60 min. y el tiempo de reacción fue de 180 min.

Catalizador Ácido	% Conv. Celulosa	% Select. Celobiosa ⁽¹⁾	% Select. Glucosa ⁽¹⁾	% Select. 5-HMF ⁽¹⁾
TFMS	100,0	9,4	84,6	0,5
HCl	100,0	9,6	89,0	0,6
H ₂ SO ₄	100,0	11,2	81,5	0,5
p-TSA	100,0	11,1	82,3	0,5
TFAA	100,0	16,0	71,6	0,3
H ₃ PO ₄	7,6	0,3	15,5	0,0
AA	7,9	0,3	6,0	0,0

⁽¹⁾ Celulosa altamente deshidratada (húmicos) representan los porcentajes restantes de selectividad para los valores de la tabla parcialmente despolimerizada.

El rendimiento a celobiosa y glucosa (C+G) aumenta cuando el pKa disminuye, es decir cuando el ácido es más fuerte. Sin embargo, para valores de pKa menores de -2,5, el rendimiento se mantuvo constante, aproximadamente al 95% (Figura 4.1). Este efecto fue similar al obtenido para el 5-HMF, cuyo rendimiento se mantuvo alrededor del 0,5% en estos casos (Tabla 4.5). El máximo rendimiento a glucosa se obtuvo cuando se usó el HCl como catalizador ácido.

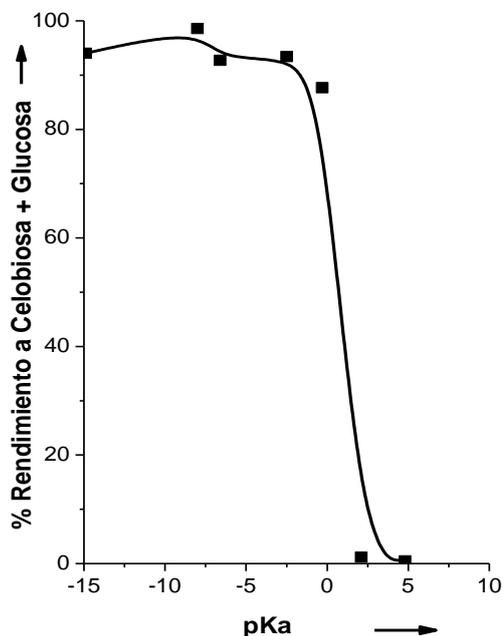


Figura 4.1: Perfil de los rendimientos de los diferentes catalizadores ácidos homogéneos sobre la hidrólisis de la celulosa disuelta en [BMIM]Cl.

Este resultado obtenido fue muy similar a lo observado previamente en la hidrólisis de celobiosa por K. R. Seddon y colaboradores [11] donde demostraron que es necesario utilizar catalizadores con pKa negativo ($pK_a < -2$) para aumentar la conversión de celobiosa a glucosa y que utilizando catalizadores con pKa negativos, la obtención de glucosa era comparable entre ellos. Sin embargo, cuando se utilizan catalizadores con un $pK_a > 1$ el rendimiento a glucosa es bajo.

4.2.2.2. *Efecto de la temperatura de disolución de la celulosa*

Siguiendo nuestro estudio en la obtención de azúcares a partir de la celulosa y sabiendo que la disolución de la celulosa es un factor clave en la obtención de rendimientos altos de glucosa durante la hidrólisis [1, 12, 13]. Se hizo un estudio realizando la disolución de celulosa a diferentes temperaturas mientras se mantiene constante el tiempo de disolución en 60 min. Una vez pasado el tiempo de disolución se redujo la temperatura rápidamente hasta la de reacción (105°C), y se siguió el protocolo de reacción.

En todos los casos, la conversión de celulosa fue prácticamente completa (Tabla 4.6). Sin embargo, se observaron algunas diferencias en la selectividad a C+G. Cuando se aumentó la temperatura de disolución, la selectividad a C+G disminuyó (Tabla 4.6). Estos datos indicaron que un aumento en la temperatura de disolución de 105°C a 125°C aumento significativamente la producción de compuestos de deshidratación no deseados (húmicos).

Tabla 4.6: Los rendimientos de azúcares y productos de deshidratación de celulosa catalizada por HCl (1,66 M; 20% en peso) en [BMIM]Cl a diferentes temperaturas de disolución (105, 115 y 125 °C) durante el mismo tiempo de disolución (1 h). La reacción de hidrólisis se llevó a cabo a 105 °C durante 3 h.

Temp. Disol. (°C)	% Conv. Celulosa	% Select. Celobiosa ⁽¹⁾	% Select. Glucosa ⁽¹⁾	% Select. 5-HMF ⁽¹⁾
105	100,0	9,6	89,0	0,6
115	99,8	4,2	79,1	1,1
125	99,9	3,0	64,1	1,9

(1) Celulosa altamente deshidratada (húmicos) representan los porcentajes restantes de selectividad para los valores de la tabla parcialmente despolimerizada.

Se observó que cuando se disuelve la celulosa en [BMIM]Cl, el tiempo durante el que se observa la presencia de sólidos no disueltos disminuye rápidamente cuando la temperatura aumentaba. Por esta razón, se prosiguió el estudio de la hidrólisis de la celulosa disuelta en [BMIM]Cl a diferentes temperaturas optimizando el tiempo de disolución a la desaparición del sólido no disuelto. Estos tiempos optimizados se recogen en la Tabla 4.7.

Tabla 4.7: Los rendimientos de azúcares y productos de deshidratación de la celulosa catalizada por HCl (1,66 M; 20% en peso) en [BMIM]Cl a diferentes temperaturas de disolución (desde 105 hasta 135°C) en un tiempo de disolución optimizado. Las reacciones se realizaron a 105°C durante 3 h. La conversión de celulosa 100% se alcanzó en todos los casos.

Temp. Disol. (°C)	Tiempo Disol. (min.)	% Select. Celobiosa ⁽¹⁾	% Select. Glucosa ⁽¹⁾	% Select. 5-HMF ⁽¹⁾
105	60	9,6	89,0	0,6
115	35	12,5	82,7	0,4
125	25	8,7	89,8	0,6
135	15	12,6	83,7	0,5

(1) Celulosa altamente deshidratada (húmicos) representan los porcentajes restantes de selectividad para los valores de la tabla parcialmente despolimerizada.

Los resultados de la reacción con tiempos de disolución optimizados mostraron que la selectividad a (C+G) se mantuvo constante e independiente de la temperatura utilizada en la disolución de la celulosa si se optimizaban los tiempos de disolución. En todos los casos, la selectividad a azúcares (C+G) fue muy alta, por encima del 95%.

4.2.2.3. *Efecto del tipo de celulosa utilizado*

Observando que existen muchos factores que pueden influir en el rendimiento a azúcares en la hidrólisis de la celulosa, se pasó a estudiar el efecto del empleo de diferentes tipos de celulosas. Para ello se emplearon dos tipos de celulosa: la celulosa microgranular y la celulosa fibrosa que comercializaban en Sigma-Aldrich (provenientes de fibra de algodón). Se pudo comprobar que la celulosa microgranular requería de tiempos de disolución más largos que la celulosa fibrosa con el líquido iónico [BMIM]Cl. Aun así, estos tiempos de disolución eran muy cortos en comparación con otros trabajos anteriormente publicados [6, 9]. Las conversiones de celulosa para ambos tipos de celulosa fueron completas y la selectividad a azúcares (C+G) fueron muy similares (Tabla 4.8).

Tabla 4.8: Rendimientos a azúcares y productos de deshidratación de la celulosa catalizada por HCl (1,66 M; 20% en peso) en [BMIM]Cl usando dos diferentes celulosas (microfibrosas y microgranulares) a un tiempo de disolución optimizado. Las reacciones se realizaron a 105 °C durante 3 h. La conversión de celulosa fue del 100% para todos los casos.

Celulosa	Tiempo Disol. (min.)	% Select. Celobiosa ⁽¹⁾	% Select. Glucosa ⁽¹⁾	% Select. 5-HMF ⁽¹⁾
Microfibrrosa	15	12,6	83,7	0,5
Microgranular	26	12,5	88,1	0,3

(1) Celulosa altamente deshidratada (húmicos) representan los porcentajes restantes de selectividad para los valores de la tabla parcialmente despolimerizada.

En estos casos la concentración de azúcares obtenido en las hidrólisis fue de 13-14 g/L, siendo concentraciones suficientemente esperanzadoras como para poder pensar en llevar este método de análisis a la producción de etanol por la vía de la fermentación (ver Figura 4.2).

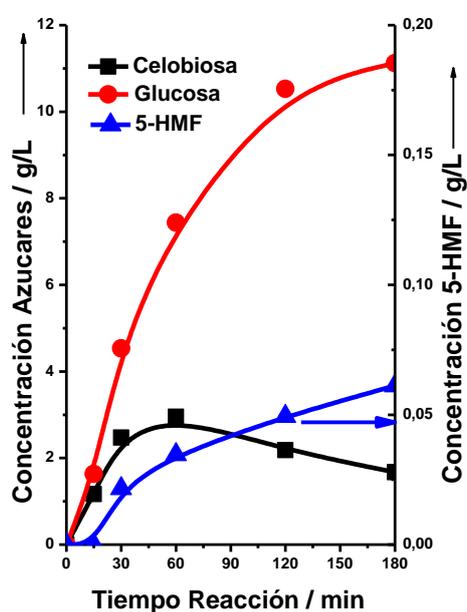


Figura 4.2: Perfil de los productos principales en la hidrólisis de celulosa disuelta en [BMIM]Cl a 135°C durante 15 min. Temperatura de hidrólisis de 105 °C y el catalizador ácido (HCl).

El perfil de concentración de los productos primarios en la hidrólisis de celulosa en líquido iónico [BMIM]Cl (ver Figura 4.2), mostró la concentración de glucosa aumentó con el tiempo pero este aumento se redujo claramente

Hidrólisis Ácida de Celulosa y Biomasa Lignocelulósica en Líquidos Iónicos

después de los 120 min de reacción. La concentración de celobiosa se incrementó durante la reacción a tiempos cortos de reacción, llegando a un máximo en torno a los 60 min y disminuyendo en tiempos largos de reacción. Este comportamiento es típico de los productos intermedios de reacción. En el caso del 5-HMF, prácticamente no se formó a tiempos menores de 30 min que coincide con la baja concentración de glucosa que tenemos. Después de los 30 min. de reacción, la concentración del 5-HMF fue aumentando hasta los 0.06 g/L al final de reacción (180 min).

Estos resultados son de gran relevancia porque una optimización de las variables de disolución de la celulosa (temperatura/tiempo), permite reducir el tiempo total de la operación a unas 3 horas, lo que le hace este método de hidrólisis muy atractivo desde el punto de vista industrial por su corta duración.

4.2.2.4. *Efecto del tipo de líquido iónico utilizado en disolución*

Finalmente, la reacción de hidrólisis ácida de celulosa se probó con diferentes líquidos iónicos que se han descrito en la literatura científica como buenos disolventes de biomasa lignocelulósica [2, 13]. Los líquidos iónicos que se seleccionaron, además del anteriormente utilizado ([BMIM]Cl), fueron: el cloruro de 1-etil-3-metilimidazolio ([EMIM]Cl) y acetato 1-etil-3-metilimidazolio ([EMIM]OAc). Los tres compuestos son capaces de disolver celulosa a 135°C en 15 min. Los resultados de la hidrólisis muestran que la naturaleza del líquido iónico afecta a la reacción (Tabla 4.9).

Tabla 4.9: Los rendimientos de azúcares y productos de deshidratación de la celulosa catalizada por HCl (1,66 M; 20% en peso) usando diferentes disolventes, a una temperatura de disolución de 135°C durante 15 min. La reacción se produjo a 105 °C durante 3 h.

Líquido Iónico	% Conv. Celulosa	% Select. Celobiosa ⁽¹⁾	% Select. Glucosa ⁽¹⁾	% Select. 5-HMF ⁽¹⁾
[BMIM]Cl	99,8	12,6	83,7	0,5
[EMIM]Cl	100,0	12,5	87,1	0,4
[EMIM]OAc	10,1	10,1	0,0	0,0

(1) Celulosa altamente deshidratada (húmicos) representan los porcentajes restantes de selectividad para los valores de la tabla parcialmente despolimerizada.

Cuando se utilizan los líquidos iónicos que tiene como anión el cloruro [BMIM]Cl y [EMIM]Cl se observa un elevado rendimiento a glucosa y una baja formación de subproductos no detectables (oligómeros solubles no completamente despolimerizados o compuestos húmicos). Pero además se apreciaron ligeras diferencias en los resultados de reacción. Cuando se emplean estos dos disolventes se aprecia un ligero aumento de la formación de glucosa cuando se empleó el [EMIM]Cl. Lo que nos indicó, que el cambio del alquilo en el líquido iónico afecta a los resultados de la hidrólisis. Sin embargo, se aprecia un cambio muy notable en los resultados de reacción cuando se utilizó un LI con un anión diferente ([EMIM]OAc), sustituyendo el cloruro por acetato, se observó que la velocidad de hidrólisis se redujo drásticamente, pasando a tener una conversión a celulosa de tan solo el 10%. Este resultado se atribuye al intercambio iónico que se produce entre el LI y el ácido clorhídrico (ver Figura 4.3). Por esta razón, en el medio de reacción no se tiene HCl sino ácido acético, que es un ácido que no tiene

Hidrólisis Ácida de Celulosa y Biomasa Lignocelulósica en Líquidos Iónicos

suficiente acidez para hidrolizar la celulosa, como se describió en el apartado 4.2.2.1.

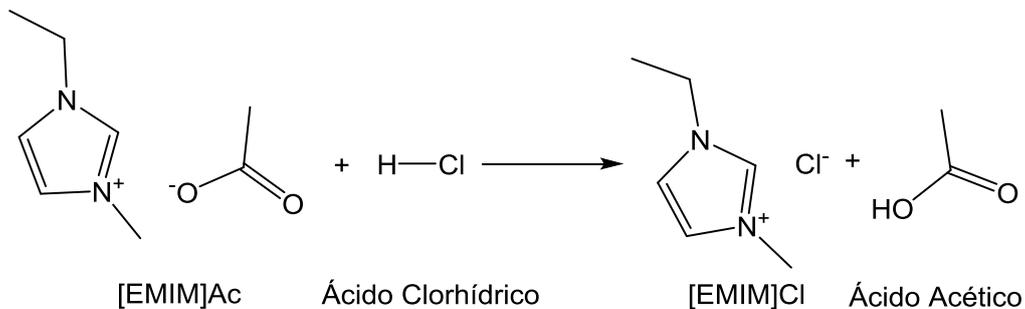


Figura 4.3: Posible reacción de intercambio iónico producida en la reacción de hidrólisis de celulosa con ácido clorhídrico, disuelta en [EMIM]OAc.

4.2.2.5. Estudio con diferentes cantidades de celulosa

Una vez que se optimizó el proceso de hidrólisis de celulosa a glucosa disuelta en líquidos iónicos, reduciendo el tiempo de hidrólisis a 3 horas y obteniendo selectividades muy altas a glucosa+celobiosa (99.6%). El siguiente paso a realizar fue el estudio de la hidrólisis con cantidades mayores de celulosa disueltas en líquido iónico, para ver si el proceso seguía teniendo conversiones y selectividades tan altas. Para ello se aumentó hasta tres veces la cantidad inicial de celulosa disuelta en la misma cantidad de LI. Se utilizaron 465, 930 y 1400 mg de celulosa para la misma cantidad de IL y se compararon los resultados. En la Figura 4.4, se muestran las conversiones de celulosa en reacción para las diferentes cantidades tomadas.

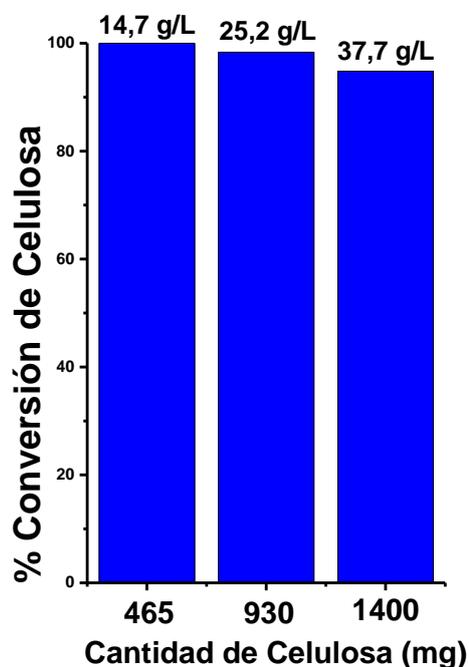


Figura 4.4: Conversión de celulosa y concentración de azúcares fermentables obtenidos en la hidrólisis de diferentes cantidades de celulosa (465, 930 y 1400 mg) disuelta en [BMIM]Cl a 135°C durante 15 min. Temperatura de hidrólisis de 105 °C y el catalizador ácido HCl (1,66M), 3 h reacción.

Las conversiones son muy altas en todos los casos pero se puede ver un leve descenso al aumentar la cantidad de celulosa añadida en la reacción. Para 465 mg de celulosa la conversión es total, para 930 mg es de 98% y para 1400 mg es de 95%. Este hecho puede deberse a dos cosas; por un lado, al aumentar la cantidad de celulosa en disolución con el LI, aumenta la viscosidad dificultando la transferencia de materia y reduciendo la velocidad de reacción y por otro lado al añadir más celulosa al medio de reacción, se requiere más tiempo para realizar la hidrólisis.

Hidrólisis Ácida de Celulosa y Biomasa Lignocelulósica en Líquidos Iónicos

Las concentraciones de azúcares fermentables en estas reacciones aumentan al aumentar la cantidad de celulosa en el medio obteniendo el mayor valor de 37,7 g/L a las 3 horas de hidrólisis con la muestra a la que hemos añadido mayor cantidad de celulosa (13 % en peso de celulosa en disolución). Estas concentraciones son mayores a las publicadas por otros autores en hidrólisis enzimática [14].

Con respecto a la selectividad a productos obtenida con estas mismas cantidades de celulosa (Figura 4.5), vemos que sigue siendo muy alta en todos los casos en torno al 87 y 91 % de glucosa, habiendo un pequeño incremento de menor a mayor cantidad de celulosa en la reacción.

Viendo estos resultados se puede decir que se puede llegar a disolver en líquido iónico desde un 4,5% en peso (465 mg) hasta un 13,5% en peso (1.400 mg) de celulosa, sin que los resultados de hidrólisis se vean seriamente afectados. En todos los casos tanto la conversión como la selectividad a azúcares es muy alta.

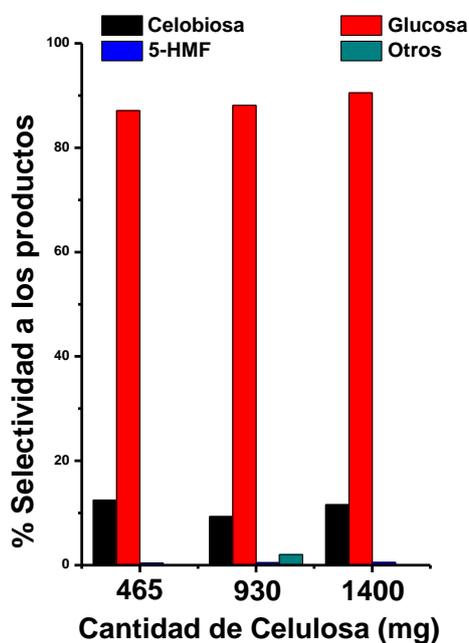


Figura 4.5: Selectividad a productos de hidrólisis de la celulosa en diferentes cantidades disueltas en [BMIM]Cl a 135°C durante 15 min. Temperatura de hidrólisis de 105 °C y el catalizador ácido HCl (1,66 M), 3 h reacción.

También, se estudió el efecto del aumento de la concentración de HCl (Tabla 4.10), se observa que la conversión de celulosa es muy alta para todas las concentraciones de ácido empleada. Sin embargo, se observan cambios importantes en la selectividad a azúcares de interés al modificar la concentración de HCl. Cuando se trabaja con HCl más concentrado, se produce una disminución en la selectividad a glucosa y celobiosa, aumentando la selectividad a otros compuestos. Esto es debido a que al aumentar la concentración de ácido en la hidrólisis se favorece la deshidratación de la glucosa dando lugar a la formación de productos secundarios no deseados, principalmente compuestos húmicos.

Hidrólisis Ácida de Celulosa y Biomasa Lignocelulósica en Líquidos Iónicos

Tabla 4.10: Los rendimientos de azúcares y productos de deshidratación de las diferentes cantidades de celulosa catalizada por HCl en distintas concentraciones (1,66, 3,32 y 4,98 M), a una temperatura de disolución de 135°C durante 15 min. La reacción se produjo a 105 °C durante 3 h.

Conc. HCl (M)	% Conv. Celulosa	% Select. Celobiosa	% Select. Glucosa	% Select. 5-HMF	% Select. Otros	Tiempo Disol. (min.)
1.66	98	9	88	1	2	15
3.32	99	5	74	1	20	15
4.98	100	0	3	0	97	15

A lo largo de esta parte del capítulo de tesis en la se hidroliza celulosa disuelta en [BMIM]Cl “in situ”. Vemos que este líquido iónico es capaz de disolver la celulosa y que esta disolución es más rápida cuando aumentamos la temperatura (Tabla 4.1) hasta optimizar los tiempos para cada temperatura. Una vez se disolvió la muestra, se redujo la temperatura a la de reacción y se comprobó que todas las selectividades a azúcares eran mayores del 95%, siendo este un valor muy superior a lo publicado hasta ese momento (Figura 4.6).

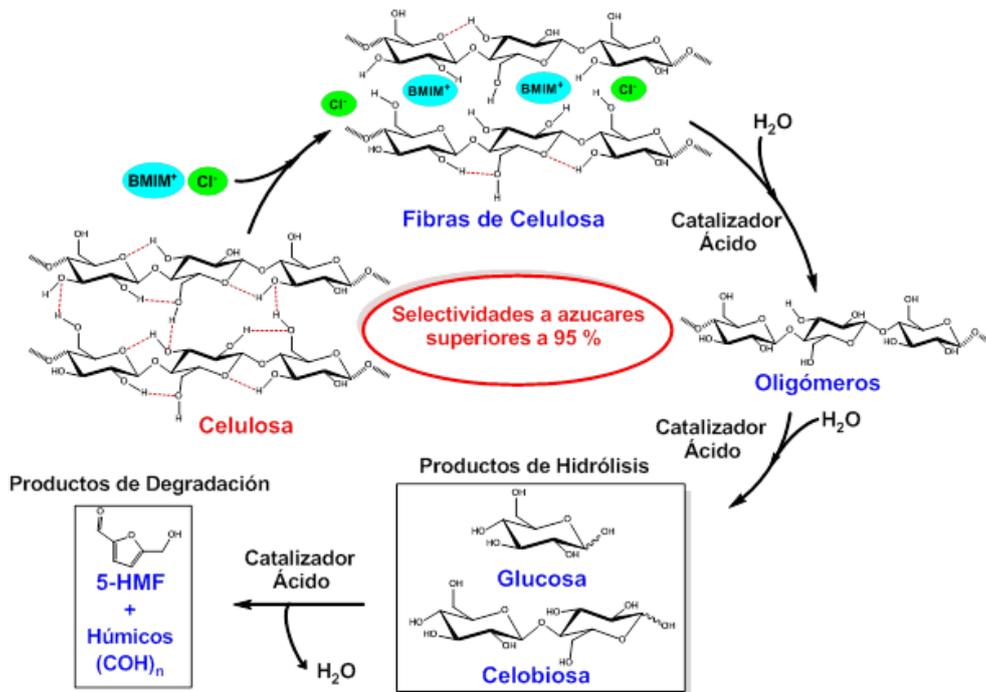


Figura 4.6: Selectividad a azúcares disuelta en [BMIM]Cl a 135°C durante 15 min. Temperatura de hidrólisis de 105 °C y el catalizador ácido HCl (1,66 M), 3 h reacción.

4.2.3. Hidrólisis ácida de biomasa lignocelulósica en líquidos iónicos

Los siguientes estudios de hidrólisis ácida se llevaron a cabo con biomasa lignocelulósica disueltos en LIs.

Las diferentes biomásas se disolvieron en [EMIM]Cl durante 2:30 h a 135 °C (misma temperatura que se utilizó con la celulosa comercial en este trabajo), para llegar a una disolución completa de las muestras siguiendo diversos estudios realizados [15, 16]. Para poder compararlas con las muestras de celulosa anteriormente estudiadas, la reacción de hidrólisis se

Hidrólisis Ácida de Celulosa y Biomasa Lignocelulósica en Líquidos Iónicos

llevó a cabo en HCl en las mismas condiciones de concentración ácida, tiempo y temperatura.

En la Tabla 4.11, se muestran los resultados obtenidos después de reacción. Al igual que en las muestras de celulosa, las conversiones de la biomasa fueron altas en todos los casos, entre el 91-95% en las muestras de paja de trigo y cebada. Sin embargo, en la muestra de ramón de olivo la conversión disminuyó a 86%, lo que se puede deber a que su mayor contenido en lignina podría estar influyendo en los resultados de hidrólisis obtenidos. Aun así, los resultados de conversión obtenidos, son más altos que los obtenidos por hidrólisis enzimática tratada con LIs por otros autores [17, 18].

Las concentraciones de azúcares obtenidas por este método TRS de las biomásas lignocelulósicas que fueron tratadas durante 2:30 h oscilan entre los 8,6 y 4,7 g/L (Tabla 4.11), dependiendo de la muestra. Estas concentraciones son mayores a las obtenidas por cromatografía (HPLC) debido a que en el medio de reacción hay una parte de la biomasa que se encuentra en disolución en forma de oligómeros solubles, y otros compuestos que no se pudieron analizar HPLC en presencia de LIs como la xilosa, manosa, galactosa, arabinosa y celobiosa ya que sus picos en los cromatogramas quedaban solapados por la presencia del LI y el ácido clorhídrico. La mayor concentración obtenida es para el caso de la paja de cebada, seguida de la de la paja de trigo y finalmente el ramón de olivo. Estos resultados concuerdan con los resultados de conversión obtenidos (Tabla 4.11) siendo la paja de cebada la que mayor conversión se obtenía (95 %), seguida muy de cerca por la de la paja de trigo (91 %), y finalmente el ramón de olivo. Sin embargo, hay que tener en cuenta que hay diferencias en la composición de la biomasa de partida, así si todos los polisacáridos se hidrolizasen la concentración máxima de azúcares que se pueden obtener en

la hidrólisis están en torno a los 11,5 g/L para las dos pajas mientras que el caso del ramón de olivo es mejor estando en torno al 7,4 g/L. Esto es debido a que el ramón de olivo tiene un mayor contenido en lignina insoluble de ramón (16,4 %), al igual que el contenido en otros componentes como los extractivos acuosos, extractivos orgánicos y las cenizas que nos indican una estructura del tejido vegetal diferente a las dos muestras de paja de cebada y paja de trigo que tienen una composición química más parecida, pudiendo influir no solo en la hidrólisis sino en la etapa previa de disolución en el líquido iónico. Pero el contenido de lignina no solo afecta a la cantidad de azúcares que se puede tener al final de la reacción, sino que parece afectar a la conversión de los polisacáridos, ya que la lignina tiene una función de protección de los polisacáridos. Así, las muestras que tienen un mayor contenido lignina insoluble son las que tienen una menor conversión de polisacáridos el orden de contenido de lignina es paja de cebada < paja de trigo < ramón de olivo, y el orden de conversión es paja de cebada > paja de trigo > ramón de olivo.

Tabla 4.11: Medidas de TRS y concentraciones totales a azúcares monoméricos (HPLC) en las diferentes biomásas lignocelulósicas catalizadas por HCl (1,66 M; 20% en peso) usando [EMIM]Cl como disolvente, a una temperatura de disolución de 135°C durante 2:30 h. La reacción se produjo a 105 °C durante 3 h.

Muestras	% Conv.	Conc. (g/L) TRS	% Rend. azúcares	% Select. TRS	Conc. total de azúcares monoméricos (g/L) HPLC
Paja de Cebada	95	8,6	74	78	4,5
Paja de Trigo	91	6,9	65	72	4,1
Ramón de Olivo	86	4,7	64	77	1,9

Hidrólisis Ácida de Celulosa y Biomasa Lignocelulósica en Líquidos Iónicos

En todos los casos, el rendimiento y la selectividad a azúcares son muy altos (Tabla 4.11). Siendo la paja de cebada la que tiene mayores valores (74 % y 78% respectivamente). Estos valores son mayores que los publicados por otros autores en hidrólisis enzimática cuando se trata la biomasa en LIs, no superando el 70 % de rendimiento a azúcares después de 3 horas de reacción [17-19]. En la muestra de ramón de olivo se obtienen menores concentraciones de azúcar (por HPLC) debido al mayor contenido en lignina y sus diferencias estructurales con las otras dos muestras pero el rendimiento y la selectividad a azúcares son equivalentes a las otras dos muestras, este hecho también se observa en la hidrólisis enzimática de muestras con gran contenido de lignina y tratados con LIs [20]. Se puede que si bien el contenido de lignina afecta a la conversión de los polisacáridos, no afecta a la selectividad a azúcares reducibles puesto que es muy parecida para las tres muestras estudiadas (Tabla 4.11).

El análisis de la selectividad a glucosa (ver Tabla 4.12), indica que los valores obtenidos son comparables en todas las muestras, donde la paja de cebada y de trigo se obtienen 39 y 38% de selectividad a glucosa respectivamente, mientras que en la muestra de olivo la selectividad a glucosa es un poco menor obteniendo un 27%. En el caso del análisis de los productos de deshidratación de la glucosa (5-HMF y ácido levulínico), no se detectaron cantidades significativas de estos productos en todas las muestras. Sin embargo, la selectividad a furfural (producto principal de deshidratación de azúcares de cinco átomos de carbono como la xilosa) es bastante elevada, especialmente en la muestra de paja de cebada en la que se obtiene una selectividad a furfural del 28%, 21% en la paja de trigo y 19% en el ramón de olivo. Estos datos indican que se ha producido la hidrólisis de la hemicelulosa (fuente de azúcares de cinco átomos de carbono) deshidratando una parte de la xilosa (compuesto mayoritario en la hemicelulosa) a furfural. Este hecho concuerda con lo obtenido en otros

trabajos en los que se puede comprobar que la hemicelulosa es más fácil de hidrolizar [21-24].

La presencia del IL interfiere el análisis de por HPLC con la columna que nos permite analizar la concentración de xilosa y otros azúcares minoritarios (CoregelP) y por lo tanto no se ha podido analizar la selectividad a estos azúcares pormenorizadamente.

Tabla 4.12: Los rendimientos de azúcares y productos de deshidratación de las diferentes biomásas lignocelulósicas catalizadas por HCl (1,66 M; 20% en peso) usando [EMIM]Cl como disolvente, a una temperatura de disolución de 135°C durante 2:30 h. La reacción se produjo a 105 °C durante 3 h.

Muestra	% select. Celobiosa	% select. Glucosa	% select. 5-HMF	% select. Ac. Levulinico	% select. Furfural
Paja de Cebada	3	39	4	0,5	28
Paja de Trigo	5	38	3	0,6	21
Ramón de Olivo	3	33	4	0,8	19

Tras analizar los resultados obtenidos en las muestras de biomasa y ver que no se obtenían selectividades a glucosa grandes y sabiendo que el líquido iónico, [EMIM]Cl tiene cierto poder de hidrólisis debido a su acidez, el proceso de hidrólisis de la biomasa podría comenzar en la fase de disolución. Si esto ocurre, es posible que con tiempos de disolución largos, pueda existir una formación mayor de húmicos en el proceso de hidrolisis, disminuyendo por tanto la selectividad a azúcares. Para ello se disminuyó el tiempo de

Hidrólisis Ácida de Celulosa y Biomasa Lignocelulósica en Líquidos Iónicos

disolución a 15 min, un tiempo parecido al utilizado en las muestras de celulosa comerciales. Para intentar demostrar este hecho, se repitieron solamente las muestras de paja de cebada y paja de trigo ya que tienen una composición química más parecida entre ellas.

En la Tabla 4.13 se muestran los resultados obtenidos por el TRS de las concentraciones de las muestras que solamente fueron disueltas en LI durante 15 min. En ambas muestras las concentraciones obtenidas son muy parecidas, incluidas si las comparamos con las muestras que fueron disueltas durante 2:30 h (Tabla 4.11). Lo mismo ocurre con los valores de rendimiento y selectividad a azúcares, son comparables a las muestras disueltas durante más tiempo. Además, se vuelve a comprobar que con la paja de cebada se obtienen valores más altos de rendimiento.

Tabla 4.13: Medidas de TRS y concentraciones totales a azúcares monoméricos (HPLC) en las diferentes biomásas lignocelulósicas catalizadas por HCl (1,66 M; 20% en peso) usando [EMIM]Cl como disolvente, a una temperatura de disolución de 135°C durante 15 min. La reacción se produjo a 105 °C durante 3 h.

Muestras	% Conv.	Conc. (g/L) TRS	% Rend. TRS	% Selec. TRS	Conc. total de azúcares (g/L) HPLC
Paja de Cebada	93	8,5	73	78	4,5
Paja de Trigo	91	7,0	67	73	4,2

Todos estos resultados, muestran que independientemente del tiempo de disolución en el LI, para un mismo tipo de muestra de biomasa lignocelulósica, se van a obtener valores de selectividad a azúcares muy

parecidos, cuando las condiciones de reacción y el catalizador utilizado y su concentración son las mismas

Sin embargo, cuando se analiza la selectividad a glucosa (Tabla 4.14), en ambos casos, ha aumentado en casi un 10% (obteniendo un 46% en ambos casos) con respecto a las muestras disueltas durante 2:30h. La selectividad a 5-HMF es prácticamente igual a las disueltas durante 2:30h, sin embargo, en este caso no se detectó la formación de ácido levulínico. La selectividad a furfural indica es similar en ambos casos.

Tabla 4.14: Los rendimientos de azúcares y productos de deshidratación de las diferentes biomásas lignocelulósicas catalizadas por HCl (1,66 M; 20% en peso) usando [EMIM]Cl como disolvente, a una temperatura de disolución de 135°C durante 15 min. La reacción se produjo a 105 °C durante 3 h.

Muestra	% select. Celobiosa	% select. Glucosa	% select. 5-HMF	% select. Ac. Levulínico	% select. Furfural
Paja de Cebada	4	46	4	0	27
Paja de Trigo	5	46	5	0	29

En base a los datos que se han obtenido en las anteriores reacciones (Tabla 4.12 y Tabla 4.14) se aprecia que la tendencia es que cuanto mayor tiempo que se tenga en el proceso de disolución a elevada temperatura (2:30h), el rendimiento a glucosa disminuye. Este hecho corrobora lo que ya se había indicado durante este capítulo y es que el [EMIM]Cl presenta cierta acidez y en la disolución de la biomasa lignocelulósica comienza la hidrólisis, de tal manera que los procesos de deshidratación se producen más rápido

Hidrólisis Ácida de Celulosa y Biomasa Lignocelulósica en Líquidos Iónicos

obteniendo mayor cantidad de húmicos y menor cantidad de azúcares. Sin embargo, el hecho de una selectividad similar pero ligeramente inferior de la formación de furfural en las reacciones que inicialmente se disolvieron durante 2:30 (Tabla 4.12), no se puede explicar sin tener principalmente los datos de selectividad a xilosa. Aun así, se puede pensar que cuando se disuelve durante 2:30h, la xilosa y el furfural, que se forma a partir de esta, provienen de la hemicelulosa, y la hemicelulosa se hidroliza más fácilmente rápido que que la celulosa, por lo tanto los componentes de la hemicelulosa hidrolizados están más tiempo en contacto con el ácido y se pueden degradar en mayor medida que los provenientes de la celulosa.

4.3. Bibliografía

- [1] A. Pinkert, K.N. Marsh, S. Pang, Reflections on the Solubility of Cellulose, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 49 (2010) 11121-11130.
- [2] S. Zhu, Y. Wu, Q. Chen, Z. Yu, C. Wang, S. Jin, Y. Ding, G. Wu, Dissolution of cellulose with ionic liquids and its application: a mini-review, *Green Chem.*, 8 (2006) 325.
- [3] N. Sun, H. Rodriguez, M. Rahman, R.D. Rogers, Where are ionic liquid strategies most suited in the pursuit of chemicals and energy from lignocellulosic biomass?, *Chem Commun (Camb)*, 47 (2011) 1405-1421.
- [4] H. Olivier-Bourbigou, L. Magna, D. Morvan, Ionic liquids and catalysis: Recent progress from knowledge to applications, *Appl. Catal., A*, 373 (2010) 1-56.
- [5] R. Rinaldi, P. Engel, J. Buchs, A.C. Spiess, F. Schuth, An integrated catalytic approach to fermentable sugars from cellulose, *ChemSusChem*, 3 (2010) 1151-1153.
- [6] R. Rinaldi, R. Palkovits, F. Schüth, Depolymerization of Cellulose Using Solid Catalysts in Ionic Liquids, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 47 (2008) 8047-8050.
- [7] C. Li, Q. Wang, Z.K. Zhao, Acid in ionic liquid: An efficient system for hydrolysis of lignocellulose, *Green Chem.*, 10 (2008) 177.
- [8] S. Kumar, S.P. Singh, I.M. Mishra, D.K. Adhikari, Recent Advances in Production of Bioethanol from Lignocellulosic Biomass, *Chem. Eng. Technol.*, 32 (2009) 517-526.

Hidrólisis Ácida de Celulosa y Biomasa Lignocelulósica en Líquidos Iónicos

- [9] J.B. Binder, R.T. Raines, Fermentable sugars by chemical hydrolysis of biomass, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 107 (2010) 4516-4521.
- [10] S. Morales-de-laRosa, J.M. Campos-Martin, J.L.G. Fierro, High glucose yields from the hydrolysis of cellulose dissolved in ionic liquids, *Chem. Eng. J.*, 181-182 (2012) 538-541.
- [11] L. Vanoye, M. Faselow, J.D. Holbrey, M.P. Atkins, K.R. Seddon, Kinetic model for the hydrolysis of lignocellulosic biomass in the ionic liquid, 1-ethyl-3-methyl-imidazolium chloride, *Green Chem.*, 11 (2009) 390-396.
- [12] R.P. Swatloski, S.K. Spear, J.D. Holbrey, R.D. Rogers, Dissolution of Cellulose with Ionic Liquids, *J. Am. Chem. Soc.*, 124 (2002) 4974-4975.
- [13] A. Pinkert, K.N. Marsh, S. Pang, M.P. Staiger, Ionic Liquids and Their Interaction with Cellulose, *Chem. Rev.*, 109 (2009) 6712-6728.
- [14] G. Brodeur, E. Yau, K. Badal, J. Collier, K.B. Ramachandran, S. Ramakrishnan, Chemical and physicochemical pretreatment of lignocellulosic biomass: A review, *Enzyme Res.*, 2011 (2011).
- [15] H. Tadesse, R. Luque, Advances on biomass pretreatment using ionic liquids: An overview, *Energy Environ. Sci.*, 4 (2011) 3913.
- [16] M. Mora-Pale, L. Meli, T.V. Doherty, R.J. Linhardt, J.S. Dordick, Room temperature ionic liquids as emerging solvents for the pretreatment of lignocellulosic biomass, *Biotechnol Bioeng*, 108 (2011) 1229-1245.
- [17] J.A. Perez-Pimienta, M.G. Lopez-Ortega, P. Varanasi, V. Stavila, G. Cheng, S. Singh, B.A. Simmons, Comparison of the impact of ionic liquid

pretreatment on recalcitrance of agave bagasse and switchgrass, *Bioresour. Technol.*, 127 (2013) 18-24.

[18] J. Shi, V.S. Thompson, N.A. Yancey, V. Stavila, B.A. Simmons, S. Singh, Impact of mixed feedstocks and feedstock densification on ionic liquid pretreatment efficiency, *Biofuels*, 4 (2013) 63-72.

[19] A. Cruz, C. Scullin, C. Mu, G. Cheng, V. Stavila, P. Varanasi, D. Xu, J. Mentel, Y.-D. Chuang, B. Simmons, S. Singh, Impact of high biomass loading on ionic liquid pretreatment, *Biotechnology for biofuels*, 6 (2013) 52.

[20] C. Li, L. Sun, B.A. Simmons, S. Singh, Comparing the Recalcitrance of Eucalyptus, Pine, and Switchgrass Using Ionic Liquid and Dilute Acid Pretreatments, *Bioenergy Research*, 6 (2013) 14-23.

[21] K.-K. Cheng, J.-P. Ge, J.-A. Zhang, H.-Z. Ling, Y.-J. Zhou, M.-D. Yang, J.-M. Xu, Fermentation of pretreated sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate to ethanol by *Pachysolen tannophilus*, *Biotechnol. Lett.*, 29 (2007) 1051-1055.

[22] P. Alvira, E. Tomas-Pejo, M. Ballesteros, M.J. Negro, Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review, *Bioresour Technol*, 101 (2010) 4851-4861.

[23] P. Kumar, D.M. Barrett, M.J. Delwiche, P. Stroeve, Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 48 (2009) 3713-3729.

Hidrólisis Ácida de Celulosa y Biomasa Lignocelulósica en Líquidos Iónicos

[24] N. Mosier, C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y.Y. Lee, M. Holtzapple, M. Ladisch, Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass, *Bioresour. Technol.*, 96 (2005) 673-686.

5. OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE HIDRÓLISIS QUÍMICA DE LA CELULOSA EN GLUCOSA

5.1. Introducción	1
5.2. Hidrólisis ácida de celulosa	1
5.2.1. Efecto de la concentración de ácido	2
5.2.2. Efecto de la temperatura	7
5.2.3. Efecto de la fuerza ácida del catalizador	9
5.2.4. Efecto del tipo de celulosa.....	12
5.3. Discusión.....	16
5.4. Bibliografía	20

5.1. Introducción

Este capítulo de la memoria se ha llevado a cabo un estudio de la hidrólisis ácida de la celulosa a glucosa, con el objetivo de optimizar las variables del proceso para maximizar el rendimiento de la glucosa. Para ello se modificaron las distintas variables de operación en la hidrólisis de la celulosa a glucosa como son: la temperatura de reacción, la concentración ácida del catalizador, la fuerza ácida del catalizador y el tipo de celulosa utilizada (microfibrosa y microgranular) y se investigaron sus efectos sobre el rendimiento a los compuestos que se pueden formar.

La elección de utilizar solamente celulosa en este estudio se debió al hecho de que este polisacárido estructurado que forma parte de la biomasa lignocelulósica, es el más difícil de hidrolizar debido a su estructura altamente empaquetada de microfibras unidas entre sí por puentes de hidrógeno y fuerza de Van der Waals [1-5]. De esta manera, se puede hacer un mejor estudio de las condiciones óptimas de operación en la hidrólisis química para luego posteriormente aplicarlo a las biomásas lignocelulósicas reales.

5.2. Hidrólisis ácida de celulosa

En la reacción de hidrólisis ácida de celulosa se analizaron los datos obtenidos de glucosa y uno de sus productos secundarios, el ácido levulínico. Sin embargo, no se prestó especial atención al comportamiento del 5-HMF, porque su concentración obtenida era muy baja. Esto es debido a que el 5-HMF se forma a partir de la glucosa, pero a su vez se consume para dar lugar al ácido levulínico (Figura 5.1). En las condiciones de reacción empleadas en este trabajo, medio acuoso y temperatura de reacción, el 5-HMF reacciona muy rápidamente para dar el ácido levulínico y su concentración es muy baja

durante todo el tiempo de reacción. Este hecho también ha sido observado por otros autores en condiciones similares a las de este trabajo [6]. Por lo tanto, en este capítulo de los resultados solamente en la conversión de la celulosa a glucosa y ácido levulínico.

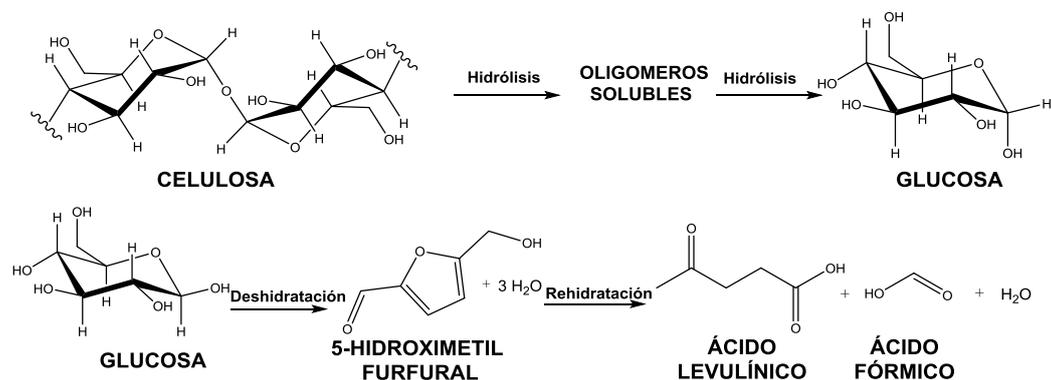


Figura 5.1: Reacciones sucesivas que pueden ocurrir durante la hidrólisis de celulosa.

5.2.1. Efecto de la concentración de ácido

En primer lugar, se estudió el efecto de la concentración del catalizador en el rendimiento a glucosa. Para este fin, se escogió el ácido sulfúrico como catalizador, ya que es un ácido fuerte y se sabe que funciona bien en la hidrólisis (ver capítulo 4). Además con este ácido no introducimos cloruros en el medio de reacción que en las posteriores fases en la producción de bioetanol (fermentación) son perjudiciales.

Para ver el efecto de la concentración del ácido en la hidrólisis, se escogieron diferentes concentraciones: 0,2; 0,5; 1,1 y 2,5 mol/L. Cuando la temperatura de reacción es baja, a 120°C, el uso de una concentración mayor

Optimización del Proceso de Hidrólisis Química de la Celulosa en Glucosa

de ácido sulfúrico, da como resultado un rendimiento de glucosa mayor (Figura 5.2 a).

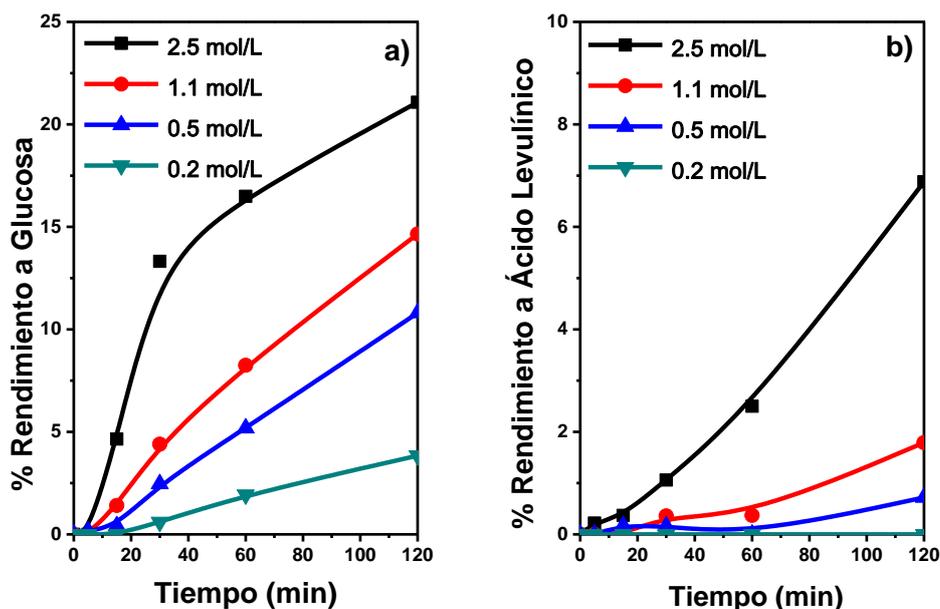


Figura 5.2: Hidrólisis de la celulosa en diferentes concentraciones de H_2SO_4 a $120^\circ C$.

La concentración de glucosa aumenta linealmente con la concentración del ácido, excepto a la mayor concentración (2,5 mol/L) que no aumenta se forma lineal a tiempos largos de reacción. Con 2,5 mol/L, inicialmente aumenta muy rápidamente el rendimiento a glucosa hasta los 30 minutos, a partir de ese momento el incremento del rendimiento aumenta de forma menos rápida. Si estudiamos el rendimiento a ácido levulínico, en general la formación de ácido levulínico es baja, aumentando con la con la concentración del ácido sulfúrico (Figura 5.2 b). La formación de ácido levulínico es más notable para la concentración de ácido de 2,5 mol/L. Para esta concentración más elevada, el rendimiento a ácido levulínico es bajo a tiempos cortos de reacción, y aumenta de forma más brusca con tiempos de reacción más largos y este

hecho ocurre en todos los casos a excepción de cuando se utiliza la concentración de 0,2 mol/L de H₂SO₄. Estos cambios bruscos en la formación de ácido levulínico se producen en paralelo con la disminución del rendimiento a glucosa, especialmente este efecto se ve cuando utilizamos 2,5 mol/L de H₂SO₄ (Figura 5.2).

Esta misma tendencia se observó cuando se aumentó la temperatura de reacción a 140 °C (Figura 5.3). Al igual que en el caso anterior, se produce un aumento lineal del rendimiento a glucosa cuando se aumenta la concentración del ácido. Sin embargo, cuando se añade una concentración de 2,5 mol/L de H₂SO₄ se ve que esa linealidad se pierde a tiempos mayores de los 30 min. El rendimiento a glucosa alcanza un máximo a tiempos cortos de reacción y a partir de ahí el rendimiento a glucosa comienza a disminuir rápidamente (Figura 5.3 a).

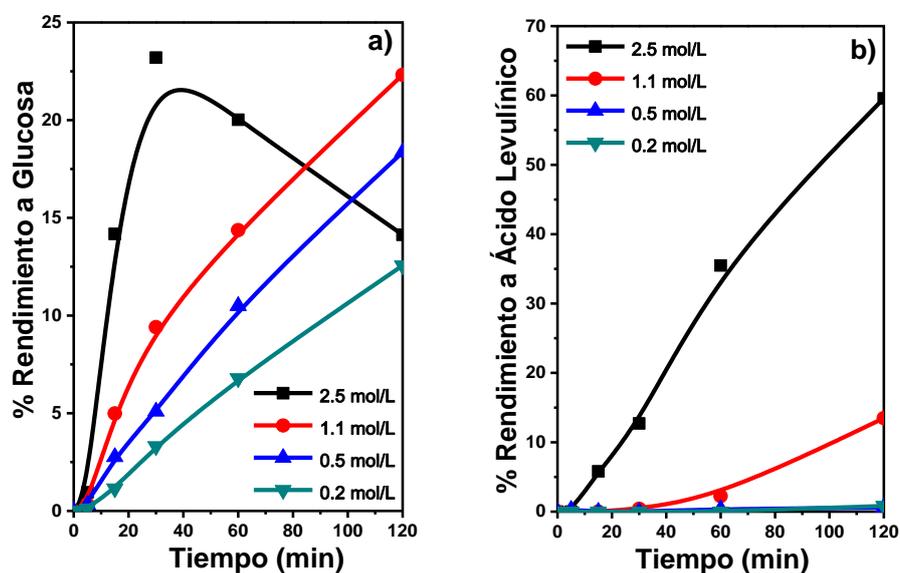


Figura 5.3: Hidrólisis de la celulosa en diferentes concentraciones de H₂SO₄ a 140°C.

Optimización del Proceso de Hidrólisis Química de la Celulosa en Glucosa

Al mismo tiempo, se analizaron los resultados obtenidos de rendimiento a ácido levulínico (Figura 5.3 b). Se puede comprobar que el rendimiento es muy bajo cuando la concentración de H_2SO_4 es baja (0,2 y 0,5 mol/L). Cuando se añade 1,1 mol/L de H_2SO_4 , se ve que a tiempos de reacción cortos el rendimiento de ácido levulínico es muy bajo pero al aumentar el tiempo de reacción este rendimiento aumenta hasta superar el 10%. En contraste con el resto de concentraciones utilizadas, cuando se utiliza 2,5 mol/L de H_2SO_4 , la formación de ácido levulínico es rápida y a las 2 horas de reacción se obtiene un rendimiento del 60%, con respecto a la celulosa añadida en reacción.

Los perfiles cinéticos de la formación de glucosa cuando se aumenta la temperatura a 160 °C son algo diferentes (Figura 5.4 a). Con la excepción del caso en el que se añade H_2SO_4 en una concentración de 0,2 mol/L, en el que al aumentar el tiempo el rendimiento a glucosa aumenta igual que a las anteriores temperaturas (120 y 140°C). En el resto de los casos, el rendimiento a glucosa aumenta a tiempos de reacción cortos alcanzando un máximo, a partir del cual el rendimiento a glucosa comienza a disminuir y especialmente rápido en los casos en los que se añade 2,5 y 1,1 mol/L en reacción en los que se obtiene unos máximos de rendimiento a glucosa inferiores al 17%. Este perfil de concentración es el típico de reacciones consecutivas.

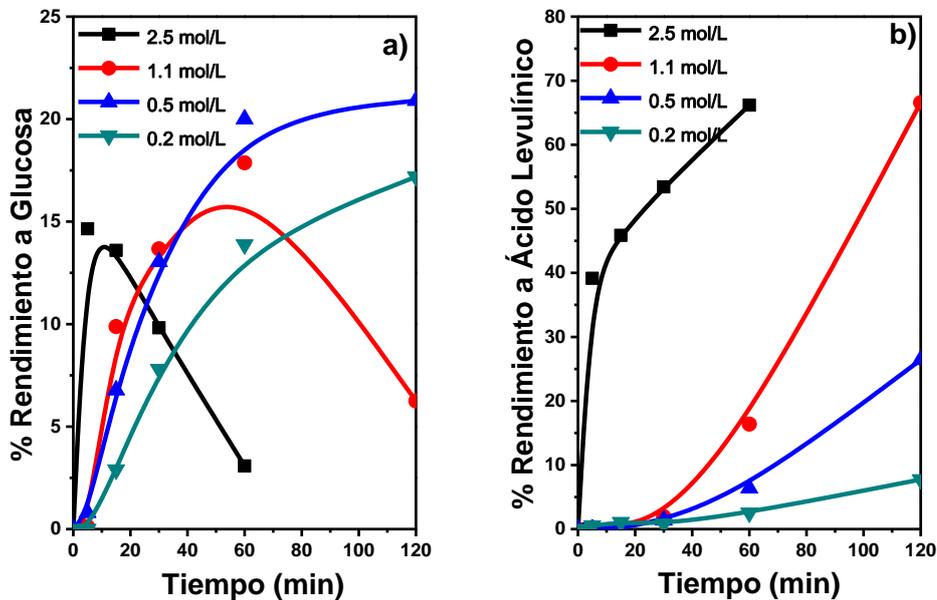


Figura 5.4: Hidrólisis de la celulosa en diferentes concentraciones de H_2SO_4 a $160^\circ C$.

Las reacciones consecutivas en la hidrólisis de la celulosa a glucosa y de glucosa a ácido levulínico, ya se han observado anteriormente por otros autores [6, 7]. Como se puede ver en la Figura 5.4 (a y b), al aumentar la concentración del ácido, se ve un aumento del rendimiento a glucosa a cortos tiempos de reacción e igualmente a estos tiempos de reacción, el rendimiento a ácido levulínico es muy bajo, pero cuando se aumenta el tiempo de reacción se aprecia que existe un máximo en el rendimiento a partir del cual el rendimiento a glucosa cae rápidamente, especialmente cuando se utiliza 1,1 y 2,5 mol/L de H_2SO_4 . Por otro lado si se observa la Figura 5.4 (b), se puede apreciar que el rendimiento a ácido levulínico aumenta rápidamente a en los primeros 15 min de reacción cuando la concentración del H_2SO_4 es 2,5 mol/L y a partir de ahí el rendimiento a ácido levulínico aumenta de forma más ralentizada, llegando a un rendimiento del 60% de ácido levulínico en la

Optimización del Proceso de Hidrólisis Química de la Celulosa en Glucosa

primera hora con respecto a la celulosa añadida en la reacción. A medida que la concentración del ácido disminuye, también disminuye la tasa de formación de ácido levulínico. Sin embargo, a lo largo de la reacción de hidrólisis, el aumento del ácido levulínico no es lineal una vez que el rendimiento a glucosa alcanza un máximo (Figura 5.4).

Este hecho nos demuestra que se están dando las reacciones consecutivas en la hidrólisis y que el comportamiento observado se relaciona con el esquema de reacción de la Figura 5.1. Los ácidos fuertes catalizan la hidrólisis de la celulosa a glucosa pero estos ácidos a su vez, también catalizan la reacción de deshidratación subsiguiente a 5-HMF y posterior descomposición (rehidratación) a ácido levulínico [6-8]. En este caso, una concentración más alta de ácido y una mayor temperatura, favorece claramente las reacciones secundarias que producen ácido levulínico.

5.2.2. Efecto de la temperatura

El objetivo principal de este trabajo es la optimización del rendimiento de la glucosa en la hidrólisis de celulosa. Y como se puede comprobar en las figuras anteriores (Figura 5.2, Figura 5.3, Figura 5.4), el rendimiento a ácido levulínico fue muy bajo para los casos en los que la concentración del H_2SO_4 es 0,5 y 0,2 mol/L y las temperaturas eran de 120°C y 140°C. Así que, se decidió centrar el estudio del efecto de la temperatura en la región más baja de la concentración del ácido.

Cuando se utilizó una concentración de H_2SO_4 de 0,5 mol/L, se vio un aumento lineal en el rendimiento de glucosa. Sin embargo, este aumento se reducía en tiempos largos de reacción cuando se utilizaba la temperatura de 160 °C (Figura 5.2, Figura 5.3, Figura 5.4 (a)). El rendimiento a ácido levulínico es moderado a tiempos de reacción cortos a la temperatura de 140 °C, pero aumenta rápidamente a tiempos de reacción más largos. El cambio en la

tendencia de la formación de ácido levulínico ocurre al mismo tiempo que se ralentiza el aumento de la concentración de glucosa. Este hecho ya fue observado previamente por Amarasekara y Wiredu (2012) [9]. Una tendencia similar se observa con la concentración de 0,2 mol/L de H₂SO₄ (Figura 5.2Figura 5.3 Figura 5.4 (a)). Un aumento en la temperatura de reacción provoca un aumento en la tasa de formación de glucosa. Además, para esta concentración de ácido el aumento de rendimiento a glucosa es lineal tanto para las temperaturas de reacción de 120°C y 140 °C (las más bajas probadas). Esta linealidad, se pierde a tiempos largos de reacción cuando se utiliza una temperatura de 160 °C (Figura 5.4 (a)).

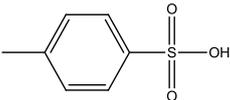
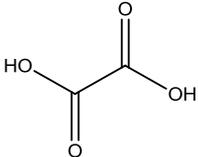
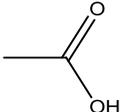
En general, para las dos concentraciones más bajas de ácido, la formación de ácido levulínico es baja, aumentando con la concentración de H₂SO₄ (Figura 5.2Figura 5.3Figura 5.4 (b)). Sin embargo, cuando la temperatura de reacción es de 160°C, la concentración de ácido levulínico no es muy alta en tiempos de reacción cortos, pero aumenta considerablemente a tiempos de reacción más largos. Se puede apreciar un cambio en la tendencia de la formación a ácido levulínico cuando la concentración de glucosa es mayor, y éste es un producto secundario de la glucosa. Parece que las concentraciones más altas de glucosa pueden favorecer la formación del ácido levulínico (Figura 5.4 (b)). En definitiva, el comportamiento catalítico está de acuerdo con los anteriores estudios realizados sobre la degradación de la celulosa, los que mostraban que los productos secundarios se forman a partir de la glucosa a temperaturas superiores a 140 °C [6-8].

Estos datos obtenidos nos indican claramente que a concentraciones de ácido sulfúrico bajas (0,5 y 0,2 mol/L) y una temperatura de reacción moderada (140 °C), se obtienen los valores de rendimiento a glucosa más altos manteniendo un rendimiento a ácido levulínico bastante bajo.

5.2.3. Efecto de la fuerza ácida del catalizador

Siguiendo la línea de trabajo en la optimización del proceso de producción de glucosa, se estudió el efecto de la fuerza del ácido en la hidrólisis de celulosa, un trabajo similar al realizado en el Capítulo 4 de esta memoria. Para ello, se utilizaron varios ácidos en un gran rango de pKa desde 4,8 hasta -6,6 (ver Tabla 5.1).

Tabla 5.1: Los catalizadores ácidos empleados en la hidrólisis de la celulosa.

Formula	Abreviacion	pKa
H ₂ SO ₄	H ₂ SO ₄	-6.6
	<i>p</i> -TSA	-2.5
	OA	1.19
H ₃ PO ₄	H ₃ PO ₄	2.1
	AA	4.8

La concentración de cada catalizador ácido se mantuvo constante a 0,2 mol/L en todas las reacciones de hidrólisis. Se tuvo en cuenta que la temperatura de reacción utilizada depende de la fuerza del catalizador ácido (Figura 5.5), de tal manera que el catalizador menos ácido requiere una mayor temperatura de reacción para producir una cantidad de compuesto medible (glucosa y ácido levulínico). Existe una correlación entre la conversión de la celulosa y la fuerza del ácido. Cuanto mayor sea el pKa, menos activo es el

catalizador (Figura 5.5 y Tabla 5.1). En consecuencia, necesitaremos una temperatura más alta cuando se utiliza un ácido de pKa mayor.

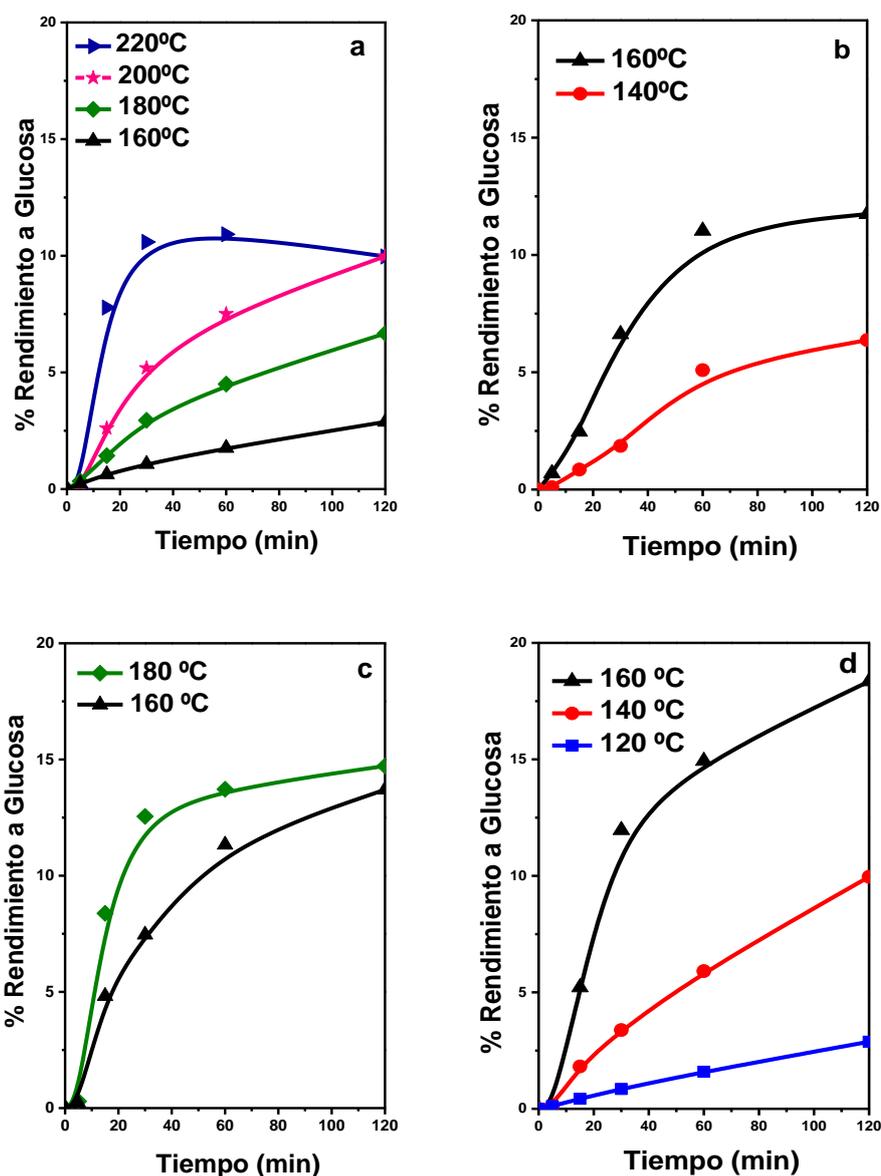


Figura 5.5: Rendimiento a glucosa en la hidrólisis de la celulosa catalizada por ácidos diferentes (0,2 mol/L en agua) a diferentes temperaturas de reacción, a) AA, b) H₃PO₄, c) OA y d) p-TSA.

Optimización del Proceso de Hidrólisis Química de la Celulosa en Glucosa

En todos los casos, se produjo un incremento del rendimiento a glucosa cuando se utilizaron temperaturas más altas. Sin embargo, al probar todos los catalizadores a la misma temperatura de 140 °C, se puede hacer una buena comparación de su actividad en la reacción de hidrólisis.

Las Figura 5.2Figura 5.3Figura 5.4Figura 5.5 muestran el importante efecto de la fuerza ácida de los catalizadores sobre el rendimiento a glucosa. Los rendimientos más altos a glucosa se obtuvieron con los ácidos más fuertes (pKa inferiores). Esta tendencia es similar a la que ya se obtuvo en la hidrólisis de celulosa disuelta en líquidos iónicos [4, 10]. Sin embargo, los ácidos con valores de pKa negativos mostraron un perfil similar en los rendimientos a glucosa. Esto se debió al hecho de que es necesario tener un ácido fuerte para hidrolizar los enlaces β -glicosídicos [11].

Los resultados más prometedores se obtuvieron con el ácido sulfúrico y el p-TSA cuyos valores de pKa son negativos. En el análisis del rendimiento a ácido levulínico para estos dos ácidos se representa en la Figura 5.6. En ambos casos los catalizadores producen una concentración muy baja de ácido levulínico a temperaturas más bajas (120 °C y 140 °C), pero este rendimiento aumentó ligeramente cuando aumentamos la temperatura a 160 °C. Además, se observó que en estas condiciones de reacción, la concentración de ácido levulínico aumenta a largos tiempos de reacción, cuando disminuye la linealidad del rendimiento a glucosa como ocurre en los anteriores apartados del capítulo.

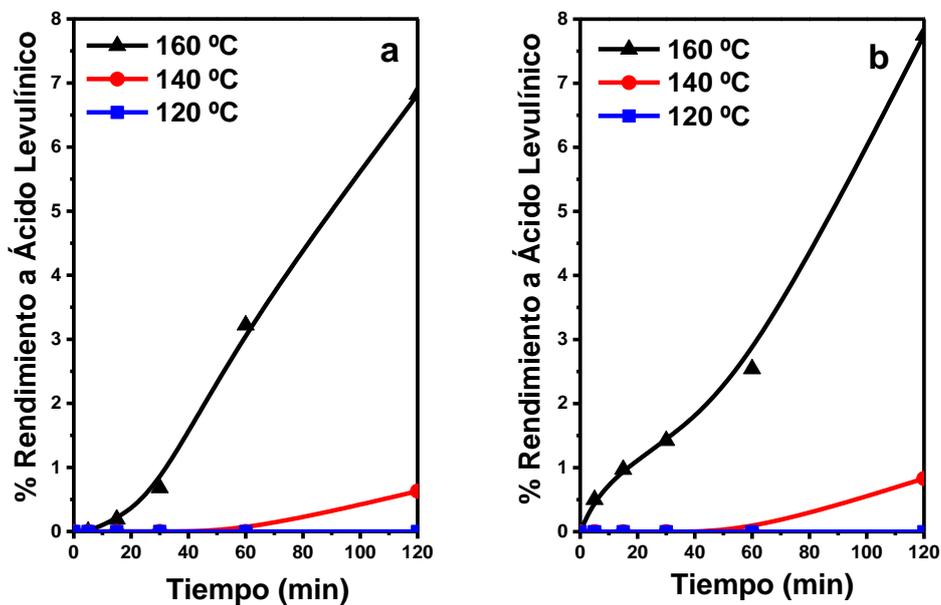


Figura 5.6: Rendimiento a ácido levulínico en la hidrólisis de la celulosa utilizando una concentración de 0,2 mol/L de p-TSA (a) o H₂SO₄ (b) en agua a diferentes temperaturas.

5.2.4. Efecto del tipo de celulosa

Para estudiar el efecto del tipo de celulosa en la hidrólisis, inicialmente se estudiaron por difracción de rayos X, las dos estructuras cristalinas de los dos tipos de celulosa comercial utilizados en la hidrólisis ácida (Figura 5.7).

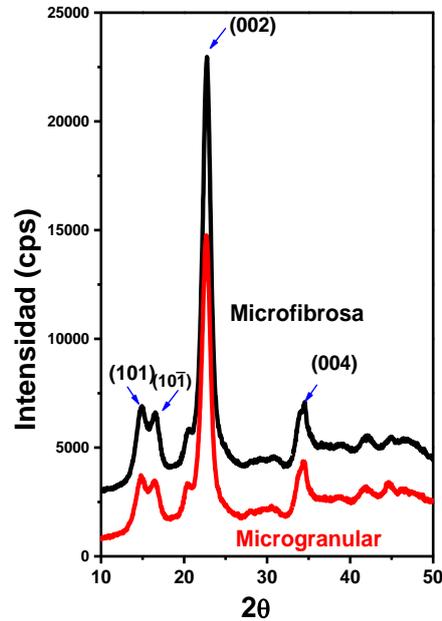


Figura 5.7: Los espectros de difracción de rayos X de ambos tipos de celulosa.

Los perfiles de difracción de rayos X muestran un pico intenso a 23° , debido a la reflexión (200) y otros dos menos intensos alrededor de 15° y 17° y que son característicos de las reflexiones (110) y $(1\bar{1}0)$ respectivamente. Además, aparece una señal compuesta de varios picos a 34° que incluye la reflexión a (004) [12, 13].

La intensidad de los picos es bastante alta, lo que indica una buena cristalinidad en ambas celulosas utilizadas. El índice de cristalinidad (CI) de las muestras se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$CI = (I_{23} - I_{18})/I_{23}$$

Aquí, el I_{23} y el I_{18} son las intensidades netas de la señal del pico a 23° y del pico a 18° respectivamente [13]. Este índice también se conoce como Segal CI [14]. Al calcular este índice en nuestras muestras se encontró que el

CI era aproximadamente del 85% para la celulosa microgranular y el 92% para la celulosa microfibrosa (Tabla 5.2). Sin embargo, estudios recientes muestran que el tamaño de los cristales puede influir en el cálculo del CI, sobreestimando la presencia de material amorfo [14] debido a la superposición de picos de difracción cerca de la zona de 18°.

Tabla 5.2: Anchura del pico a la mitad del máximo (PWHM), tamaño del cristal, la intensidad en el 18° y 23° y Segal CI de las muestras estudiadas

Muestra Celulosa	PWHM (°)	Tamaño de cristal (nm)	Intensidad a 18° (c.p.s.)	Intensidad a 23° (c.p.s.)	CI (%)
Microgranular	1,37	6,6	1,739	11,755	85
Microfibrilar	1,16	7,8	1,657	20,507	92

Se ha calculado la anchura de pico a la mitad del máximo (PWHM) a partir del pico de mayor intensidad para ambas muestras (Tabla 5.2) y el tamaño de los cristales utilizando la Ecuación de Scherrer con un factor de forma de 1,0 [14].

$$\tau = \frac{K \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos\theta}$$

El valor de PWHM de la muestra microgranular es más grande que la de la microfibrosa. Este hecho implica un tamaño de cristal menor para la celulosa microgranular de 6,6 nm mientras que para la celulosa microfibrosa es de 7,6 nm. La intensidad a 18°, indica un 8% de material amorfo en el cálculo del CI, pero estudios recientes de Francés y Santiago Cintrón 2013 [14] indican que una muestra altamente cristalina (con PWHM = 1,0) presenta

Optimización del Proceso de Hidrólisis Química de la Celulosa en Glucosa

una intensidad a 18° que da lugar a un cálculo de alrededor del 5% de material amorfo empleando el método de Segal del índice de cristalinidad (CI). Por lo tanto, hay que tener en cuenta que en las muestras estudiadas gran parte de la cantidad de “material amorfo” que nos indica el CI es solo una consecuencia del ensanchamiento y solapamiento de los picos de difracción, lo que da lugar a una sobreestimación del contenido de material amorfo.

Una vez caracterizados los materiales por difracción de rayos X, se estudió la hidrólisis de estos dos tipos de celulosa comercial (microgranular y microfibrosa). Para ello se escogieron como catalizadores el ácido sulfúrico y el p-TSA (0,2 mol/L) a una temperatura de reacción de 140°C , que son las condiciones más favorables para obtener glucosa con un bajo contenido de ácido levulínico final de la hidrólisis ácida (Figura 5.8).

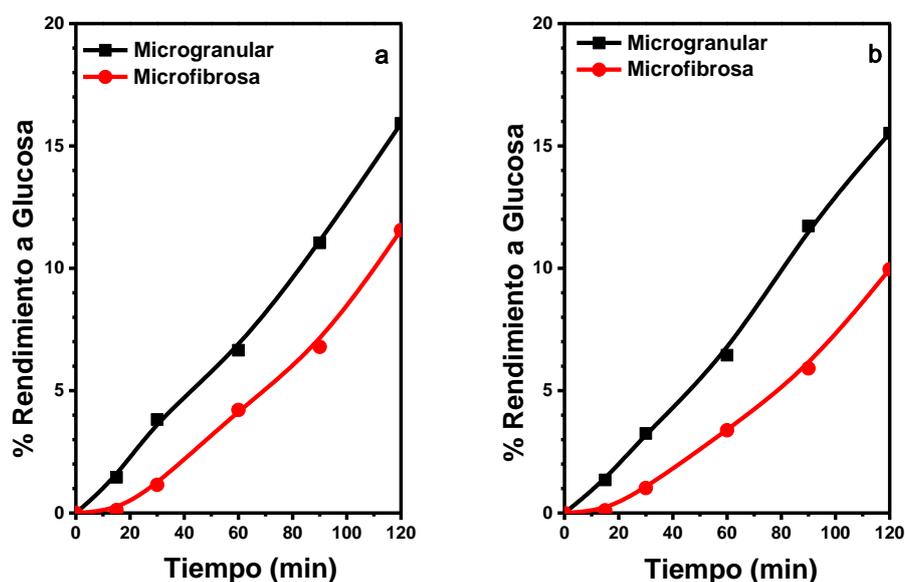


Figura 5.8: Rendimiento de la glucosa en la hidrólisis de dos tipos diferentes de celulosa utilizando una concentración de ácido 0,2 mol/L en agua a una temperatura de reacción de 140°C , H_2SO_4 (a) o p-TSA (b).

El perfil del rendimiento a glucosa de la muestra de celulosa microgranular aumentaba casi linealmente con el tiempo, mientras que la muestra microfibrosa, presentaba una pequeña desviación de la linealidad en este rendimiento. Además, la concentración de glucosa en la muestra microfibrosa es menor que en la muestra microgranular (Figura 5.8).

Si se comparan los perfiles de rendimiento a glucosa con los dos ácidos empleados (H_2SO_4 y p-TSA), se puede ver que es similar (Figura 5.8 (a y b)), siendo ligeramente mayor cuando se utilizó el ácido sulfúrico como catalizador en reacción. Esta mejora se hace más evidente cuando se utiliza la celulosa microfibrosa. Aparentemente, los datos indican que la diferencia de acidez afecta a los resultados de reacción cuando la muestra es más difícil de hidrolizar, y se requiere una mayor acidez en la hidrólisis de la celulosa con mayor tamaño de los cristales (muestra fibrosa).

5.3. Discusión

La hidrólisis de la celulosa implica la ruptura de los enlaces β -glicosídicos de la estructura polimérica, siendo este un paso esencial para la conversión de la celulosa en oligosacáridos.

Se lleva estudiando mucho tiempo sobre numerosos procesos de hidrólisis directa de lignocelulosa con ácidos. En la mayoría de estos estudios, los ácidos minerales (HCl , H_2SO_4 ,...) y ácidos orgánicos (ácido oxálico, maléico, fumárico,...), se han encontrado que son particularmente adecuados para la producción de glucosa y que además esta glucosa se puede degradar primero a 5-HMF y finalmente a ácido levulínico y ácido fórmico (Figura 5.1) [15]. La cinética del proceso de hidrólisis ácida de la celulosa, está controlada principalmente por: (1) la naturaleza de precursor de celulosa, (2) el pKa del ácido, (3) la concentración de ácido, y (4) la temperatura de reacción. En la mayoría de los procesos se requieren condiciones exigentes (altas

Optimización del Proceso de Hidrólisis Química de la Celulosa en Glucosa

temperaturas, concentraciones elevadas de ácido,...) para liberar la glucosa a partir de las estructuras cristalinas de las cadenas de celulosa. Sin embargo, si la temperatura de hidrólisis es demasiado alta se produce la aparición de reacciones secundarias que dan lugar a cantidades importantes productos secundarios. Por otro lado, el control de las condiciones de reacción para obtener el máximo rendimiento de glucosa en tiempos cortos es un gran reto comercial.

Los datos experimentales descritos en este capítulo, obtenidos mediante la comparación de la concentración obtenida en la hidrólisis ácida, indican claramente la posibilidad de controlar la hidrólisis para poder obtener los productos deseados. Bajo las condiciones de hidrólisis con altas concentraciones de ácido fuerte, se obtienen altos rendimientos a glucosa en los primeros minutos de reacción, pero a tiempos de reacción más largos los incrementos de glucosa son menores [9, 16] y se produce un alto rendimiento de los productos secundarios (ácido levulínico). Estas reacciones secundarias se han reducido al mínimo, cuando la concentración del ácido es baja, especialmente cuando se emplea 0,2 mol/L.

Otro parámetro importante que se debe optimizar para controlar la obtención de los productos deseados, es la temperatura de hidrólisis. A mayor temperatura, la hidrólisis de celulosa a glucosa se produce de forma más rápida pero casi simultáneamente la glucosa se transforma en productos secundarios. Por lo tanto, para obtener una alta selectividad de glucosa, es necesario operar a temperaturas moderadas (120 °C). Y aunque a esa temperatura de hidrólisis la producción de glucosa es moderada, la producción de ácido levulínico es muy baja. Sin embargo, a mayores temperaturas de hidrólisis (160 °C), se puede obtener ácido levulínico con una alta selectividad. A pesar de que los rendimientos a glucosa en este trabajo son tan bajos, existe un potencial para intensificar la hidrólisis de celulosa en H₂SO₄ diluido.

Con respecto al estudio del efecto debido a la naturaleza del ácido utilizado (Figura 5.5), es evidente que el H_2SO_4 y ácido p-TSA producen cantidades más altas de los productos de hidrólisis, aunque a mayores temperaturas de reacción, estos son capaces de conducir la transformación de la celulosa bastante más allá, ofreciendo una mayor cantidad de productos de deshidratación, desde el 5-HMF hasta el ácido levulínico. Este comportamiento, se debe a que ambos tienen la mayor fuerza ácida de entre todos los ácidos comparados: AA, OA y H_3PO_4 . La fuerza ácida superior del H_2SO_4 ($\text{pK}_a = -6,6$), probablemente no solo aumenta la despolimerización de la celulosa en glucosa sino que también la transformación de la evolución del monosacárido en los correspondientes productos de deshidratación, dando lugar a un rendimiento global superior hacia los productos solubilizados registrado con respecto a los otros ácidos.

Otro aspecto importante que afecta a la reactividad de la celulosa es el tipo de celulosa empleada, el rendimiento a glucosa fue significativamente mayor con la celulosa microgranular usando H_2SO_4 o p-TSA que con la microfibrosa (Figura 5.8). Estos patrones de reactividad son similares a los que ya mostraron Kupiainen y cols. en 2010 [17], quien encontró mayor rendimiento de glucosa a partir de pasta de celulosa proveniente del proceso de organosolv que con la celulosa microcristalina. Es decir, que cuanto más precursor polimérico deconstruido, este se vuelve más reactivo al ataque ácido y no hay necesidad de aumentar tanto la temperatura de reacción y de esta manera se inhibe posteriormente las reacciones consecutivas que conducen al ácido levulínico.

Este efecto se ha observado con las dos muestras de celulosa estudiadas (fibrosa y microgranular). El rendimiento de la glucosa de la muestra fibrosa fue menor que el de la muestra microgranular. Este hallazgo es consistente con lo que cabría esperar si se tiene en cuenta que el tamaño de los cristales en la muestra de celulosa microfibrosa es mayor. La hidrólisis

Optimización del Proceso de Hidrólisis Química de la Celulosa en Glucosa

de la celulosa es más lenta cuando la celulosa tiene un tamaño de cristal más grande ya que una muestra con tamaño de cristal más pequeño, tiene un área de superficie mayor [13] y una longitud de cadena menor [12]. Estas propiedades incrementan la velocidad de reacción de la hidrólisis de las cadenas de celulosa [18-20].

5.4. Bibliografía

[1] P. Kumar, D.M. Barrett, M.J. Delwiche, P. Stroeve, Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 48 (2009) 3713-3729.

[2] P. Alvira, E. Tomas-Pejo, M. Ballesteros, M.J. Negro, Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review, *Bioresour Technol*, 101 (2010) 4851-4861.

[3] Y. Sun, J. Cheng, Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review, *Bioresour. Technol.*, 83 (2002) 1-11.

[4] R. Rinaldi, F. Schuth, Acid hydrolysis of cellulose as the entry point into biorefinery schemes, *ChemSusChem*, 2 (2009) 1096-1107.

[5] A. Pinkert, K.N. Marsh, S. Pang, Reflections on the Solubility of Cellulose, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 49 (2010) 11121-11130.

[6] B. Girisuta, K. Dussan, D. Haverty, J.J. Leahy, M.H.B. Hayes, A kinetic study of acid catalysed hydrolysis of sugar cane bagasse to levulinic acid, *Chem. Eng. J.*, 217 (2013) 61-70.

[7] L.V.A. Gurgel, K. Marabezi, M.D. Zanbom, A.A.d.S. Curvelo, Dilute Acid Hydrolysis of Sugar Cane Bagasse at High Temperatures: A Kinetic Study of Cellulose Saccharification and Glucose Decomposition. Part I: Sulfuric Acid as the Catalyst, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 51 (2011) 1173-1185.

Optimización del Proceso de Hidrólisis Química de la Celulosa en Glucosa

- [8] H.M. Pilath, M.R. Nimlos, A. Mittal, M.E. Himmel, D.K. Johnson, Glucose reversion reaction kinetics, *J. Agric. Food. Chem.*, 58 (2010) 6131-6140.
- [9] A.S. Amarasekara, B. Wiredu, Aryl sulfonic acid catalyzed hydrolysis of cellulose in water, *Appl. Catal., A*, 417-418 (2012) 259-262.
- [10] S. Morales-delaRosa, J.M. Campos-Martin, J.L.G. Fierro, High glucose yields from the hydrolysis of cellulose dissolved in ionic liquids, *Chem. Eng. J.*, 181-182 (2012) 538-541.
- [11] K.-i. Shimizu, H. Furukawa, N. Kobayashi, Y. Itaya, A. Satsuma, Effects of Brønsted and Lewis acidities on activity and selectivity of heteropolyacid-based catalysts for hydrolysis of cellobiose and cellulose, *Green Chem.*, 11 (2009) 1627.
- [12] Y. Nishiyama, G. Johnson, A. French, Diffraction from nonperiodic models of cellulose crystals, *Cellulose*, 19 (2012) 319-336.
- [13] S. Park, J.O. Baker, M.E. Himmel, P.A. Parilla, D.K. Johnson, Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance, *Biotechnology for biofuels*, 3 (2010) 10.
- [14] A. French, M. Santiago Cintrón, Cellulose polymorphy, crystallite size, and the Segal Crystallinity Index, *Cellulose*, 20 (2013) 583-588.
- [15] S. Van de Vyver, J. Geboers, P.A. Jacobs, B.F. Sels, Recent Advances in the Catalytic Conversion of Cellulose, *ChemCatChem*, 3 (2011) 82-94.

- [16] P. Lenihan, A. Orozco, E. O'Neill, M.N.M. Ahmad, D.W. Rooney, G.M. Walker, Dilute acid hydrolysis of lignocellulosic biomass, *Chem. Eng. J.*, 156 (2010) 395-403.
- [17] L. Kupiainen, J. Ahola, J. Tanskanen, Comparison of Formic and Sulfuric Acids as a Glucose Decomposition Catalyst, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 49 (2010) 8444-8449.
- [18] B. Girisuta, L.P.B.M. Janssen, H.J. Heeres, Kinetic Study on the Acid-Catalyzed Hydrolysis of Cellulose to Levulinic Acid, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 46 (2007) 1696-1708.
- [19] A. Sharples, The hydrolysis of cellulose and its relation to structure, *Transactions of the Faraday Society*, 53 (1957) 1003-1013.
- [20] A. Sharples, The hydrolysis of cellulose and its relation to structure. Part 2, *Transactions of the Faraday Society*, 54 (1958) 913-917.

6. HIDRÓLISIS QUÍMICA DE CELULOSA Y BIOMASA POR TRATAMIENTO CON LIs.

6.1. Introducción	1
6.1.1. Celulosa disolución-precipitación	1
6.2. Hidrólisis ácida de celulosa tratada con LIs	3
6.2.1. Modificación de la celulosa durante el tratamiento	3
6.2.2. Morfología de la celulosa tratada.....	5
6.2.3. Hidrólisis de la celulosa.....	12
6.2.4. Efecto del tipo de celulosa.....	13
6.2.5. Efecto del procedimiento de precipitación	16
6.2.6. Efecto del tipo Líquido Iónico	18
6.2.7. Influencia de la fuerza del catalizador ácido	20
6.2.8. Total Azúcares Reductores (TRS) en aguas de lavado	24
6.2.9. Recuperación del LI en las aguas de lavado	25
6.3. Hidrólisis ácida de biomasa lignocelulósica tratada con LIs.....	27
6.3.1. Modificación de la celulosa durante el tratamiento	27
6.3.2. Morfología de la biomasa tratada	28
6.3.3. Hidrólisis de la biomasa.....	34
6.3.4. Hidrólisis ácida de diferentes biomásas lignocelulósicas tratadas con [EMIM]Cl	40
6.4. Bibliografía	42

6.1. Introducción

La lignocelulosa, que forma el marco estructural de las plantas, que consiste en celulosa, hemicelulosa y lignina, se puede hidrolizar en azúcares simples fermentables [1]. Como ya se ha comentado en el capítulo 1 de esta memoria, un obstáculo importante es la necesidad de separar la lignina, que está presente como una cubierta protectora en las células de las plantas y hace que la celulosa y la hemicelulosa sean resistentes a la hidrólisis enzimática. Hoy en día se están estudiando nuevos procesos de tratamiento y deconstrucción de la biomasa, previos (física, química, y biológica) para romper el marco estructural de las plantas y despolimerizar la biomasa lignocelulósica.

6.1.1. Celulosa disolución-precipitación

En el capítulo 3 de esta memoria se describieron los resultados de la hidrólisis de celulosa y biomasa lignocelulósica disuelta en Lis, sin embargo es muy difícil la separación de los azúcares producidos de los Lis, además la recuperación cuantitativa del LI es un punto muy importante para la rentabilidad del proceso debido a su elevado precio, y la presencia de pequeñas cantidades LI en las disoluciones de azúcares pueden afectar a procesos aguas abajo como la fermentación. Por esta razón, se decidió adoptar una estrategia diferente por una parte se produce el tratamiento de la celulosa o biomasa lignocelulósica, y por otra la hidrólisis de la celulosa.

En el capítulo 4 de esta memoria, se estudió la hidrólisis de celulosa a glucosa, y se concluyó que la selectividad más alta para glucosa sobre ácido levulínico (LA) a una temperatura de reacción de 140°C y una concentración de H₂SO₄ en el intervalo de 0,2 a 0,5 mol/L [2]. Bajo estas condiciones de

reacción sólo se detectó una pequeña concentración de LA; sin embargo, el rendimiento a glucosa alcanzó sólo el 20% en 2 h.

Por lo tanto, en este capítulo de la tesis se va a estudiar la mejora del rendimiento de la glucosa tanto en la celulosa microgranular como fibrosa mediante un proceso en tres pasos: 1) disolución de celulosa en un IL, 2) la precipitación de la celulosa con un antidisolvente (agua), y 3) la hidrólisis de la celulosa resultante [3].

La ventaja de precipitar la celulosa es que el IL puede ser recuperado completamente y por lo tanto no está presente durante la etapa de hidrólisis. La recuperación total de líquidos iónicos de acuerdo con esta metodología es de vital importancia cuando hablamos de la viabilidad de un proceso de fermentación a gran escala en el que se van a producir azúcares a partir de biomasa tratada con IL. Para la precipitación se ha utilizado el agua que es un excelente antidisolvente para la celulosa disuelta en LI [4], el agua es un disolvente ideal porque es no tóxico y se puede usar como disolvente en todo el procesado de azúcares. Como se ilustra en la Figura 6.1, se disolvió celulosa microfibrilar o celulosa microgranular en [EMIM]Cl y a continuación se precipita con agua, de esta manera se obtuvo una estructura mucho más abierta en comparación con la mostrada por la celulosa original. La morfología de la celulosa reconstruida ofrece una textura altamente porosa con una mayor área de superficie expuesta siendo así más propensa al ataque por ácidos minerales u orgánicos y haciendo más fácil la hidrólisis ácida.

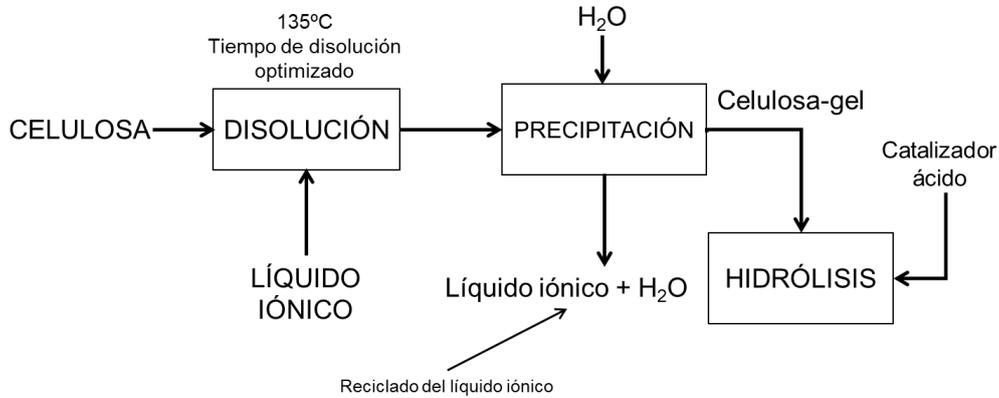


Figura 6.1: Esquema disolución-hidrólisis ácida de celulosa utilizando un líquido iónico como disolvente y agua como antidisolvente.

6.2. Hidrólisis ácida de celulosa tratada con LIs

6.2.1. Modificación de la celulosa durante el tratamiento

La disolución de celulosa, ya sea microfibrosa como microgranular en líquido iónico (LI), [EMIM]Cl, seguido por la precipitación de un antidisolvente con es el agua, provoca importantes cambios morfológicos y de textura de la celulosa (Figura 6.2). Las muestras originales de celulosa microfibrosa (Figura 6.2 A) y microgranular (Figura 6.2 D) son muestras en forma de polvo blanco que aparentemente no presentan diferencias morfológicas significativas entre ellas. En contraste, las muestras de celulosa obtenidos a través de la solubilización de la celulosa microfibrilar en el [EMIM]Cl, seguido de una reconstrucción por precipitación con agua como antidisolvente (Figura 6.2 B y C), muestran una morfología bastante diferente, además de haber aumentado su volumen con respecto a la celulosa de partida.

Por otra parte, se ha observado una gran influencia en el aspecto de la celulosa reconstruida (color y textura) cuando el agua se añade a la disolución celulosa/LI a diferentes temperaturas. Cuando el agua se añade a la disolución celulosa/LI a la temperatura de disolución (135 °C), el color de la celulosa reconstruida tras ser filtrada, es blanco (Figura 6.2 B), sin embargo cuando el agua se añade después de dejar la disolución celulosa/LI enfriar a 30 °C, la celulosa es prácticamente transparente (Figura 6.2 C y E). Este hecho ocurre independientemente del tipo de celulosa utilizado (microfibrilar o microgranular).

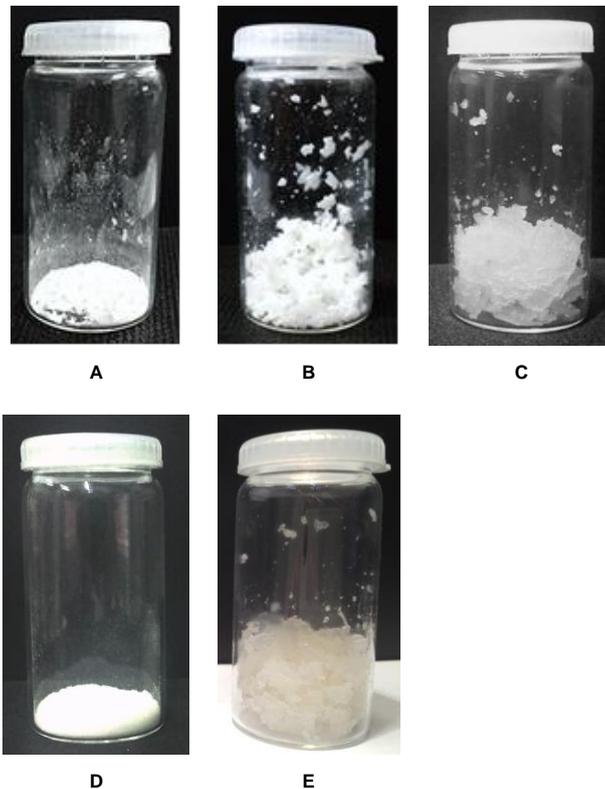


Figura 6.2: Celulosas originales y tratadas con LI. (A), celulosa original microfibrrosa; (B), celulosa microfibrrosa tratada, muestra blanca; (C), celulosa microfibrrosa tratada, muestra transparente; (D), celulosa original microgranular; y (E), celulosa microgranular tratada, muestra transparente.

6.2.2. Morfología de la celulosa tratada

Las muestras de celulosas originales y las tratadas, se examinaron por microscopía electrónica de barrido (SEM), de esta manera se estudió inicialmente su morfología micro y submicrométrica. Esta es una técnica que permite hacer estudios visuales de lo que le ocurre a la estructura de la celulosa antes y después a de cualquier tratamiento [5]. Las micrografías muestrean las diferencias que hay entre las dos muestras de celulosa inicial que se ha utilizado (microfibrosa y microgranular) a diferente magnificación. La muestra de celulosa microfibrosa contiene fibras largas y cilíndricas con diámetro de aproximadamente 20 μm (Figura 6.3), mientras que la muestra de celulosa microgranular, aunque también contiene fibras, estas son más cortas (Figura 6.4). Si se miran las imágenes de SEM adquiridas con una mayor magnificación, se puede observar que las dos muestras se componen de fibras con estructuras muy similares, aunque la muestra microgranular contiene fibras más cortas, también se detectaron algunas partículas sin estructura aparente y más pequeñas en esta muestra.

Los cambios de morfología de las muestras sometidas a tratamientos de deconstrucción-reconstrucción de la celulosa observados a simple vista también dieron lugar a un gran cambio en la estructura y morfología a nivel micro y submicrométrica. No se observa la presencia de las fibras de celulosa en las muestras tratadas independientemente de la fuente de celulosa (Figura 6.5 y Figura 6.6). En las micrografías SEM con baja magnificación, se puede observar que la superficie parece bastante lisa, sin embargo, cuando se observa la muestra con una mayor magnificación, se puede observar que hay una presencia de una cierta porosidad en las muestras. La celulosa reconstruida es muy similar a baja magnificación independientemente de cuando se ha añadido el agua (en frío o en caliente) (Figura 6.5 y Figura 6.6). Sin embargo, cuando se analizan las muestras a una mayor magnificación, se

puede apreciar que estas muestras (transparentes) tienen una estructura más porosa menos marcada (Figura 6.5 y Figura 6.7).

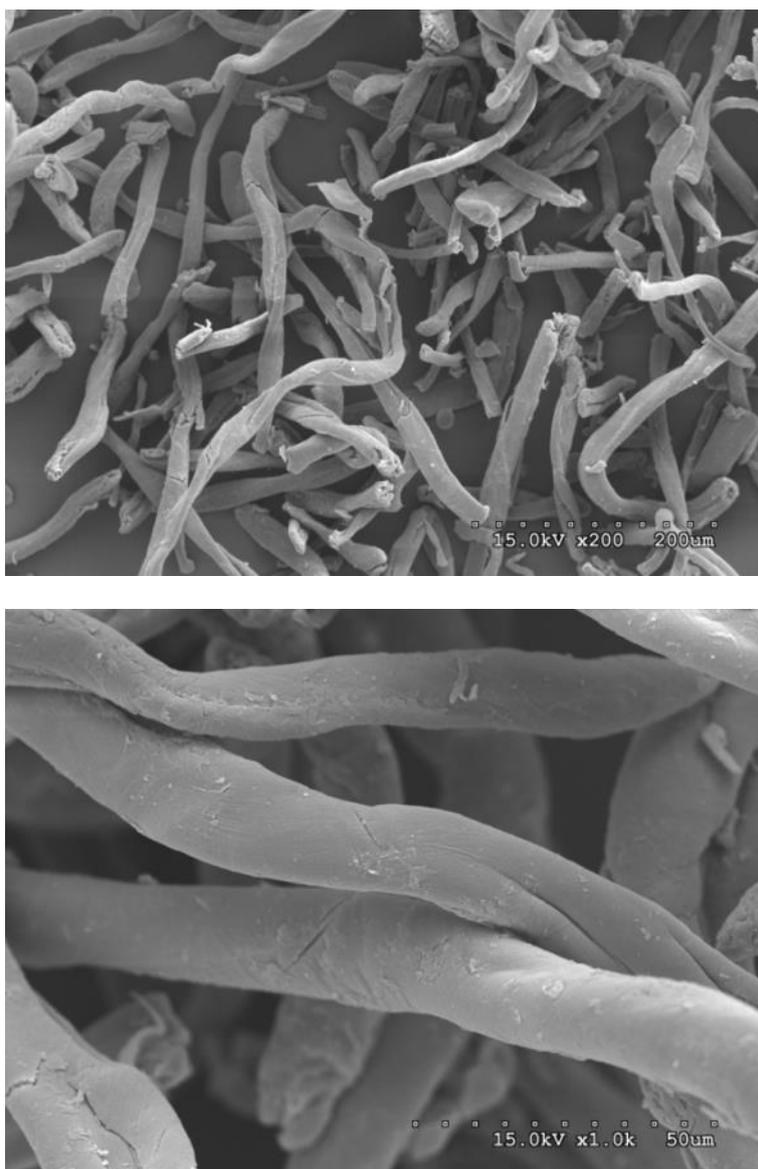


Figura 6.3: Las micrografías SEM de la celulosa microfibrosa de partida. El panel inferior muestra la misma celulosa a mayor aumento.

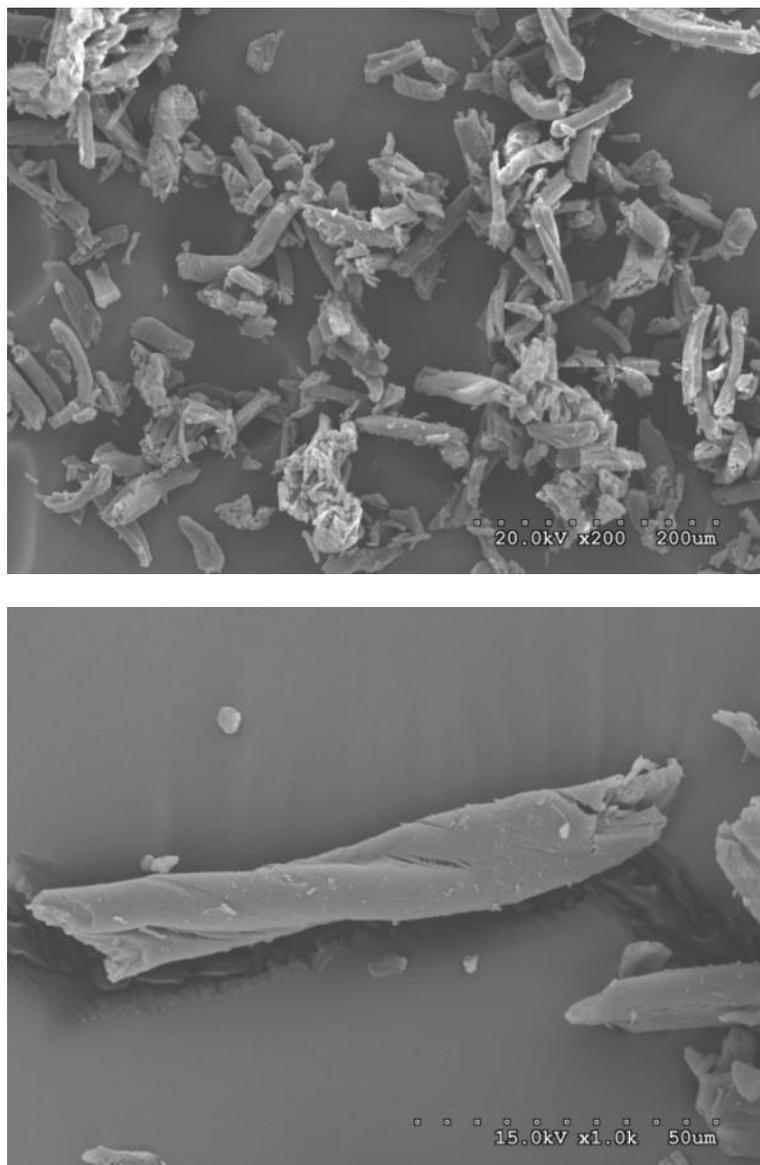


Figura 6.4: Las micrografías SEM de la celulosa microgranular de partida. El panel inferior muestra la misma celulosa a mayor aumento.

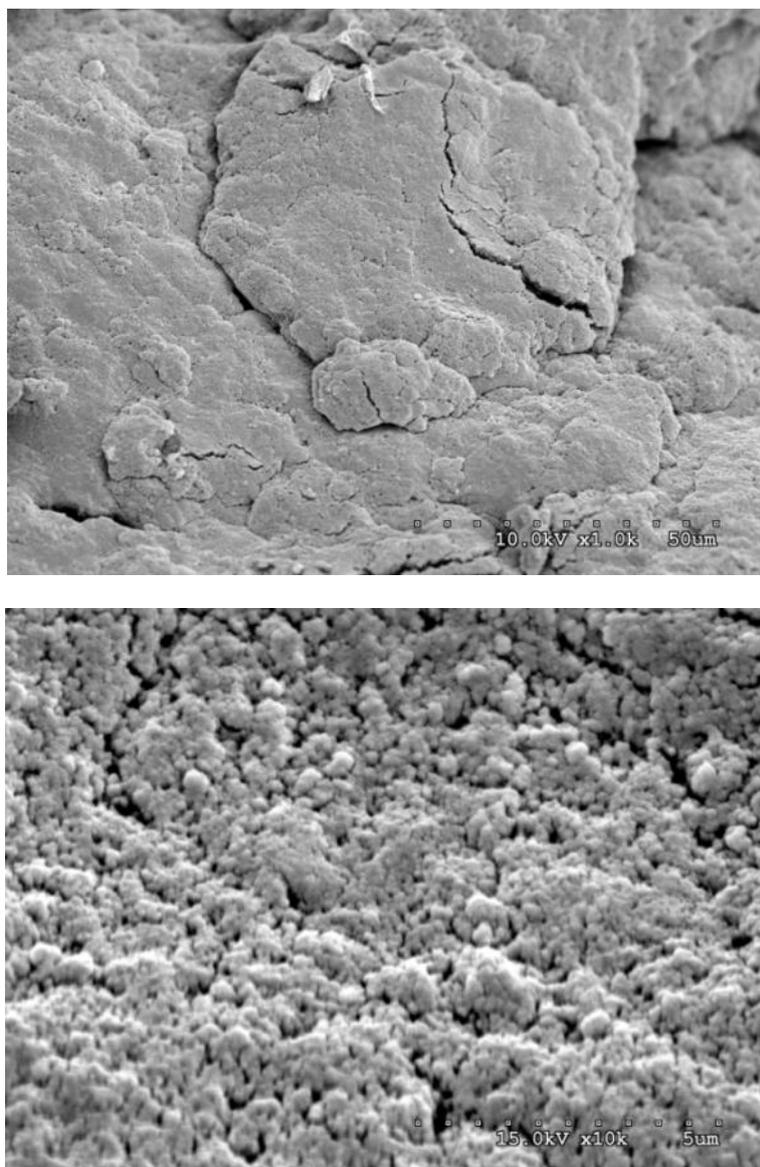


Figura 6.5: Las micrografías SEM de celulosa microfibrosa tratadas con [EMIM]Cl (15 min) y precipitada a temperatura alta de 135°C (muestra blanca).

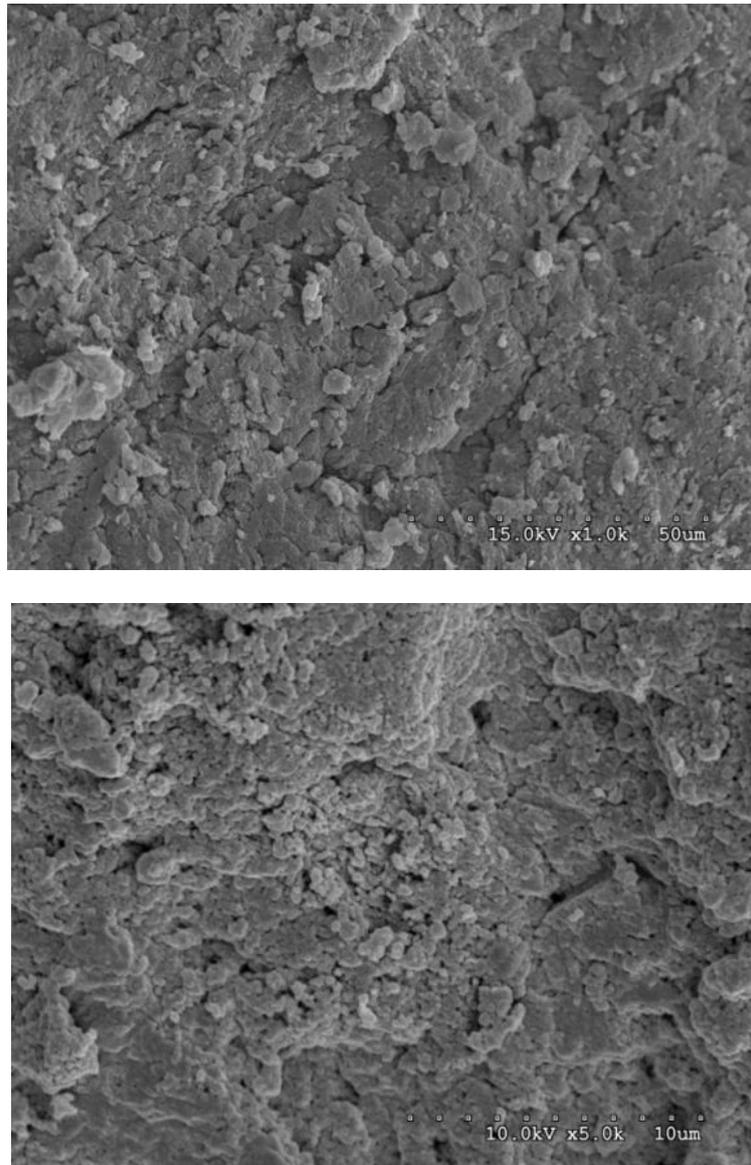


Figura 6.6: Las micrografías SEM de celulosa microgranular tratadas con [EMIM]Cl (15 min) y precipitada a temperatura alta de 135 °C(muestra blanco).

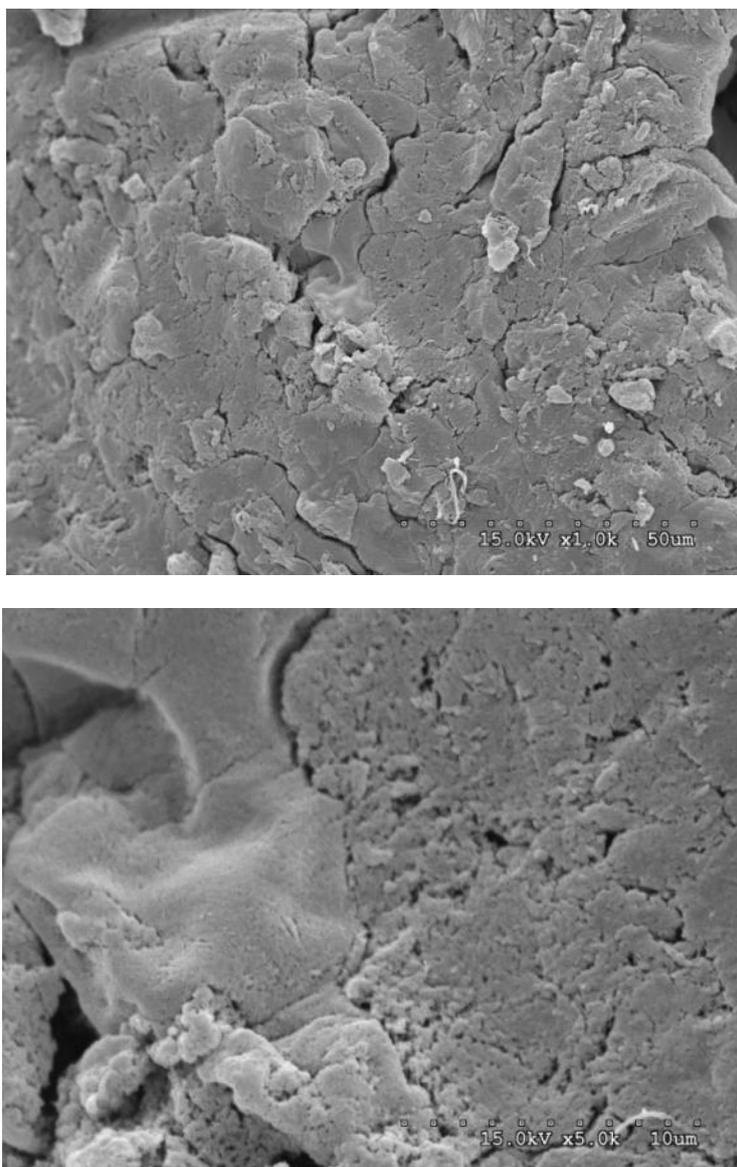


Figura 6.7: Las micrografías SEM de celulosa microfibrosa tratada con [EMIM]Cl (15 min) y precipitada a temperatura baja de 30 °C (muestra transparente).

Siguiendo los estudios de morfología de las celulosas disueltas en LI y reconstruidas se analizaron sus estructuras cristalinas tanto de las muestras de celulosa originales como de las tratadas por difracción de rayos X (Figura 6.8 a y b). El análisis detallado de las muestras de celulosa original se encuentra descrito en el capítulo 5 de esta memoria.

Los perfiles de difracción de rayos X muestran un pico prominente de celulosa a 23° que corresponde a la reflexión (200); otros dos picos de menos intensidad a 15° y 17° que son característicos de las reflexiones (110) y $(1\bar{1}0)$ respectivamente y un pico compuesto de varios que incluye la reflexión (004) a 34° [6, 7]. La intensidad de los picos es bastante alta, lo que indica una cristalinidad alta de las muestras. Estos picos de difracción desaparecen claramente después del tratamiento de disolución-precipitación (Figura 6.8 a y b). Únicamente se intuye un pico muy poco intenso a 22° después del tratamiento.

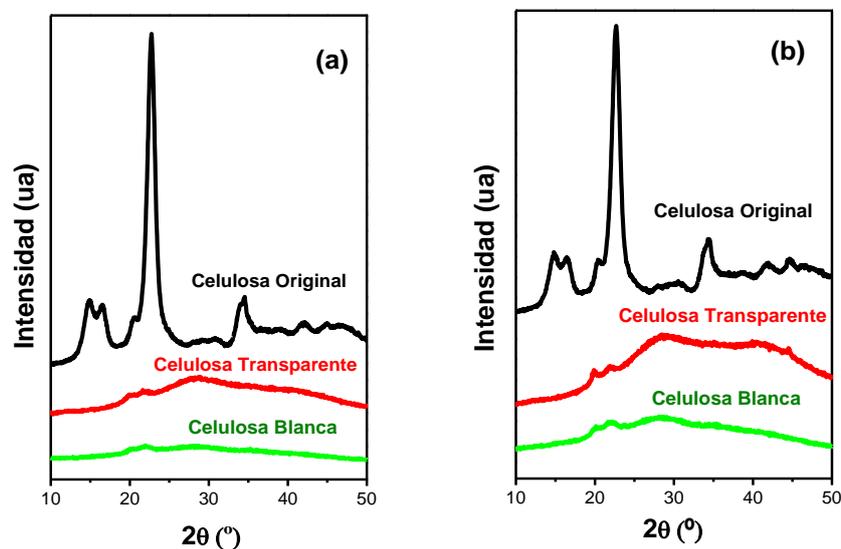


Figura 6.8: Difracción de rayos X de las muestras de celulosa tratada y sin tratar (original): (a) Celulosas microfibrosas y (b) Celulosas microgranulares.

6.2.3. Hidrólisis de la celulosa

A continuación se estudió la influencia del tratamiento en las reacciones de hidrólisis ácida de celulosa, comparando los resultados de las muestras originales y las sometidas a tratamientos de disolución-precipitación con LIs. El objetivo de este proceso es maximizar la producción de azúcares, y por lo tanto siguiendo el trabajo realizado en capítulos anteriores se probaron la muestras tratadas en la reacción de hidrólisis con ácidos diluidos y a unas condiciones de reacción suaves y así de esta forma maximizar el rendimiento a azúcares disminuyendo la formación de los productos de deshidratación tales como el ácido levulínico [2] (Figura 6.9). El 5-HMF, es un producto secundario de la glucosa que se puede producir en la hidrólisis de celulosa. A lo largo de este capítulo no se va a prestar mucha atención al rendimiento a 5-HMF porque como ya se ha indicado previamente su concentración en el medio de reacción es muy baja.

En este sentido, se estudiaron los diferentes efectos que pueden influir en la obtención del rendimiento a azúcares como son; el tipo de celulosa empleada, procedimiento de precipitación, tipo Líquido Iónico y fuerza del catalizador ácido.

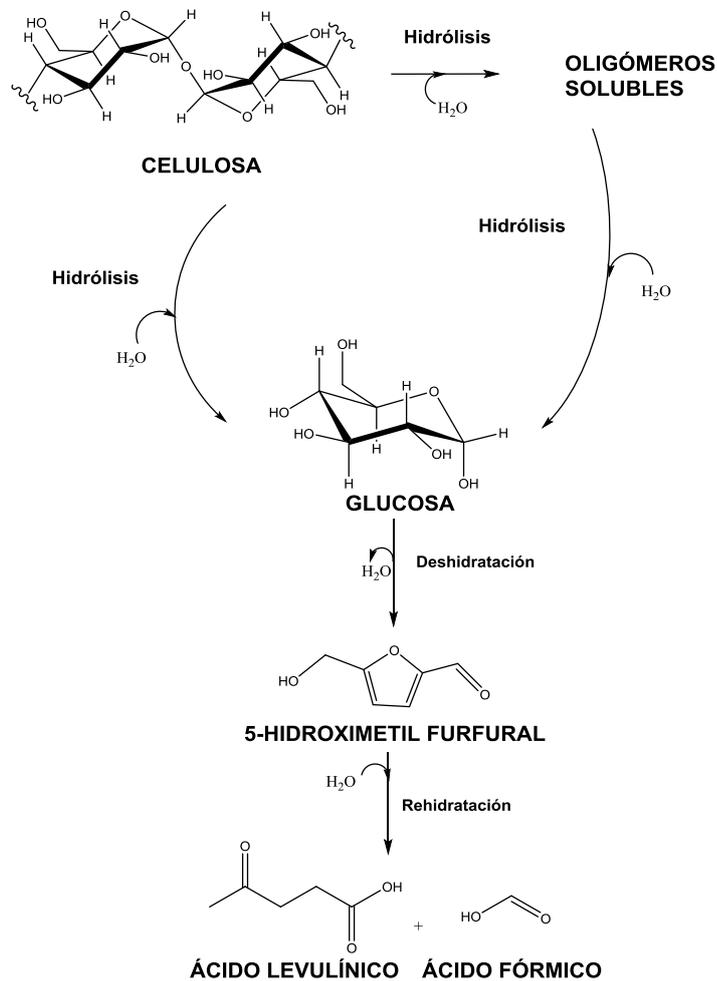


Figura 6.9: Los productos formados por las reacciones catalizadas por ácido a partir de celulosa. Esquema adaptado de Rinaldi y cols. [8].

6.2.4. Efecto del tipo de celulosa

Se estudió la obtención de azúcares con los diferentes tipos de celulosas comerciales que se habían tratado (microfibrosa y microgranular). La temperatura de reacción se fijó en 140 °C y una concentración de 0,2 mol/L de

ácido sulfúrico como catalizador ácido homogéneo [2]. Estas condiciones de reacción son las que se encontraron como óptimas para maximizar la obtención de glucosa minimizando la formación de productos secundarios (ver capítulo 5 de esta memoria).

El rendimiento a glucosa de las muestras originales no tratadas es bajo, como cabría esperar, con independencia de la celulosa utilizada (Figura 6.10), obteniéndose una cantidad de sólido sin reaccionar alta que corresponden a unas conversiones de celulosa entre 22-18% (Tabla 6.1). Sin embargo, si se hace un análisis más profundo de los resultados, la hidrólisis de la muestra microgranular es más eficiente que la de la microfibrosa. Este hallazgo es consistente con los resultados obtenidos por difracción de rayos X y SEM que mostraron una mayor cristalinidad y fibras más largas para la muestra microfibrosa. De igual manera, los cálculos del índice de cristalinidad obtenidos en el capítulo 5 (apartado 5.2.4), también nos mostraban una mayor cristalinidad de la celulosa microfibrosa que de la microgranular.

Estas características hacen que la celulosa microfibrosa sin tratar sea algo más difícil de hidrolizar por tener un orden superior de cristalinidad, es decir, una mayor cristalinidad y unas fibras más largas que impiden la capacidad de los iones H^+ para llegar a los enlaces (1,4)- β -glicosídicos, por lo que este hecho podría estar inhibiendo la reacción de hidrólisis [9] obteniendo peores resultados en la celulosa microfibrilar que en la microgranular.

Hidrólisis Química de Celulosa y Biomasa por Tratamiento con LIs

Tabla 6.1: La hidrólisis de celulosa usando H_2SO_4 como catalizador ácido (0,2 mol/L) a 140 °C durante 2 h.

Catalizador	Tipo de Celulosa	Coverción Celulosa Original (%)	Coverción Celulosa Tratada (%)
H_2SO_4	Microfibrosa	22	86
H_2SO_4	Microgranular	18	84

Los resultados de reacción de las muestras sometidas a un tratamiento de disolución-precipitación con LIs son muy diferentes a los observados con las muestras originales. Se puede observar que hay un aumento muy grande en el rendimiento a glucosa (Figura 6.10 (a)) y de la conversión a celulosa (Tabla 6.1) en la hidrólisis de muestras tratadas con respecto a las muestras sin tratar. El aumento del rendimiento a glucosa, se debe a que las muestras tratadas han sufrido una desestructuración en la etapa de disolución-precipitación, como indica la caracterización físico-química. La celulosa tratada es más porosa y sin una estructura rígida lo que permite de forma más fácil el acceso del catalizador ácido a β -(1,4)-D-glicosídicos, permitiendo que se produzca una hidrólisis ácida más efectiva. Este comportamiento es muy similar para los dos tipos de celulosa empleados (microgranular y microfibrosa) pero el rendimiento de la glucosa es mayor para la muestra microgranular tratada que para la fibrosa. Estas diferencias se atribuyen a las diferencias texturales de la superficie observadas por SEM, donde la muestra microgranular tratada con LI tiene un aspecto más poroso que la tratada microfibrosa (Figura 6.5 y 6.6).

El rendimiento a ácido levulínico de las muestras no tratadas es pequeño, no superando el 2%. Las muestras tratadas presenta un rendimiento ligeramente mayor, pero en todo caso el rendimiento a ácido levulínico es bastante bajo para todas las muestras estudiadas (Figura 6.10). El orden de

rendimiento a ácido levulínico es el mismo que el observado con el rendimiento a glucosa. Este hecho ya ha sido visto y explicado en otros estudios a lo largo de esta memoria en donde se veía como se dan las reacciones consecutivas de deshidratación y rehidratación de la glucosa a ácido levulínico (Figura 6.9).

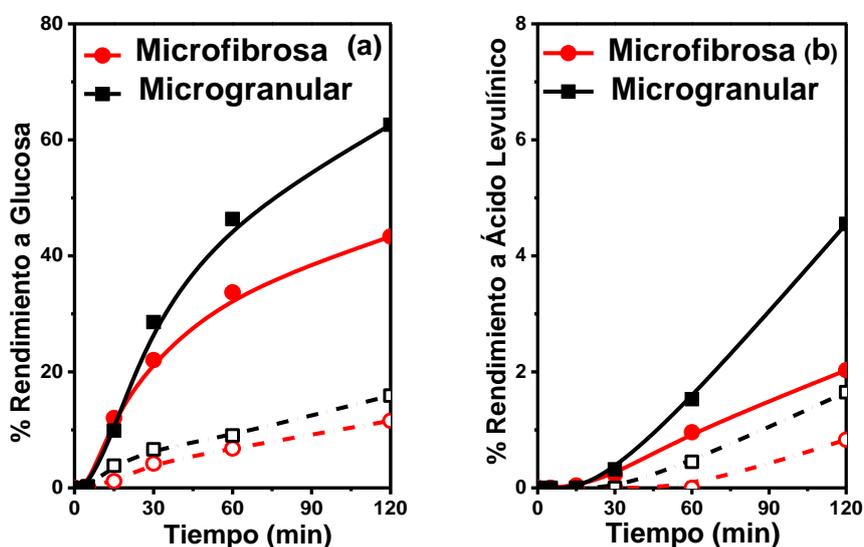


Figura 6.10: Rendimientos a glucosa (a) y ácido levulínico (b) durante la hidrólisis de celulosas microfibrósos y microgranulares sin tratar (símbolos vacíos) y tratada (símbolos llenos) con [EMIM]Cl. En las condiciones de 0,2 mol/L de H_2SO_4 a 140 °C.

6.2.5. Efecto del procedimiento de precipitación

Se estudió la hidrólisis de las dos celulosas microfibrosa (blanca y transparente) tratadas y precipitadas con la adición de agua a diferente temperatura. La muestra de celulosa blanca se obtuvo cuando se añadió agua

Hidrólisis Química de Celulosa y Biomasa por Tratamiento con LIs

a temperatura ambiente a la fase de celulosa/LI a temperatura alta (135°C), mientras que la celulosa transparente se obtuvo cuando primeramente se enfrió la fase celulosa/LI a temperatura entre 25 - 30°C y seguidamente se añadió el agua.

Los perfiles de rendimiento a glucosa durante la hidrólisis de estas dos muestras se presentan en la Figura 6.11. A modo de comparación, también se incluyen las curvas de la celulosa original sin tratar. Tanto las velocidades de hidrólisis iniciales como la medida de los rendimientos de glucosa son mucho más altos para las muestras de celulosa que han sido preparados por el procedimiento de disolución-precipitación. Por otro lado, el rendimiento a glucosa a los 300 min de reacción, es algo mayor para la celulosa blanca que para la transparente aunque durante las dos primeras horas de reacción no se ven diferencias en estos rendimientos. La conversión de las celulosas tratadas es mayor que la de la muestra de celulosa original sin tratar, pasando de una conversión a celulosas sin tratar del 21 % hasta un 70 % (cel. transparente) y 76 % (cel. blanca) para las muestras tratadas.

La diferencia de la reactividad frente a la hidrólisis de las dos muestras tratadas (blanca y transparente) se puede atribuir a las pequeñas diferencias en la morfología encontradas en la caracterización. Las micrografías SEM (Figura 6.5 y Figura 6.7) demuestran que la muestra de celulosa blanca tiene una ligera mayor porosidad que la transparente, y de esta forma se favorece la accesibilidad del catalizador ácido a los enlaces a hidrolizar, siendo este un factor crítico para la reacción de hidrólisis. En vista de estos resultados se seleccionó la celulosa blanca para el resto de los estudios.

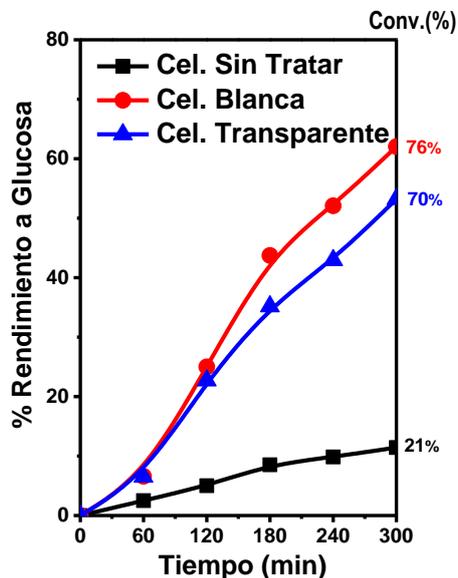


Figura 6.11: Hidrólisis de las muestras de celulosa sin tratar y tratadas con [EMIM]Cl con H_2SO_4 (0,1 mol/L) a 140 °C.

6.2.6. Efecto del tipo Líquido Iónico

Se estudió el efecto del tipo de líquido iónico utilizado para el tratamiento de disolución/precipitación de la celulosa en la reacción de hidrólisis. Se utilizaron tres sales de imidazolio (disolventes muy buenos de la celulosa) diferentes: cloruro de 1-etil-3-metilimidazolio [EMIM]Cl, cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio [BMIM]Cl y acetato-3-metilimidazolio 1-etil [EMIM]Ac. El [EMIM]Ac es más inerte hacia la hidrólisis de celulosa, mientras que las sales de cloruro son conocidas por ser ligeramente ácidas [10].

Los resultados de reacción indican claramente que el rendimiento de la glucosa fue mayor para todas las muestras tratadas con LI que la muestra original. Sin embargo, se observan algunas diferencias dependiendo del IL utilizado. El rendimiento a glucosa es mayor para las celulosas tratadas con

los LI con anión cloruro con respecto a la celulosa tratadas con el LI con anión acetato (Figura 6.12 (a)). Se observó un efecto similar en el rendimiento a ácido levulínico (Figura 6.12 (b)).

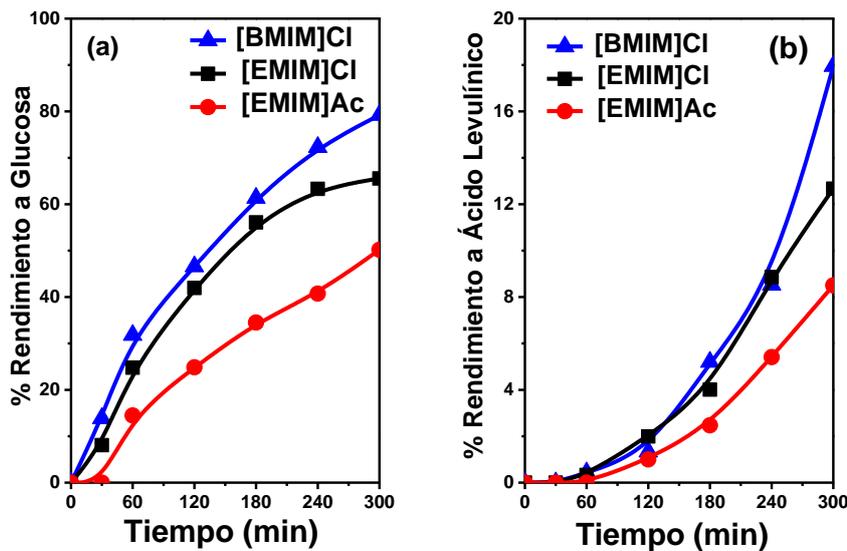


Figura 6.12: Hidrólisis de la celulosa microfibrosa tratada (cel. blanca) en diferentes LIs ([EMIM]Cl, [BMIM]Cl, [EMIM]Ac) con H_2SO_4 (0,2 mol/L) a 140 °C durante 5 h.

Las diferencias entre la utilización de los diferentes LIs en la hidrólisis se hicieron más evidentes cuando se compara la conversión a celulosa (Tabla 6.2). La conversión es claramente mayor para las muestras tratadas con LIs con anión cloruro donde ya a las primeras 2 h de reacción se ven las diferencias, obteniendo un 78 % y alcanzando más de un 95 % a las 5 h de reacción, mientras que para las muestras tratadas con el [EMIM]Ac, la conversión es del 36% a las 2 horas y 63% a las 5h de reacción.

Tabla 6.2: Hidrólisis de la celulosa utilizando diferentes LIs en el tratamiento. Condiciones de reacción: H_2SO_4 (0,2 mol/L), temperatura de 140 °C y tiempo de 2 y 5 h.

Líquido Iónico	% Conversión de Celulosa Blanca (2 h)	% Conversión de Celulosa Blanca (5 h)
[BMIM]Cl	78	97
[EMIM]Cl	78	99
[EMIM]Ac	36	63

Este comportamiento se atribuye a la acidez de los líquidos iónicos con anión cloruro, lo que resulta que ya se produce una pre-hidrólisis de la celulosa durante el tratamiento de disolución-precipitación. El rendimiento a glucosa es menor para la celulosa tratada con [EMIM]Ac (Figura 6.12). Sin embargo, en este caso, la proporción de glucosa/ácido levulínico es mayor que la proporción obtenida cuando utilizamos los otros dos LIs. Otra ventaja de la utilización del [EMIM]Ac, es la ausencia de iones cloruro, lo que hace que el proceso se mejore ya que evita la corrosión producida por los cloruros y en caso que una parte del LI continúe aguas abajo no inhibe los procesos aguas abajo tales como la fermentación de los azúcares.

6.2.7. Influencia de la fuerza del catalizador ácido

Se estudió el efecto de la fuerza ácida del catalizador en la hidrólisis de la celulosa tratada por el método de disolución-precipitación (utilizando [EMIM]Cl) con diferentes ácidos como: p-TSA, H_2SO_4 y $H_3PW_{12}O_{40}$ todos ellos tienen una gran fuerza ácida, y ya es bien sabido que es necesaria para el estudio en la obtención de azúcares de una manera eficiente en la hidrólisis de los enlaces (1-4)- β -glicosídicos [11]. El número de protones ácidos liberados

Hidrólisis Química de Celulosa y Biomasa por Tratamiento con LIs

por estos ácidos depende del ácido utilizado. En el caso del H_2SO_4 , solamente se considera un protón ácido porque menos de 1 % de los iones del bisulfato se disocia en las condiciones empleadas para la hidrólisis de la celulosa, por lo tanto, solo se considera que el primer protón del H_2SO_4 es relevante [9]. Del mismo modo, en el caso del p-TSA solo se considera un protón ácido ya que solo tiene uno. Sin embargo, en el caso del ácido fosfowolfrámico, los tres protones se liberan en el medio de reacción. Para mantener la misma cantidad de protones liberados del catalizador ácido empleado se ha añadido la misma concentración de ácido en los casos del p-TSA y H_2SO_4 , mientras que en con el $H_3PW_{12}O_{40}$ se utilizó una concentración tres veces menor.

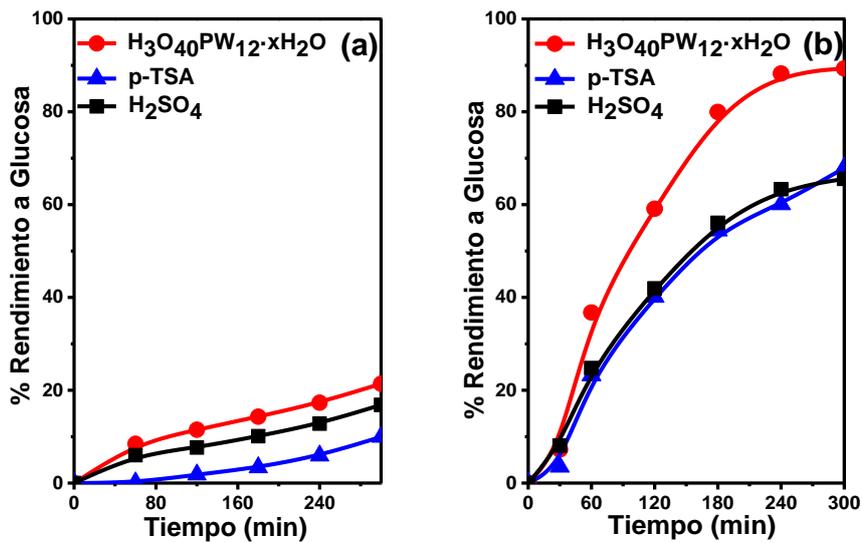


Figura 6.13: Rendimiento a glucosa a partir de la hidrólisis de la celulosa con H_2SO_4 , p-TSA (0,2 mol/L) y $H_3PW_{12}O_{40}$ (0,067 mol/L) a 140 °C: (a) celulosa sin tratar; (b) la celulosa tratada con [EMIM]Cl.

En la Figura 6.13(a), se puede ver que el rendimiento a glucosa en la hidrólisis de la celulosa microfibrosa no tratada es muy bajo independientemente del ácido utilizado. El mayor rendimiento a glucosa llega a un 20 % después de 5 horas de reacción cuando se utiliza el ácido fosfowolfrámico. Y además la cantidad de sólido sin reaccionar es bastante alta en todos los catalizadores (

Tabla 6.3), obteniendo unas conversiones de celulosa del orden de 24-25 %.

Tabla 6.3: Hidrólisis de la celulosa en presencia de diferentes catalizadores ácidos homogéneos a 140 °C y 5 h de reacción.

Catalizador Ácido	Concentración del Catalizador (mol/L)	Conversión Celulosa Original (%)	Conversión Celulosa Tratada (%)
H ₃ PW ₁₂ O ₄₀ ·xH ₂ O	0.067	24	98
*p-TSA ⁽¹⁾	0.20	24	99
H ₂ SO ₄	0.20	25	99

⁽¹⁾p-TSA: ácido para-toluenesulfónico

Por el contrario, cuando la celulosa se trata con LI y se hidroliza en las mismas condiciones experimentales, se produce un incremento drástico en el rendimiento a glucosa (Figura 6.13 (b)). En el caso de los ácidos p-TSA y H₂SO₄, el perfil del rendimiento es prácticamente el mismo llegando a rendimientos a glucosa del 70 % después de 5 h. La conversión de celulosa es muy alta en todos los casos, aproximadamente del 99 % tan solo después de 5 horas de reacción (

Hidrólisis Química de Celulosa y Biomasa por Tratamiento con LIs

Tabla 6.3). El ácido $\text{H}_3\text{O}_{40}\text{PW}_{12}$ exhibió un excelente rendimiento en la hidrólisis de la celulosa, lo que lleva a la conversión de más de 98% de la celulosa de partida y a un rendimiento de glucosa de aproximadamente 90% en sólo 5 h de tiempo de reacción.

Una comparación del perfil de rendimiento a glucosa, muestra que la cantidad de glucosa aumenta con el aumento de la fuerza del ácido producido. El rendimiento a glucosa producida sigue el orden: $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}\cdot x\text{H}_2\text{O} > \text{H}_2\text{SO}_4 > \text{p-TSA}$.

El rendimiento a ácido levulínico obtenido fue muy bajo (<2,5%) en todos los experimentos que implicaban celulosa sin tratar (Figura 6.14 (a)), aunque se observaron pequeñas diferencias en el rendimiento a ácido levulínico entre los ácidos empleados. Cuando se analiza el rendimiento a ácido levulínico en las muestras de celulosa tratada (Figura 6.14 (b)) se ve que el rendimiento aumenta. Este hecho es debido a que hay presente en el medio de reacción una mayor concentración de glucosa y el ácido levulínico se forma a partir de la glucosa como producto secundario (Figura 6.9). Este aumento se produce para los tres ácidos empleados, sin embargo, la relación de glucosa/ácido levulínico aparece algo mayor para H_2SO_4 que para $\text{H}_3\text{O}_{40}\text{PW}_{12}\cdot x\text{H}_2\text{O}$ y p-TSA. Esta observación indica que el ácido sulfúrico presenta una mayor capacidad deshidratante que los otros ácidos estudiados. Teniendo en cuenta el rendimiento de la glucosa y la relación glucosa/ácido levulínico, el catalizador más adecuado entre los investigados para la hidrólisis de la celulosa es el ácido fosfowolfrámico.

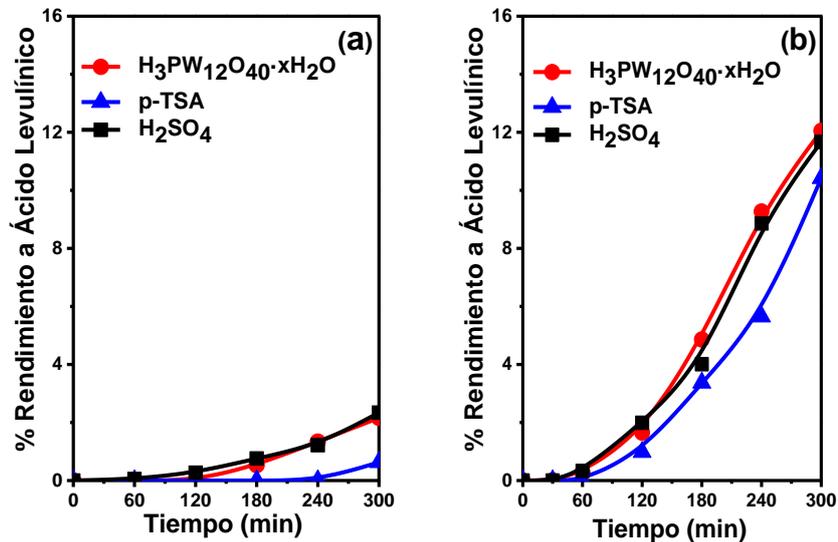


Figura 6.14: Rendimiento a ácido levulínico en la hidrólisis de la celulosa con H_2SO_4 , p -TSA (0,2 mol/L) y $H_3PW_{12}O_{40} \cdot xH_2O$ (0,067 mol/L) a 140 °C: (a) celulosa sin tratar; (b) celulosa tratada con [EMIM]Cl.

6.2.8. Total Azúcares Reductores (TRS) en aguas de lavado

El estudio de las reacciones anteriores se completó midiendo el total de azúcares reductores que se pudieran perder en las aguas de lavado, después de la precipitación de la celulosa en agua. Los resultados recopilados en el capítulo 4 (apartado 4.2.1) de esta memoria, durante la disolución de la celulosa con líquidos iónicos por largos periodos de tiempo se puede dar la hidrólisis de celulosa, por lo que es de vital importancia comprobar que cantidad de esos azúcares se pierden en las aguas de lavado tras la precipitación de la celulosa en el agua.

El estudio se llevó a cabo con las dos formas de precipitación que se han presentado en este trabajo. Se hizo el análisis de los TRS en la celulosa

Hidrólisis Química de Celulosa y Biomasa por Tratamiento con LIs

precipitada a temperatura alta (celulosa blanca) y de la celulosa precipitada después de dejar enfriar (celulosa transparente). El método que se llevó a cabo para su estudio fue mediante el sucesivo lavado y recogida del agua en varios ciclos. Los datos se recogen en la siguiente Tabla 6.7.

Tabla 6.4: Análisis TRS de las aguas de lavado después de la precipitación de la celulosa (blanca y transparente).

Muestra	Lavados	Conc. (g/L) TRS	Masa Recuperada (g)	% Azucares Perdidos
Celulosa Blanca	Filtración	0,40	0,014	3,8
	1º	0,00	0,000	0,0
	2º	0,00	0,000	0,0
	3º	0,00	0,000	0,0
Celulosa Transparente	Filtración	0,10	0,004	0,7
	1º	0,00	0,000	0,0
	2º	0,00	0,000	0,0
	3º	0,00	0,000	0,0

El % de azucares perdidos en la disolución con [EMIM]Cl es muy bajo en ambas muestras aunque cabe destacar el caso de la celulosa blanca donde los valores son ligeramente mayores. Por tanto se puede decir que estos resultados nos muestran que prácticamente en 15 min de disolución en [EMIM]Cl a 135 °C, no se pierde prácticamente nada de azucares y por tanto no se produce hidrólisis de la celulosa.

6.2.9. Recuperación del LI en las aguas de lavado

Los líquidos iónicos son compuestos muy caros y la completa recuperación de estos después de la disolución y precipitación de la celulosa

es un punto muy importante a tener en cuenta para que el proceso de hidrólisis sea rentable de cara a una aplicación en la industria. Por tanto, se realizaron estudios de recuperación del [EMIM]Cl en el procedimiento de disolución-precipitación. Para ello se procedió al sucesivo lavado y recogida en varios ciclos del agua con el LI disuelto y seguidamente se analizaron por HPLC (capítulo 3, apartado 3.3.4).

Tabla 6.5: Análisis por HPLC del LI ([EMIM]Cl) recuperado en las aguas de lavado después de la precipitación de la celulosa (blanca y transparente).

Muestra	Lavados	Conc. (g/l) HPLC	Masa Recuperada (g)	% Recuperado
Celulosa Blanca	Filtración	212,8	7,3	76,5
	1º	62,0	1,5	16,3
	2º	20,7	0,5	5,4
	3º	5,7	0,1	1,5
Celulosa Transparente	Filtración	206,4	7,1	73,7
	1º	63,8	1,6	16,6
	2º	24,4	0,6	6,4
	3º	9,4	0,2	2,4

Los datos que nos muestra la Tabla 6.5 representan el primer ciclo de filtración tras la precipitación de la celulosa y los tres sucesivos lavados. Tanto en la muestra de celulosa blanca como en la transparente, al final del último lavado, se ha recuperado el total del LI añadido en la disolución. En principio en los dos métodos de tratamiento se recupera el LI de una forma similar. Sin

embargo, hay que indicar que para recuperar el LI de la celulosa transparente se requiere de más tiempo de contacto del agua con el LI, mediante la agitación de la muestra, siendo más fácil y rápido recuperar el LI de la disolución de una celulosa blanca precipitada que de una transparente, aunque al final el LI recuperado se produce de similar manera.

6.3. Hidrólisis ácida de biomasa lignocelulósica tratada con LIs

6.3.1. *Modificación de la celulosa durante el tratamiento*

De igual manera que ocurría con la celulosa, cuando se disuelve una biomasa lignocelulósica en un líquido iónico y seguidamente se hace precipitar con un antidisolvente, se provocan importantes cambios morfológicos y de textura en la biomasa. En este caso se utilizó la paja de cebada anteriormente estudiada en el capítulo 4 de la memoria, y se empleó el [EMIM]Cl como disolvente, seguidamente se hizo precipitar por adición de agua a la temperatura de disolución (sin dejar enfriar la mezcla). Como se puede apreciar en la Figura 6.15, se ve que hay un aumento del volumen y una textura más esponjosa de la paja de cebada tratada (Figura 6.15 B) con respecto de la original (Figura 6.15 A). También se produce un ligero cambio de color a más oscuro cuando la paja de cebada es tratada, hay que tener en cuenta que la muestra está muy húmeda.

La paja de cebada es más difícil de disolver en líquido iónico que la celulosa por lo que se realizaron estudios de esta a diferentes tiempos de disolución a 15 min y 150 min. Se hizo una disolución en 15 minutos porque es el tiempo de disolución de la celulosa, y se hizo una a 150 min porque es el tiempo que se tarda en no detectar visualmente

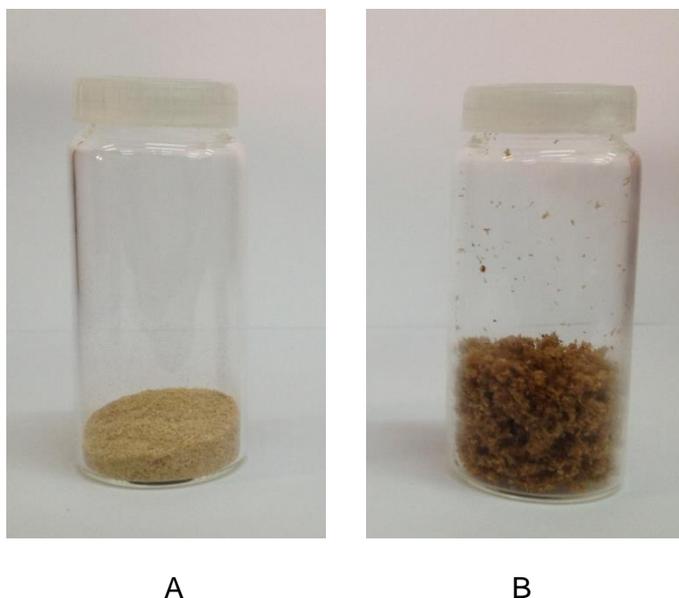


Figura 6.15: Paja de Cebada (A) sin tratar y (B) tratadas con LI 15 min ([EMIM]Cl).

6.3.2. Morfología de la biomasa tratada

Siguiendo la misma metodología que se tomó con la celulosa, la muestra de paja de cebada se examinó por microscopía electrónica (SEM). En las micrografías de las Figura 6.16, Figura 6.17 y Figura 6.18 se pueden ver grandes diferencias en la morfología entre la paja de cebada original y la tratada con líquido iónico después de diferentes tiempos de disolución en el LI, [EMIM]Cl. Después de 150 min la estructura inicial de la paja de cebada ha quedado completamente destruida.

En la Figura 6.16, se puede apreciar la estructura original de la paja de cebada utilizada para el tratamiento con LI y la posterior hidrólisis. Se puede ver la estructura lignocelulósica de la paja de cebada con la presencia de sus haces vasculares formando oquedades a lo largo de los pequeños trozos (0,250 μm).

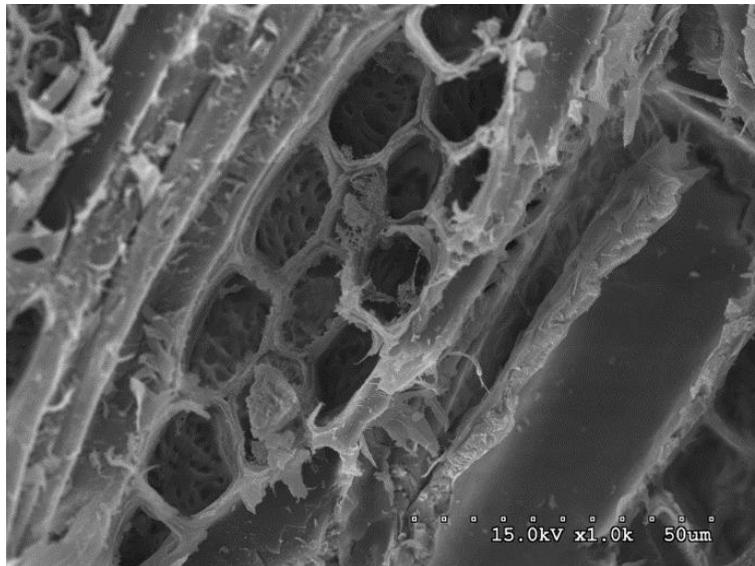
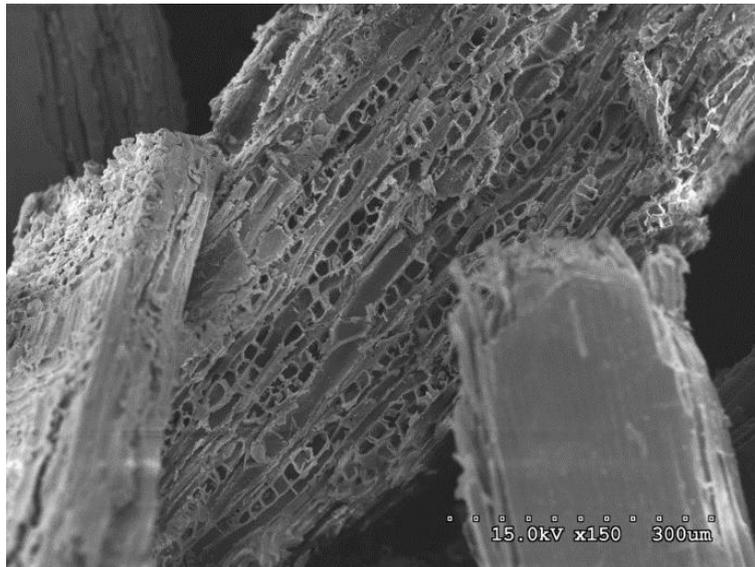


Figura 6.16: Las micrografías SEM de la paja de cebada sin tratar. El panel inferior muestra la misma paja de cebada a mayor aumento.

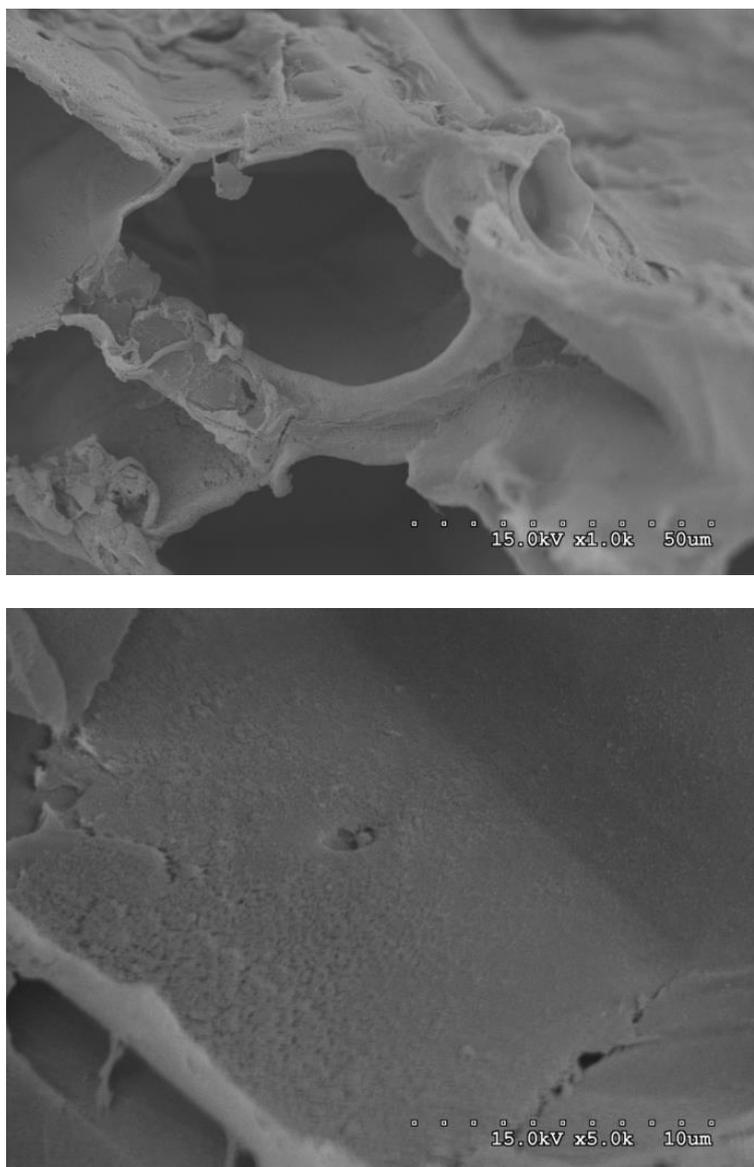


Figura 6.17: Las micrografías SEM de la paja de cebada tratadas con LI ([EMIM]Cl) durante 15 min. El panel inferior muestra la misma paja de cebada a mayor aumento.

Las muestras de pajas de cebada que se disolvieron parcialmente (Figura 6.17) durante solamente 15 min a 135 °C en [EMIM]Cl (condiciones empleadas con la celulosa), como la disolución fue parcial las micrográficas muestran que todavía no se ha perdido totalmente la estructura original de la paja de cebada, aunque tanto a baja magnificación como a mayor magnificación se puede apreciar una destrucción parcial en las superficies de estas estructuras aunque todavía se pueden ver los haces vasculares de la paja de cebada. Por tanto se puede decir que la estructura básica de la paja de cebada ha comenzado a romperse en los primeros 15 min.

Cuando el proceso de disolución se alargó a 150 min consiguiendo un mayor grado de disolución, es decir cuando no se apreció la presencia de sólidos en suspensión. Una vez que estas muestras se disolvieron en [EMIM]Cl y se precipitaron con agua, las micrográficas de la Figura 6.18 muestran una total destrucción de la estructura inicial al igual que ocurría con las fibras de celulosa anteriormente estudiadas.

En las micrográficas SEM de la Figura 6.18 con menor magnificación, se puede observar que la superficie es bastante lisa y homogénea pero cuando se observa esta superficie a mayor magnificación se ve que la superficie porosa al igual que ocurría con las muestras de celulosa (Figura 6.5, Figura 6.6, Figura 6.7). Esta destrucción de la estructura de la biomasa mediante la disolución con LIs ha sido observada por otros autores como Seema Singh y col. en el pasto (*Panicum virgatum*) [12] y otros tratamientos [13-15]

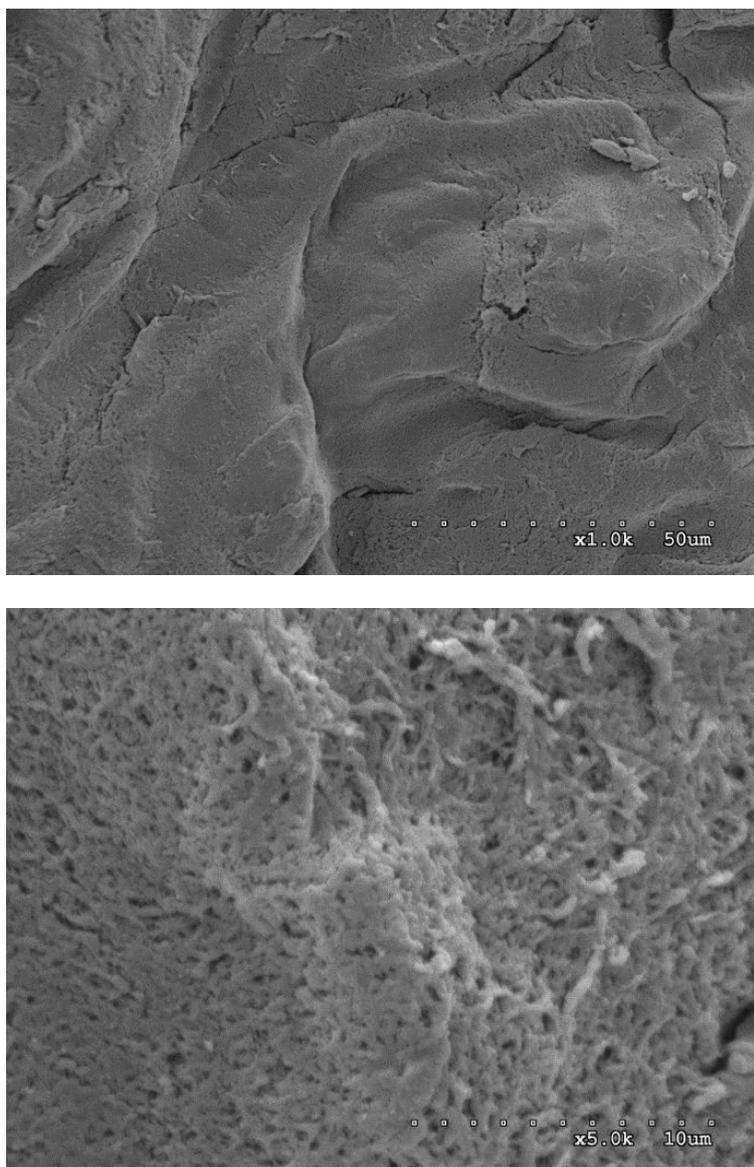


Figura 6.18: Las micrografías SEM de la paja de cebada tratadas con LI ([EMIM]Cl) durante 2:30h. El panel inferior muestra la misma paja de cebada a mayor aumento.

Hidrólisis Química de Celulosa y Biomasa por Tratamiento con LIs

La difracción de rayos X de las diferentes muestras tratadas y sin tratar de la paja de cebada, presentan un perfil que va cambiando según el tiempo de tratamiento con el LI (Figura 6.19). El difractograma de la paja de cebada sin tratar muestra picos más anchos y poco definidos que los de la celulosa, típico de una estructura menos ordenada. Solamente se muestra un pico prominente a 23° correspondiente a la reflexión (200) y un pico muy ancho entre $15-17^\circ$ que representan la combinación de las dos reflexiones correspondientes a (110) y ($1\bar{1}0$). La intensidad de los picos de difracción pierde mucha intensidad con los tratamientos de la muestra. La pérdida de intensidad de los picos de difracción es mucho mayor cuando la paja de cebada se sometió a disolución completa durante 150 min, en esta muestra prácticamente no se observan picos en la difracción, indicándonos una desaparición prácticamente total de su cristalinidad. Este estudio nos indica que la paja de cebada original presenta una cierta cristalinidad que pierde cuando se la somete al tratamiento con LI. Otros autores también han reportado este hecho en diferentes muestras de biomasa lignocelulósica tras tratar las muestras con LIs [16, 17]

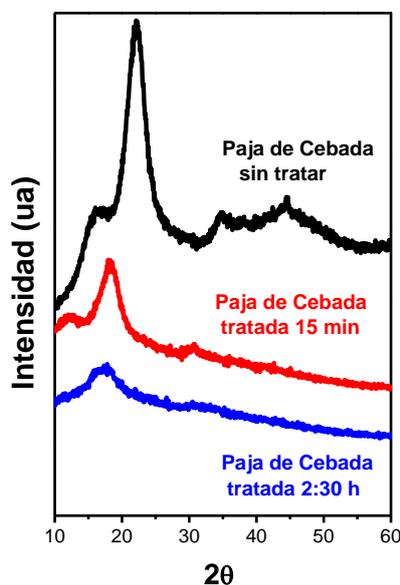


Figura 6.19: Difracción de rayos X de las muestras de paja de cebada tratada con [EMIM]Cl y sin tratar.

6.3.3. Hidrólisis de la biomasa

La reacción de hidrólisis ácida con la paja de cebada se llevó a cabo con las mismas condiciones de reacción que con la celulosa. Las muestras tanto tratadas como sin tratar se hidrolizaron a 140°C con H₂SO₄, en una concentración de 0,2 mol/L durante 2 horas. En las Figura 6.20 (a y b), se muestran los rendimientos a glucosa y ácido levulínico como producto secundario de reacción. La muestra sin tratar con LI presentó un rendimiento a glucosa muy bajo en torno al 15%. En el caso de la muestra disuelta en [EMIM]Cl durante 15 min se observó que el rendimiento a glucosa aumentaba ligeramente hasta alcanzar valores algo superiores 25%, sin embargo, con la

muestra tratada durante 2:30h se alcanzaron valores en torno al 75% de rendimiento a glucosa, lo que marcó una gran diferencia en la hidrólisis acida a azúcares (Figura 6.20 (a)).

Cuando analizamos el ácido levulínico obtenido en estas muestras, vemos que en todos los casos el rendimiento es bajo (Figura 6.20 (b)). Cabe destacar el caso de la muestra de paja de cebada sin tratar en el que se obtiene un rendimiento a ácido levulínico mayor al 8% siendo ligeramente superior al de las otras dos muestras tratadas que presenta rendimientos en torno al 6%.

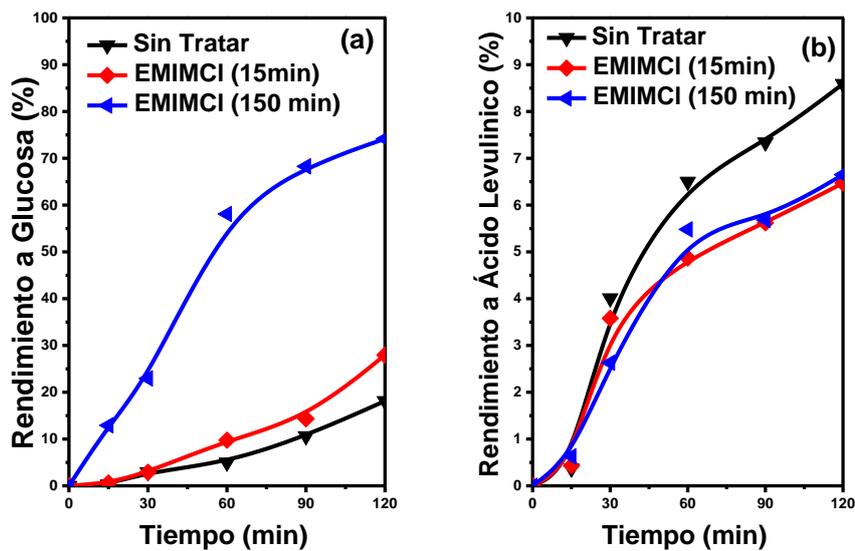


Figura 6.20: Rendimientos a (a) glucosa y a (a) ácido levulínico a partir de la hidrólisis de la paja de cebada con H_2SO_4 , (0,2 mol/L) a 140 °C sin tratar y tratada con [EMIM]Cl.

Este hecho ya se había visto en las muestras de celulosa. Cuando una muestra se hidroliza sin tratar con LI, es más difícil de romper los enlaces

(1,4)- β -glicosídicos de la celulosa y sus rendimientos a glucosa son mucho menores que cuando se hidrolizan muestras tratadas. Además, en presencia de un catalizador ácido, la glucosa que se va produciendo es más fácil que se descomponga dando lugar a un aumento del rendimiento del ácido levulínico.

Cuando se hidroliza biomasa, no solo hay celulosa para hidrolizar, sino que hay hemicelulosa la cual tiene como carbohidrato mayoritario la xilosa, que a su vez puede deshidratarse a furfural como producto secundario. En la Figura 6.21 se representa un esquema reducido de las reacciones consecutivas que se pueden producir en la hidrólisis de un polímero de xilosa para obtener el monómero y uno sus productos secundarios mayoritarios en la reacción objeto de estudio.

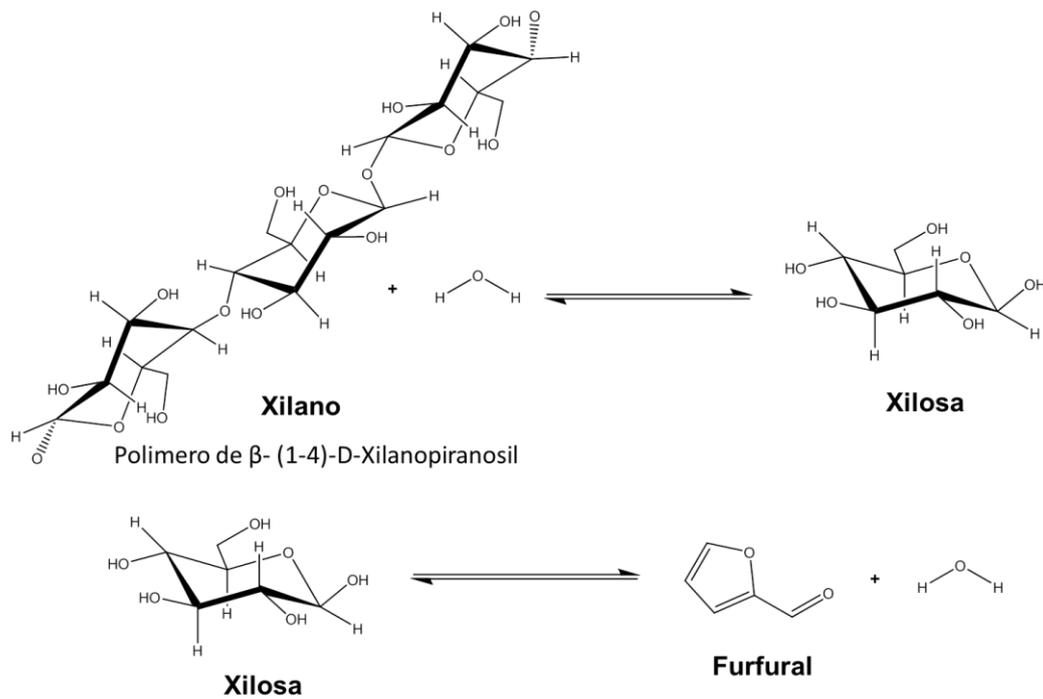


Figura 6.21: Esquema de las reacciones consecutivas en la hidrólisis del polímero β - (1-4)-D-Xilanopiranosil.

Al analizar los perfiles de rendimiento a xilosa y furfural de estas tres reacciones (Figura 6.22) vemos que en todos los casos se alcanza un máximo de rendimiento a xilosa en torno al 50% en la primera hora de reacción, a partir del cual este rendimiento comienza a disminuir. Este descenso es menos rápido en las muestras de paja de cebada sin tratar y la tratada durante solo 15 min obteniendo unos rendimientos a xilosa aproximadamente del 40% a las 2 horas de reacción, mientras que en el caso de la muestra tratada durante 2:30h el rendimiento a xilosa disminuye hasta el 30%.

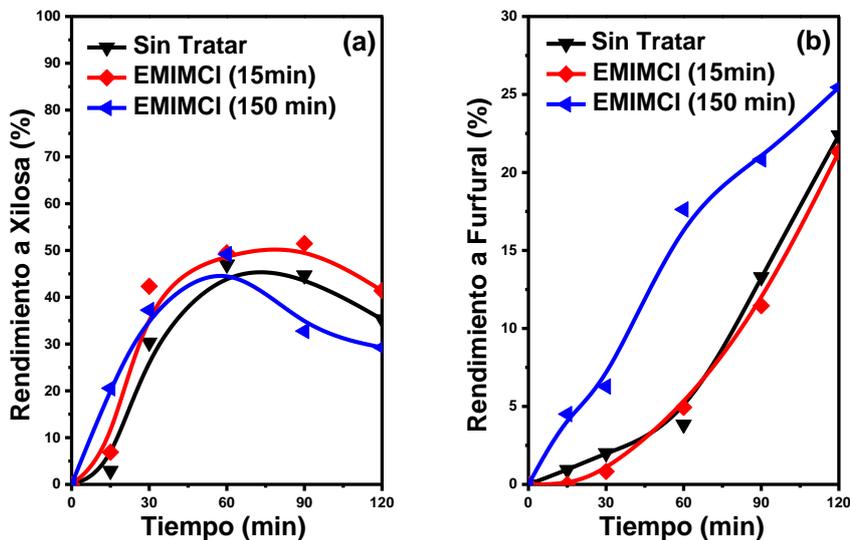


Figura 6.22: Rendimientos a (a) xilosa y a (a) furfural a partir de la hidrólisis de la paja de cebada con H_2SO_4 , (0,2 mol/L) a 140 °C sin tratar y tratada con [EMIM]Cl.

Si se analiza el rendimiento a furfural que se muestra en la Figura 6.22 (b), vemos que este aumenta en todos los casos y más rápidamente a partir de primera hora de reacción. En los casos de paja de cebada sin tratar y la tratada durante 15 min, el rendimiento a furfural llega a sobrepasar el 20% y

en la muestra tratada durante 2:30h sobrepasa el 25% después de las dos horas de reacción.

El hecho de que la xilosa alcance un máximo en rendimiento mucho más rápido que la glucosa es lógico ya que es bien sabido que la hemicelulosa es más fácil de hidrolizar que la celulosa [1, 18-21]. De la misma manera que al estar el monómero más tiempo en contacto con un catalizador ácido en el medio, este comience a deshidratarse y pasar a furfural más rápidamente.

Las conversiones obtenidas en estas reacciones se muestran en la Tabla 6.6, donde se puede observar que las muestras tratadas con LI, obtienen unas conversiones mayores del 75% en la tratada durante 15 min y de 81% en la tratada durante 2:30 mientras que la muestras sin tratar solamente llega a un 57% de conversión tras 2 horas de reacción. Lo que nos vuelve a demostrar que las muestra que han sido previamente tratadas con LI son más fáciles de hidrolizar y presentan mejores rendimientos a azucares.

Tabla 6.6: Hidrólisis de la paja de cebada tratada con [EMIM]Cl a diferentes tiempos de disolución. Condiciones de reacción: H_2SO_4 (0,2 mol/L), temperatura de 140 °C y tiempo de reacción de 2 h.

Muestras de Paja de Cebada	% Conversión de Paja de Cebada (2 h)
Sin tratar	57
[EMIM]Cl (15 min)	75
[EMIM]Cl (150 min)	81

Para completar los anteriores resultados, analizamos los datos obtenidos de las muestras a partir de las medidas realizadas por el método TRS (total azucares reductores) anteriormente descrito en el capítulo 3 de esta

Hidrólisis Química de Celulosa y Biomasa por Tratamiento con LIs

tesis. Este procedimiento de análisis nos muestra el total de azúcares solubles que tenemos en el medio, ya sea en forma monomérica como oligomérica. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 6.7, donde se puede ver que la muestra tratada durante 150 min presenta unos valores de concentración mayores a las otras dos muestras (2,4 g/L). Si estos valores los comparamos con los obtenidos de concentración por cromatografía, se puede decir que son comparables. El rendimiento y selectividad es esta muestra superan en más de un 20% a los rendimientos y selectividades obtenidos en las otras muestras. Las concentraciones de las otras dos muestras son prácticamente iguales con la diferencia que el rendimiento a azucares para la muestra tratada durante 15 min es mayor.

Tabla 6.7: Medidas de TRS en las muestras la paja de cebada sin tratar y tratada con [EMIM]Cl a diferentes tiempos de disolución después de su hidrólisis. Condiciones de reacción: H_2SO_4 (0,2 mol/L), temperatura de 140 °C y tiempo de reacción de 2 h.

Muestras de Cebada	Conc. (g/L) TRS	% Rendimiento a azucares	% Selectividad a azucares reductores	Conc. total de azucares monoméricos (g/L) HPLC
Sin tratar	1,7	22	38	1,9
[EMIM]Cl (15 min)	1,8	32	38	1,9
[EMIM]Cl (150 min)	2,3	54	62	2,4

6.3.4. Hidrólisis ácida de diferentes biomásas lignocelulósicas tratadas con [EMIM]Cl

Se siguió el estudio con diferentes biomásas lignocelulósicas utilizando las mismas condiciones de disolución e hidrólisis. Para ello se disolvieron una muestra de paja de trigo y otra de ramón de olivo durante 150 min con [EMIM]Cl y tras la precipitación en agua, se hidrolizaron con H₂SO₄ (0,2 mol/L) a 140 °C durante 2 h de reacción. Finalmente se compararon con los datos obtenidos con la paja de cebada que han sido objeto de estudio en el anterior apartado.

En la Tabla 6.8 se muestran los datos de las medidas de TRS que se obtuvieron al final de la reacción. En el caso de la paja de cebada y la paja de trigo los resultados obtenidos son muy parecidos, obteniendo 2,3 y 2,4 g/L, este resultado es lógico puesto que la composición química de estas dos muestras es muy parecido (ver capítulo 3 apartado 3.1 de esta memoria). Igualmente sus conversiones (mayor del 80 %), rendimientos a azúcares (entre 54 – 56 %) y selectividad a azúcares reductores (entre 62 – 65 %) son muy parecidas entre sí. Los resultados de la muestra de ramón de olivo da lugar a unos resultados diferentes se observan unos valores de conversión menores que con las muestras de paja (72 %) y el contenido de azúcares reductores es también más bajo (0,7 g/L). Este efecto está relacionado con la diferencia de composición de la muestra de ramón de olivo respecto a las muestras de paja. El ramón de olivo tiene un contenido de polisacáridos hidrolizables claramente más bajo (43 % de celulosa + hemicelulosa) que las muestras de paja de cebada y paja de trigo (60 % de celulosa + hemicelulosa), mientras que en el lignina ocurre lo contrario. Esta diferencia de composición podría ser la causa de la diferencia de los resultados obtenidos en la hidrólisis, en primer lugar, la cantidad máxima de azúcares reductores en disolución será

Hidrólisis Química de Celulosa y Biomasa por Tratamiento con LIs

más bajo en el ramón de olivo que en las muestras de paja, y en segundo lugar la presencia de lignina dificulta la hidrólisis de los polisacáridos [22].

Tabla 6.8: Medidas de TRS en diferentes muestras de biomasa lignocelulósica tratada con [EMIM]Cl durante 150 min. Condiciones de reacción: H_2SO_4 (0,2 mol/L), temperatura de 140 °C y tiempo de reacción de 2 h.

Muestras	% Conversión	TRS (g/L)	% Rendimiento azúcares	% Selectividad a azúcares reductores
Paja de Cebada	81	2,3	54	62
Paja de Trigo	86	2,4	56	65
Ramón de Olivo	72	0,7	25	45

6.4. Bibliografía

- [1] S. Morales-Delarosa, J.M. Campos-Martin, Catalytic processes and catalyst development in biorefining, in: *Advances in Biorefineries: Biomass and Waste Supply Chain Exploitation*, Elsevier Ltd., 2014, pp. 152-198.
- [2] S. Morales-delaRosa, J.M. Campos-Martin, J.L.G. Fierro, Optimization of the process of chemical hydrolysis of cellulose to glucose, *Cellulose*, (2014) DOI: 10.1007/s10570-10014-10280-10579.
- [3] S. Morales de la Rosa, J.L. García Fierro, J.M. Campos-Martín, Method for the hydrolysis of lignocellulosic biomass, in: *WO2015/004296*, Consejo Superior Investigaciones Científicas, 2015.
- [4] K.M. Gupta, Z. Hu, J. Jiang, Cellulose regeneration from a cellulose/ionic liquid mixture: the role of anti-solvents, *RSC Advances*, 3 (2013) 12794.
- [5] J.M. Felix, P. Gatenholm, Nature of adhesion in composites of modified cellulose fibers and polypropylene, *J. Appl. Polym. Sci.*, 42 (1991) 609-620.
- [6] Y. Nishiyama, G. Johnson, A. French, Diffraction from nonperiodic models of cellulose crystals, *Cellulose*, 19 (2012) 319-336.
- [7] A. French, M. Santiago Cintrón, Cellulose polymorphy, crystallite size, and the Segal Crystallinity Index, *Cellulose*, 20 (2013) 583-588.

- [8] R. Rinaldi, N. Meine, J. vom Stein, R. Palkovits, F. Schuth, Which controls the depolymerization of cellulose in ionic liquids: the solid acid catalyst or cellulose?, *ChemSusChem*, 3 (2010) 266-276.
- [9] C.-H. Lin, A.H. Conner, C.G. Hill, The heterogeneous character of the dilute acid hydrolysis of crystalline cellulose. III. Kinetic and X-ray data, *J. Appl. Polym. Sci.*, 45 (1992) 1811-1822.
- [10] N. Sun, H. Rodriguez, M. Rahman, R.D. Rogers, Where are ionic liquid strategies most suited in the pursuit of chemicals and energy from lignocellulosic biomass?, *Chem Commun (Camb)*, 47 (2011) 1405-1421.
- [11] S. Morales-delaRosa, J.M. Campos-Martin, J.L.G. Fierro, High glucose yields from the hydrolysis of cellulose dissolved in ionic liquids, *Chem. Eng. J.*, 181-182 (2012) 538-541.
- [12] S. Singh, B.A. Simmons, K.P. Vogel, Visualization of biomass solubilization and cellulose regeneration during ionic liquid pretreatment of switchgrass, *Biotechnol. Bioeng.*, 104 (2009) 68-75.
- [13] R. Kumar, G. Mago, V. Balan, C.E. Wyman, Physical and chemical characterizations of corn stover and poplar solids resulting from leading pretreatment technologies, *Bioresour. Technol.*, 100 (2009) 3948-3962.
- [14] T.H. Kim, F. Taylor, K.B. Hicks, Bioethanol production from barley hull using SAA (soaking in aqueous ammonia) pretreatment, *Bioresour. Technol.*, 99 (2008) 5694-5702.

[15] M. Zeng, N.S. Mosier, C.P. Huang, D.M. Sherman, M.R. Ladisch, Microscopic examination of changes of plant cell structure in corn stover due to hot water pretreatment and enzymatic hydrolysis, *Biotechnol. Bioeng.*, 97 (2007) 265-278.

[16] J. Shi, V.S. Thompson, N.A. Yancey, V. Stavila, B.A. Simmons, S. Singh, Impact of mixed feedstocks and feedstock densification on ionic liquid pretreatment efficiency, *Biofuels*, 4 (2012) 63–72.

[17] G. Cheng, P. Varanasi, C. Li, H. Liu, Y.B. Melnichenko, B.A. Simmons, M.S. Kent, S. Singh, Transition of Cellulose Crystalline Structure and Surface Morphology of Biomass as a Function of Ionic Liquid Pretreatment and Its Relation to Enzymatic Hydrolysis, *Biomacromolecules*, 12 (2011) 933-941.

[18] K.-K. Cheng, J.-P. Ge, J.-A. Zhang, H.-Z. Ling, Y.-J. Zhou, M.-D. Yang, J.-M. Xu, Fermentation of pretreated sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate to ethanol by *Pachysolen tannophilus*, *Biotechnol. Lett.*, 29 (2007) 1051-1055.

[19] P. Alvira, E. Tomas-Pejo, M. Ballesteros, M.J. Negro, Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review, *Bioresour Technol*, 101 (2010) 4851-4861.

[20] P. Kumar, D.M. Barrett, M.J. Delwiche, P. Stroeve, Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 48 (2009) 3713-3729.

Hidrólisis Química de Celulosa y Biomasa por Tratamiento con LIs

[21] N. Mosier, C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y.Y. Lee, M. Holtzapple, M. Ladisch, Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass, *Bioresour. Technol.*, 96 (2005) 673-686.

[22] C. Li, L. Sun, B.A. Simmons, S. Singh, Comparing the Recalcitrance of Eucalyptus, Pine, and Switchgrass Using Ionic Liquid and Dilute Acid Pretreatments, *Bioenergy Research*, 6 (2013) 14-23.

7. HIDRÓLISIS ÁCIDA DE CELULOSA CON CATALIZADORES HETEROGÉNEOS TRATADOS CON LIS

7.1. <i>Introducción</i>	1
7.2. <i>Hidrolisis ácida heterogénea de la celulosa con Lis</i>	3
7.2.1. <i>Catalizadores heterogéneos ácidos</i>	3
7.2.2. <i>Hidrólisis ácida de celulosa con catalizadores heterogéneos</i>	5
7.3. <i>Bibliografía</i>	20

7.1. Introducción

A pesar de que la catálisis heterogénea ha sido clave en el desarrollo la tecnología en las industrias química y petrolera, el uso de catalizadores heterogéneos en la biorrefinerías existentes es bastante limitado [1]. La conversión de materias primas renovables con procesos basados en catalizadores heterogéneos proporciona nuevos retos en la investigación. Sin embargo, para ser competitivos con los procesos biotecnológicos, los catalizadores deben cumplir los requisitos importantes, tales como alta actividad y selectividad, y estabilidad a largo plazo. Sin embargo, hoy en día se está poniendo cada vez más atención a la aplicación de catalizadores ácidos sólidos para la transformación de biomasa en la obtención de biocombustibles tanto para el transporte como para los productos químicos [2]. El hecho que se pueda separar el catalizador después de la reacción, permite su posterior reutilización que sería una de las mayores ventajas de la catálisis heterogénea para la biorrefinerías. Además, los catalizadores ácidos sólidos son típicamente menos agresivos para las plantas industriales que los ácidos minerales líquidos [3].

La hidrólisis de la biomasa sólida con catalizadores heterogéneos debe ocurrir en dos pasos. En primer lugar, una hidrólisis parcial de la biomasa procede de la participación de especies ácidas de Brønsted liberado ya sea por el material sólido o formado en el medio de reacción [4]. Posteriormente, las reacciones que implican la hidrólisis de biomasa por el catalizador heterogéneo tienen lugar cuando los oligómeros son lo suficientemente pequeños para acceder al sistema de poros. De este modo, la porosidad del catalizador sólido puede desempeñar un papel fundamental en la actividad catalítica y la selectividad, ya que determina en qué medida la hidrólisis inicial tiene que realizarse en fase homogénea antes de iniciar las reacciones catalizadas heterogéneamente. También existe la posibilidad de que la

reacción se inicia en los sitios activos de los catalizadores externos. Sin embargo, debido al hecho de que existe un sistema de dispersión con dos fases sólidas, tales contribuciones son probablemente pequeñas [3].

Otra cuestión a tener en cuenta en la transformación de lignocelulosa en biocombustibles y productos químicos, es que estos procesos implican la presencia de agua, ya sea como un reactivo, un producto, o incluso como un disolvente [3]. Y para estas aplicaciones, sólo un número de materiales son adecuados en términos de; acidez, estabilidad, e insolubilidad. Algunos de los catalizadores que cumplen estas características son: carbones activados funcionalizados, resinas funcionalizadas, sílice funcionalizado, zeolitas, algunos compuestos heteropoliácidos sólidos, ácido nióbico, $\text{MoO}_3\text{-ZrO}_2$, wolframatos circonio, fosfatos de circonio, fosfatos lantano, fosfatos de niobio, y algunos otros materiales [5].

Algunos de los campos en donde más se está estudiando el comportamiento de catalizadores heterogéneos para obtención de compuestos derivados de la biomasa [6] son: obtención de alcoholes de azúcares a partir de sacáridos [7] y celulosa [8-11], la hidratación, deshidratación de hidratos de carbono y trans/esterificación [12-15], isomerización de carbohidratos [16], entre otros. Sin embargo, en el campo de la hidrólisis de celulosa, no hay muchos estudios con catalizadores heterogéneos aunque cada vez se está proponiendo más su uso por las grandes ventajas de estos frente a los catalizadores homogéneos citadas anteriormente. Cabe destacar los estudios realizados sobre la conversión directa de la celulosa a alquil glicósidos realizados Deng y col.[17] que utiliza heteropoliácidos como el $\text{H}_4\text{SiW}_{12}\text{O}_{40}$ y el $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ donde alcanza conversiones del 100% y rendimientos del 47% a metilglucósidos.

Hidrólisis Ácida de Celulosa con Catalizadores Heterogéneos Pretrat. con LIs

En la hidrólisis de celulosa, se han publicado algunos trabajos con catalizadores heterogéneos como el uso de óxidos metálicos como HNbMoO_6 [18]; grupos sulfonados, carboxílicos y -OH soportados en material de carbón amorfo para la obtención de glucosa [19]; utilización de carbón activo sulfonado en celulosas tratadas [20]; catalizadores carbono sulfonados bajo irradiación de microondas [21]. Otros catalizadores ácidos heterogéneos tales como zeolitas, zirconia sulfatada y Amberlyst-15 dieron una menor actividad.

En este capítulo se propone la utilización de sílices comerciales funcionalizadas con grupos sulfónicos como catalizadores heterogéneos la hidrólisis ácida de la celulosa para la obtención de azúcares,. El que se haya elegido estas sílices como catalizadores, es debido a que son catalizadores ácidos indispensables para el proceso de hidrólisis, y que además contienen grupos -OH en su superficie, lo que les permite un mejor acercamiento a las fibras de celulosa mediante puentes de hidrogeno con los -OH ya existentes en ellas.

7.2. Hidrolisis ácida heterogénea de la celulosa con LIs

7.2.1. Catalizadores heterogéneos ácidos

En anteriores capítulos se ha ido estudiando los diferentes factores que influyen en la hidrólisis ácida de la celulosa con diferentes catalizadores homogéneos hasta llegar a obtener un procedimiento óptimo para la obtención de azúcares con un alto rendimiento. Siguiendo los resultados obtenidos en las mejores condiciones de reacción, se han probado diferentes catalizadores

heterogéneos y se han comparado con uno de los mejores catalizadores homogéneos, el ácido sulfúrico (H_2SO_4).

En la

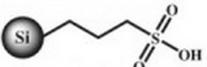
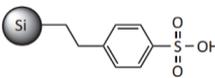
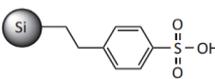
Tabla 7.1 se muestran las características principales y alguna de sus estructuras de los catalizadores heterogéneos probados a lo largo de este capítulo. Todos los catalizadores escogidos son sílices funcionalizadas con grupos sulfónicos. Como referencia se utilizó la “Amberlyst 70” de Dow Chemical es una resina de intercambio iónico obtenida a partir de un copolímero de estireno y divinilbenceno, se ha seleccionado esta resina porque debido a su composición química se puede trabajar a una temperatura de hasta 190 °C. Si bien los datos de superficie específica son menores al resto de catalizadores basados en sílices, su capacidad de hinchamiento y elevado diámetro de poro (20 nm) hacen de “Amberlyst 70” un excelente catalizador ácido en fase líquida.

Se han seleccionado sílices funcionalizadas con dos tipos de grupos ácidos: propilsulfónico y tipo para-toluen sulfónico (Tosic Acid) (

Tabla 7.1). Dentro de las sílices Tosic Acid, se han escogido dos con diferente tamaño de partícula para estudiar el efecto del tamaño de partícula en la reacción de hidrólisis; una de las muestras es en polvo (40-63 μm) y otro en partículas (500-1000 μm) que fue fabricado especialmente para este trabajo con iguales características texturales que la sílice en polvo.

Hidrólisis Ácida de Celulosa con Catalizadores Heterogéneos Pretrat. con LIs

Tabla 7.1: Los catalizadores heterogéneos ácidos empleados en la hidrólisis de la celulosa.

Catalizador Ácido	Conc. Centros Ácidos (mmol/g)	Area BET superficial (m ² /g)	Diámetro de poro (nm)	Tamaño de partícula (μm)
Amberlyst 70	2,55	36	22	500
Si-Propil Sulfónico				
	0,66	470-530	6	40-63
Si-Tosic Acid (40-63 μm)				
	0,59	470-530	6	40-63
Si-Tosic Acid (500-1000 μm)				
	0,79	470-530	6	500-1000

7.2.2. Hidrólisis ácida de celulosa con catalizadores heterogéneos

Inicialmente se llevaron a cabo las primeras reacciones con el catalizador Amberlyst 70, por ser el tipo de catalizador más utilizado en

bibliografía se estudió la reacción a dos temperaturas de reacción 140 °C y 160 °C. La concentración del catalizador ácido a utilizar fue de 0,1 mol de grupos ácidos/L de disolución. Este catalizador se probó en la reacción de hidrólisis con una celulosa sin tratar y sometida a tratamiento de disolución con LI/ precipitación, el líquido iónico empleado en el tratamiento fue el [EMIMI]Cl, ya que es el LI más estudiado a lo largo de esta tesis.

Los valores de conversión de celulosa sin tratar fueron muy bajos independientemente de la temperatura de reacción empleada (Figura 7.1), cuando se emplea celulosa tratada se observa un claro aumento en la conversión respecto a la celulosa sin tratar, tal como se observó con los catalizadores homogéneos (Capítulo 6 de esta memoria), esta diferencia es mucho más marcada para la temperatura de 160 °C (Figura 7.1). El rendimiento a glucosa sigue una tendencia similar a la conversión. A una temperatura de 140 °C (Figura 7.1 (a)), se puede ver una diferencia en los valores de rendimiento a glucosa tratada y sin tratar. Mientras que la celulosa sin tratar no se llega al 2 %, en la muestra tratada se alcanzan valores por encima del 10 %. Sin embargo, cuando se trataba a una temperatura de 160 °C (Figura 7.1 (b)), el rendimiento a glucosa aumenta de forma espectacular en la muestra de celulosa tratada, obteniendo un rendimiento a glucosa superior al 25 %. No ocurre lo mismo con la muestra de celulosa sin tratar, en la se llegan a obtener valores ligeramente superiores de rendimiento a glucosa al 2 %.

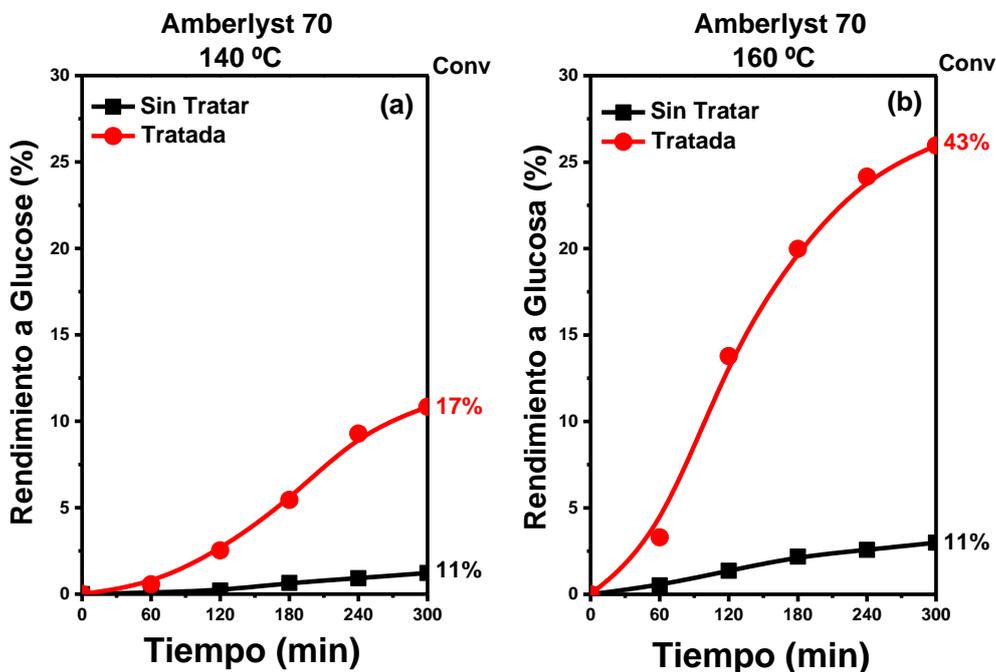


Figura 7.1: Rendimiento a glucosa en la hidrólisis de la celulosa sin tratar y tratada con ([EMIM][Cl]) con el catalizador heterogéneo Amberlyst 70 (0,1 mol/L) durante 5 horas de reacción a diferentes temperaturas: (a) 140 °C; (b) 160 °C.

A continuación se estudiaron los datos de rendimiento a ácido levulínico, que es el producto secundario mayoritario en la descomposición de la glucosa, para estas dos mismas temperaturas (Figura 7.2 (a y b)), se puede observar que cuando se trabaja a 140 °C (Figura 7.2 (a)), la formación de ácido levulínico es muy pequeña. Se encontró un rendimiento menor al 0,02 % en la celulosa tratada tras 5 horas de reacción, este bajo rendimiento puede estar relacionado con la baja de concentración de glucosa en disolución. Sin embargo, cuando se aumenta la temperatura de reacción a 160 °C (Figura 7.2 (b)), se aprecia claramente la aparición de ácido levulínico. Cuando la muestra

de celulosa se hidroliza sin tratar, los rendimientos a ácido levulínico aumentan por encima del 1 %, mientras que cuando trabajamos con celulosa tratada con LI este rendimiento aumenta a 7,5 %.

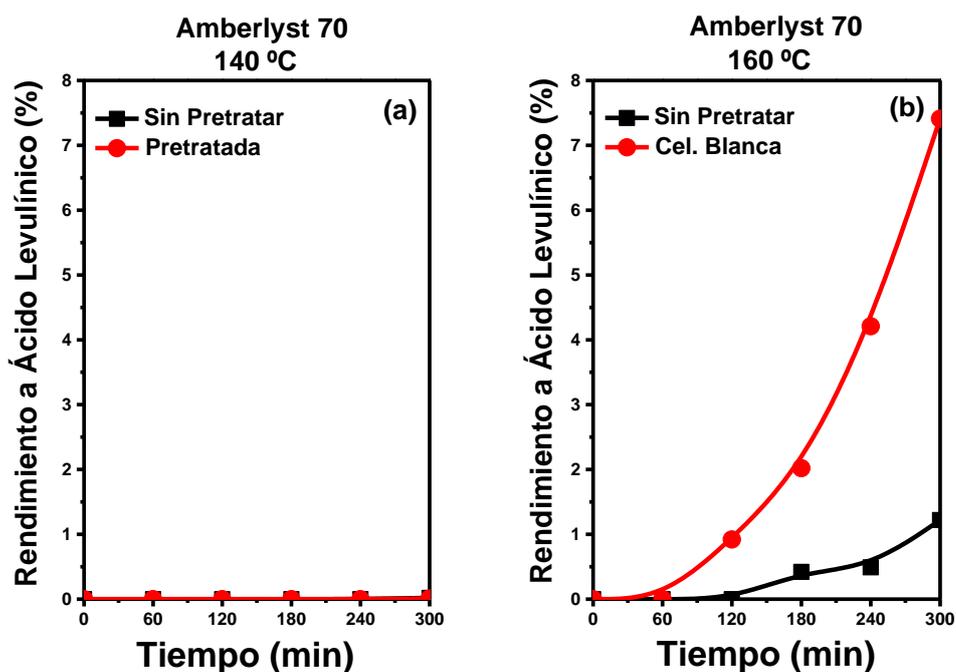


Figura 7.2: Rendimiento a ácido levulínico en la hidrólisis de la celulosa sin tratar y tratada ([EMIM]Cl) con el catalizador heterogéneo Amberlyst 70 (0,1 mol/L) durante 5 horas de reacción a diferentes temperaturas: (a) 140 °C; (b) 160 °C.

Los resultados que se han obtenido con la Amberlyst 70 a diferentes temperaturas, nos muestran que al aumentar la temperatura aumenta el rendimiento a glucosa y la conversión de celulosa considerablemente llegando a un 25 % y 43 % respectivamente a 160 °C en la muestra tratada con LI.

Una vez establecido el marco de trabajo con un catalizador de referencia, se inició el estudio de las sílices funcionalizadas. En primer lugar

Hidrólisis Ácida de Celulosa con Catalizadores Heterogéneos Pretrat. con LIs

se utilizó el catalizador Si-Propil Sulfónico a las dos temperaturas de 140 °C y 160 °C de reacción (Figura 7.3 (a y b)). Al igual que con el catalizador Amberlyst 70, se utilizó una concentración de 0,1 mol/L.

Para las dos temperaturas estudiadas se observa que la muestras de celulosa sometidas a un tratamiento de disolución en LI/ precipitación presentan rendimientos a glucosa más elevados que la celulosa sin tratar. (Figura 7.3). Así cuando se hace la reacción a 140 °C ((a)), el rendimiento a glucosa de la muestra tratada es mayor del 40 % a las 2 h de reacción, mientras que la celulosa sin tratar presenta un valor en torno al 12 % (Figura 7.3). Cuando la temperatura de reacción es 160 °C la celulosa tratada con LI presenta unos valores de rendimiento a glucosa en torno al 25 % mientras que con la celulosa sin tratar se alcanza un 10 % (Figura 7.3).

Sorprendentemente los valores de rendimiento a glucosa son menores a la temperatura de 160 °C que a 140 °C para los dos tipos de muestra, aunque el efecto es mucho más marcado para la celulosa tratada. Este hecho nos indica que la glucosa se está consumiendo a la temperatura más alta dando lugar a la formación de productos secundarios.

A continuación se estudió el perfil de rendimiento a ácido levulínico (producto secundario mayoritario de la glucosa) (Figura 7.4). Se puede observar que para las dos temperaturas de reacción estudiadas se puede ver un aumento del rendimiento a ácido levulínico en la muestra tratada respecto a la muestra sin tratar. Este hecho puede estar relacionado con que la concentración de glucosa es mucho mayor en la muestra tratada con LI que en la original (Figura 7.3) y al haber mayor cantidad de glucosa en el medio en contacto con el catalizador ácido se facilitará la formación de ácido levulínico y ácido fórmico.

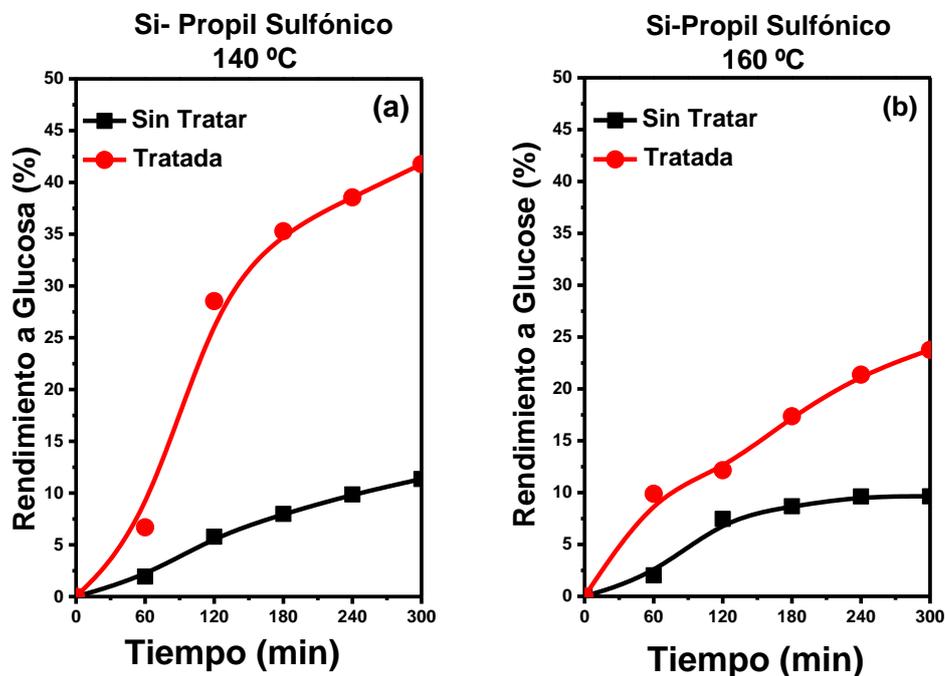


Figura 7.3: Rendimiento a glucosa en la hidrólisis de la celulosa sin tratar y tratada ([EMIMI]Cl) con el catalizador heterogéneo Si-Propil Sulfónico (0,1 mol/L) durante 5 horas de reacción a diferentes temperaturas: (a) 140 °C; (b) 160 °C.

Se ha observado un efecto en el rendimiento a ácido levulínico muy marcado con la temperatura, cuando se utiliza el catalizador Si-Propil Sulfónico, un aumento de la temperatura de 140 a 160 °C produce un incremento del rendimiento a ácido levulínico muy grande alcanzando un 40 % para la muestra tratada (Figura 7.4). El rendimiento a ácido levulínico a 160 °C es mucho mayor que con el catalizador Amberlyst (Figura 7.2).

El elevado rendimiento a ácido levulínico obtenido a 160 °C, explica el bajo rendimiento a glucosa observado, donde se produjo el hecho curioso que la formación de glucosa es menor a 160 °C que a 140 °C (Figura 7.3). Estos datos indican que el catalizador de Si-Propil Sulfónico es un catalizador muy

Hidrólisis Ácida de Celulosa con Catalizadores Heterogéneos Pretrat. con LIs

activo y que a 160 °C la formación de glucosa es muy rápida pero al mismo tiempo esta glucosa se transforma rápidamente a ácido levulínico este comportamiento ya se observó en las reacciones de hidrólisis de celulosa con ácidos homogéneos estudiadas en el Capítulo 5 de esta memoria.

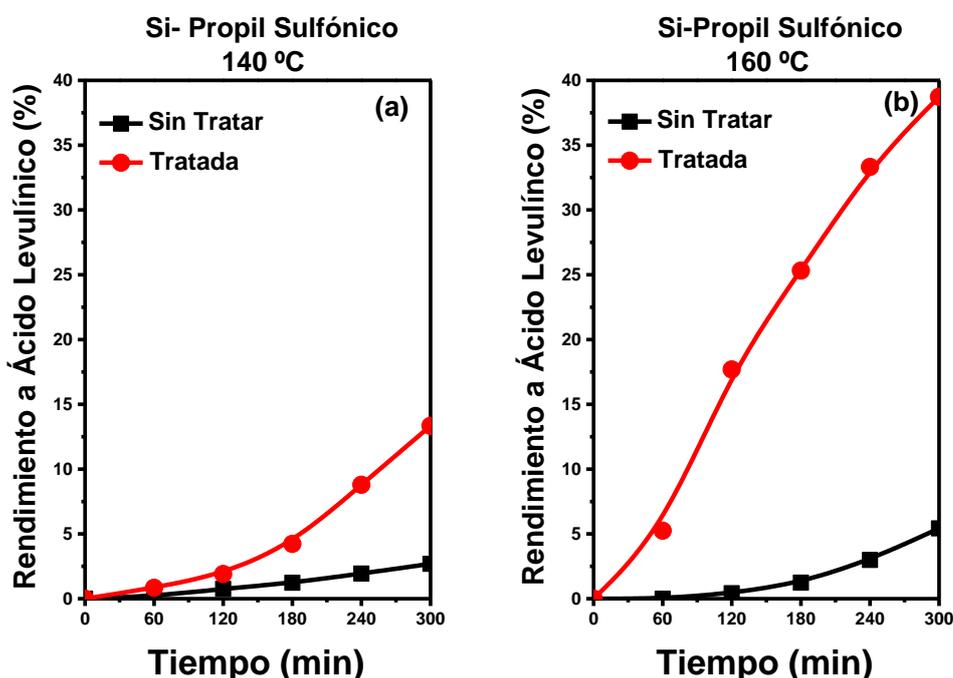


Figura 7.4: Rendimiento a ácido levulínico en la hidrólisis de la celulosa sin tratar y tratada ([EMIMI]Cl) con el catalizador heterogéneo Si-Propil Sulfónico (0,1 mol/L) durante 5 horas de reacción a diferentes temperaturas: (a) 140 °C; (b) 160 °C.

En vista de los resultados obtenidos con estos dos catalizadores y debido a que el objetivo principal en esta tesis es optimizar la obtención de azúcares fermentables, se tomó la decisión comparar todos los catalizadores heterogéneos con una temperatura de reacción de 140 °C y con una

concentración de grupos ácidos 0,1 mol/L de disolución, y tiempo de reacción de 5 horas.

Se realizó una comparativa de los rendimientos a glucosa de muestras de celulosa tratadas y sin tratar con los diferentes catalizadores heterogéneos: Amberlyst, Si-Propil Sulfónico, Si-Tosic Acid (en polvo) y como referencia se tomó el catalizador homogéneo ácido sulfúrico.

Los perfiles de rendimiento a glucosa de las muestra de celulosa sin tratar (Figura 7.5) con los catalizadores heterogéneos muestran que en todos los casos el rendimiento a glucosa es bajo, sin embargo se observa que los catalizadores heterogéneos basados en sílice presentan un mayor rendimiento a glucosa que en el catalizador basado en resinas de intercambio iónico (Amberlyst 70). Los valores de rendimiento a glucosa del ácido sulfúrico presentan un rendimiento a glucosa muy similar al de Si-Propil Sulfónico y el Si-Tosic Acid en torno al 10-12 %. Como era de esperar, los valores de rendimiento a glucosa con la celulosa tratada con LI son claramente mucho más alto para todos los catalizadores (Figura 7.5). Se puede ver que el rendimiento a glucosa es claramente más alto para los catalizadores heterogéneos basados en sílice que con el catalizador Amberlyst 70. Cuando se comparan los resultados de rendimiento a glucosa (Figura 7.5) se observa que el ácido sulfúrico (catalizador homogéneo) es con el que mayor rendimiento a glucosa se obtiene llegando a superar el 60 %, seguidamente pero a una distancia no muy grande, sobre todo teniendo en cuenta que son catalizadores heterogéneos, se tienen los catalizadores basados en sílice: con el catalizador Si-Tosic Acid (en polvo) se tiene un 50 % y con el Si-Propil Sulfónico un 40 %. Finalmente, el catalizador basado en un polímero orgánico (Amberlyst 70) es el que da lugar a un menor rendimiento a glucosa alrededor del 10 %.

Hidrólisis Ácida de Celulosa con Catalizadores Heterogéneos Pretrat. con LIs

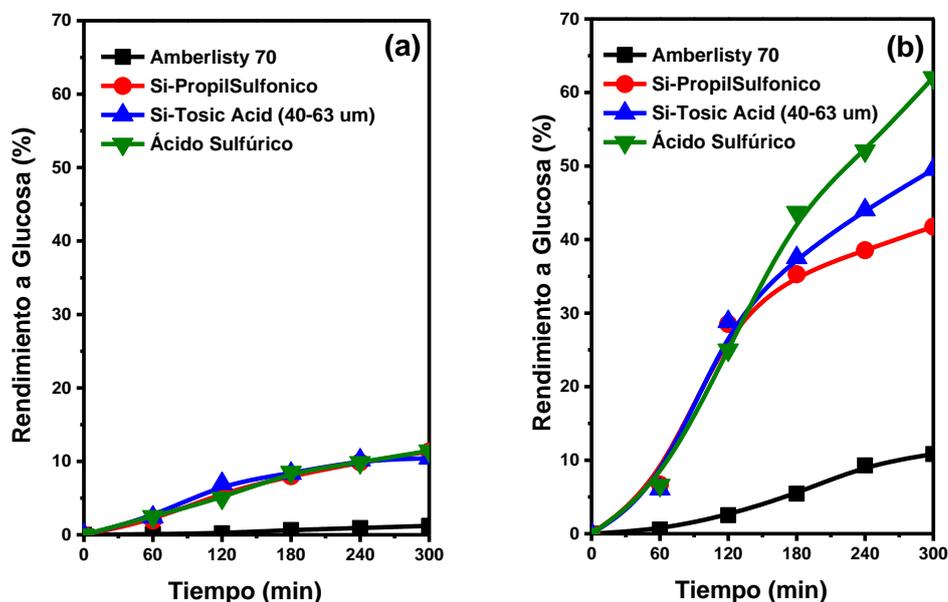


Figura 7.5: Rendimiento a glucosa en la hidrólisis de la celulosa (a) sin tratar y (b) tratada ([EMIMI]Cl) con diferentes catalizadores (0,1 mol/L) a la temperatura de 140 °C y 5 horas de reacción.

El rendimiento a ácido levulínico obtenido con los catalizadores heterogéneos depende también del tratamiento que se ha sometido a la celulosa (Figura 7.6). Las muestras de celulosa sin tratar presentan unos valores bajos de rendimiento a ácido levulínico y en ningún caso se superó el 3 %. Los catalizadores heterogéneos basados en sílice (Si-Propil Sulfónico y Si-Tosic Acid (en polvo)) si dieron lugar a la formación de ácido levulínico, mientras que para el catalizador Amberlyst 70 no se detectó la formación de ácido levulínico. El catalizador homogéneo dio lugar a la formación de ácido levulínico pero en menor medida que con los catalizadores heterogéneos.

Al igual que ocurría en el rendimiento a ácido levulínico, es claramente mayor cuando se hidroliza celulosa tratada y es un comportamiento similar al

observado con el rendimiento a glucosa. En el caso de la celulosa sin tratar hay igualmente diferencias de rendimiento a ácido levulínico entre los catalizadores, pero las diferencias son mucho menos marcadas. Se puede ver que el menor rendimiento a ácido levulínico es el obtenido con el catalizador Amberlyst 70, tal vez porque es con el que menos glucosa se obtiene en reacción. Sin embargo, el panorama es diferente para los otros catalizadores que son más activos. Se produce una mayor cantidad de ácido levulínico pero se observan claras diferencias de comportamiento entre los catalizadores. El Si-Propil Sulfónico es el catalizador que da lugar a una mayor formación de ácido levulínico alcanzado el 13 %, a continuación se encuentra el Si-Tosic Acid (en polvo) (6,7 %) y por último el ácido sulfúrico (4,4 %). Un dato muy interesante es que entre los catalizadores más activos, el que produce una mayor cantidad de ácido levulínico (Si-Propil Sulfónico) es el que da lugar a un menor rendimiento a glucosa el caso contrario es el ácido sulfúrico y en un punto intermedio se encuentra el Si-Tosic Acid (en polvo). Teniendo en cuenta que el ácido levulínico es un producto secundario producido a partir de la glucosa, este hecho es indicativo que los catalizadores heterogéneos derivados de la sílice favorecen la formación de reacciones secundarias de la glucosa respecto al ácido sulfúrico.

Los catalizadores heterogéneos basados en sílice son claramente más activos en la hidrólisis de glucosa que el catalizador de referencia Amberlyst 70, que está basado en un copolímero de estireno y divinilbenceno. La fuerza ácida de los grupos sulfónicos presente en los dos catalizadores son similares, y la adición de catalizador se seleccionó para igualar el número de grupos ácidos presente en el reactor. Por lo tanto, la diferencia de actividad encontrada se debe atribuir a las diferencias de la superficie de los catalizadores. Así, mientras que en el catalizador Amberlyst 70 la superficie es una cadena hidrocarbonada, en la sílice la superficie tiene grupos hidroxilos (-OH) y puentes Si-O-Si (Figura 7.7). La presencia estos grupos favorece la

Hidrólisis Ácida de Celulosa con Catalizadores Heterogéneos Pretrat. con LIs

interacción con las cadenas de celulosa, y por lo tanto se facilita que los centros activos (grupos sulfónicos) estén más próximos a las cadenas de celulosa hace que se facilite la hidrólisis. Este efecto ya se detectó en otro tipo de soportes como: carbones con grupos funcionales [19, 22], carbones con defectos [23], sistemas híbridos carbón-sílice [24], soportes clorados con grupos sulfónicos [25] o polímeros que combinan grupos sulfónicos con otros grupos funcionales polares [26]

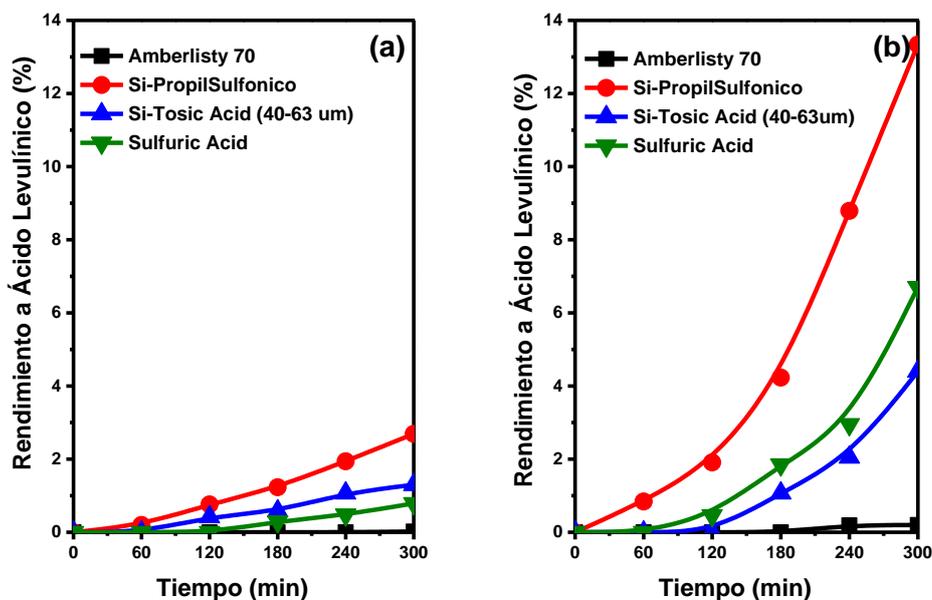


Figura 7.6: Rendimiento a ácido levulínico en la hidrólisis de la celulosa (a) sin tratar y (b) tratada ([EMIM]Cl) con diferentes catalizadores (0,1 mol/L) a la temperatura de 140 °C y 5 horas de reacción.

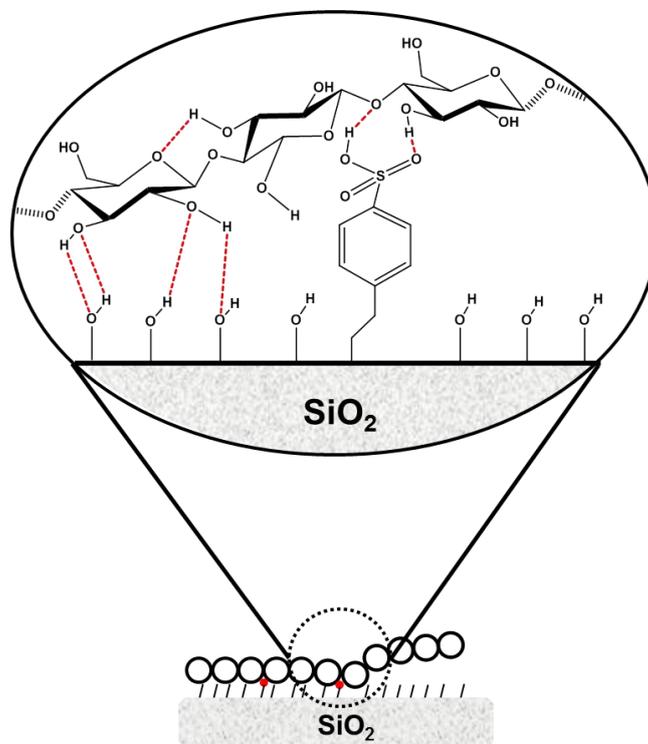


Figura 7.7: Representación esquemática del mecanismo de adsorción e hidrólisis de celulosa en la superficie de un catalizador heterogéneo de sílice funcionalizado.

Finalmente, se estudió el efecto del tamaño de partícula con el catalizador heterogéneo que dio lugar a un rendimiento a glucosa más alto con un menor rendimiento a ácido levulínico, Si-Tosic Acid (en polvo). Para este fin se solicitó a la empresa suministradora (Sylicycle inc.) un catalizador que tuviera las mismas características texturales que el Si-Tosic Acid en polvo pero con un tamaño de partícula mayor.

Se comparó el comportamiento en reacción de los dos catalizadores en la hidrólisis de celulosa sin tratar y tratada. El rendimiento a glucosa durante la hidrólisis de la celulosa original fue muy pequeño y similar (alrededor 10 %) para los dos catalizadores (Figura 7.8), aunque el rendimiento es ligeramente

Hidrólisis Ácida de Celulosa con Catalizadores Heterogéneos Pretrat. con LIs

mayor con la muestra en polvo. El rendimiento a glucosa es mucho mayor en ambos casos cuando se hidroliza la celulosa tratada (Figura 7.8), como era de esperar. Con este tipo de celulosa se muestra mucho más claramente la diferencia de rendimiento a glucosa entre los dos catalizadores (Figura 7.8). El uso del catalizador Si-Tosic Acid en polvo da lugar a un mayor rendimiento a glucosa (50 %) respecto al Si-Tosic Acid en partículas (40 %) después de 5 horas de reacción. Esta diferencia se explica por el tamaño de las partículas que producen diferencias de transporte de materia intraparticulares que afectan a la reactividad.

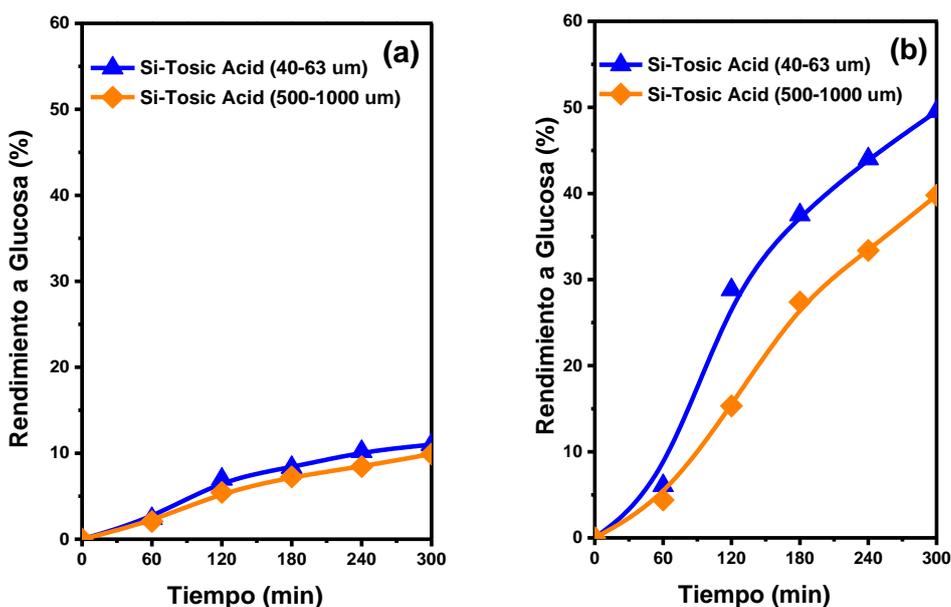


Figura 7.8: Rendimiento a glucosa en la hidrólisis de la celulosa sin tratar y tratada ([EMIM]Cl) con los catalizadores heterogéneos en polvo y en partículas (0,1 mol/L) a la temperatura de 140 °C y 5 horas de reacción.

Las tendencias en el rendimiento a ácido levulínico son muy similares a las que se tienen con el rendimiento a glucosa (Figura 7.9). El catalizador en polvo produce un mayor rendimiento a ácido levulínico tanto con la celulosa sin tratar como la tratada. Las diferencias de rendimiento entre los catalizadores son mucho más marcada cuando se hidroliza la celulosa tratada. El rendimiento a ácido levulínico en cualquier caso es moderado, porque incluso con las muestras tratadas se obtiene un 4,4 % para el catalizador en polvo y 3 % para el catalizador particulado (Figura 7.9).

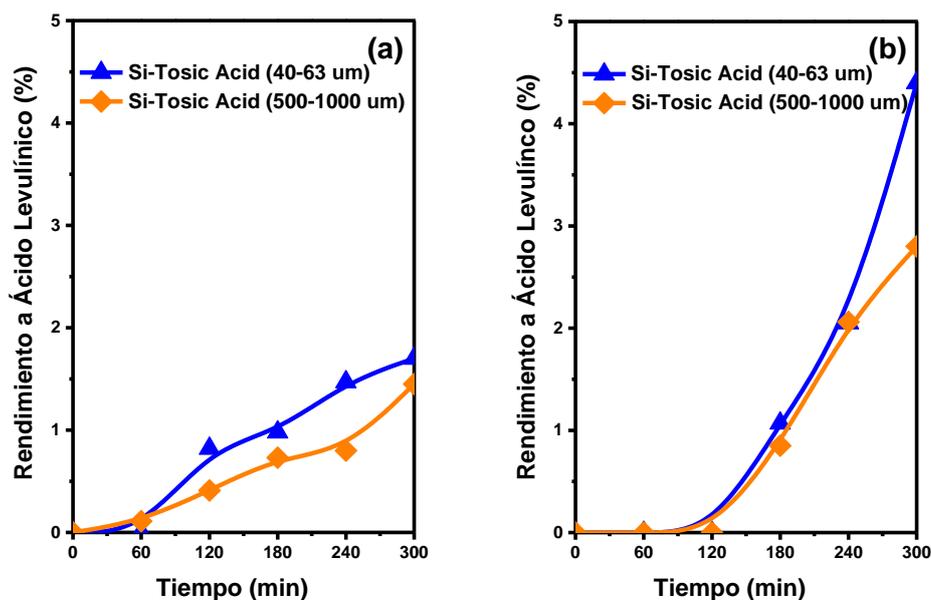


Figura 7.9: Rendimiento a ácido levulínico en la hidrólisis de la celulosa sin tratar y tratada ([EMIMI]Cl) con los catalizadores heterogéneos en polvo y en partículas (0,1 mol/L) a la temperatura de 140 °C y 5 horas de reacción.

Hidrólisis Ácida de Celulosa con Catalizadores Heterogéneos Pretrat. con LIs

En vista de los datos obtenidos, se puede decir que los resultados de reacción obtenidos con los catalizadores heterogéneos derivados de sílice, en especial para Si-Tosic Acid en polvo y en partículas, son muy esperanzadores y dan lugar a unos resultados ligeramente más bajos que con los catalizadores homogéneos como puede ser el ácido sulfúrico, ácido clorhídrico y para-toluensulfónico.

Los valores de rendimiento a glucosa obtenidos con la combinación de tratamiento de disolución en LI / precipitación y catalizadores basados en sílice funcionalizada son muy interesantes y claramente más elevados que los obtenidos por otros autores con diferentes catalizadores heterogéneos. Así por ejemplo donde Takagaki, A. [18] y col han publicado algunos trabajos con catalizadores heterogéneos como el uso de óxidos metálicos como HNbMoO_6 obteniendo un rendimiento a glucosa del 1 % después de 12 horas de reacción a 130 °C; Sugauma, S. y col. [19] utilizan carbón amorfo modificado con grupos sulfónicos, carboxílicos y -OH y obtienen un rendimiento a glucosa del 4% a 100 °C; Onda, A y col. donde se utiliza como catalizador carbón activo sulfonado y con celulosas tratadas llegan a obtener rendimientos a glucosa del 42 %, a 150 °C después de 24 h [20].

7.3. Bibliografía

- [1] B.H. Shanks, Conversion of Biorenewable Feedstocks: New Challenges in Heterogeneous Catalysis, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 49 (2010) 10212-10217.
- [2] R. Rinaldi, F. Schuth, Acid hydrolysis of cellulose as the entry point into biorefinery schemes, *ChemSusChem*, 2 (2009) 1096-1107.
- [3] S. Morales-Delarosa, J.M. Campos-Martin, Catalytic processes and catalyst development in biorefining, in: *Advances in Biorefineries: Biomass and Waste Supply Chain Exploitation*, Elsevier Ltd., 2014, pp. 152-198.
- [4] R. Rinaldi, F. Schüth, Design of solid catalysts for the conversion of biomass, *Energy Environ. Sci.*, 2 (2009) 610.
- [5] K. Inumaru, T. Ishihara, Y. Kamiya, T. Okuhara, S. Yamanaka, Water-Tolerant, Highly Active Solid Acid Catalysts Composed of the Keggin-Type Polyoxometalate H₃PW₁₂O₄₀ Immobilized in Hydrophobic Nanospaces of Organomodified Mesoporous Silica, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 46 (2007) 7625-7628.
- [6] M.J. Climent, A. Corma, S. Iborra, Converting carbohydrates to bulk chemicals and fine chemicals over heterogeneous catalysts, *Green Chem.*, 13 (2011) 520-540.

Hidrólisis Ácida de Celulosa con Catalizadores Heterogéneos Pretrat. con LIs

[7] N. Yan, C. Zhao, C. Luo, P.J. Dyson, H. Liu, Y. Kou, One-Step Conversion of Cellobiose to C6-Alcohols Using a Ruthenium Nanocluster Catalyst, *J. Am. Chem. Soc.*, 128 (2006) 8714-8715.

[8] A. Fukuoka, P.L. Dhepe, Catalytic Conversion of Cellulose into Sugar Alcohols, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 45 (2006) 5161-5163.

[9] C. Luo, S. Wang, H. Liu, Cellulose Conversion into Polyols Catalyzed by Reversibly Formed Acids and Supported Ruthenium Clusters in Hot Water, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 46 (2007) 7636-7639.

[10] M.-Y. Zheng, A.-Q. Wang, N. Ji, J.-F. Pang, X.-D. Wang, T. Zhang, Transition Metal–Tungsten Bimetallic Catalysts for the Conversion of Cellulose into Ethylene Glycol, *ChemSusChem*, 3 (2010) 63-66.

[11] N. Ji, T. Zhang, M. Zheng, A. Wang, H. Wang, X. Wang, J.G. Chen, Direct Catalytic Conversion of Cellulose into Ethylene Glycol Using Nickel-Promoted Tungsten Carbide Catalysts, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 47 (2008) 8510-8513.

[12] L. Meher, D. Vidyasagar, S. Naik, Technical aspects of biodiesel production by transesterification—a review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 10 (2006) 248-268.

[13] S. Lestari, P. Mäki-Arvela, J. Beltramini, G.Q.M. Lu, D.Y. Murzin, Transforming Triglycerides and Fatty Acids into Biofuels, *ChemSusChem*, 2 (2009) 1109-1119.

- [14] M. Lopez Granados, A. Carolina Alba-Rubio, I. Sadaba, R. Mariscal, I. Mateos-Aparicio, A. Heras, Poly(styrenesulphonic) acid: an active and reusable acid catalyst soluble in polar solvents, *Green Chem.*, 13 (2011) 3203-3212.
- [15] M. Toda, A. Takagaki, M. Okamura, J.N. Kondo, S. Hayashi, K. Domen, M. Hara, Green chemistry: Biodiesel made with sugar catalyst, *Nature*, 438 (2005) 178-178.
- [16] R. Gounder, M.E. Davis, Monosaccharide and disaccharide isomerization over Lewis acid sites in hydrophobic and hydrophilic molecular sieves, *J. Catal.*, 308 (2013) 176-188.
- [17] W. Deng, Q. Zhang, Y. Wang, Catalytic transformations of cellulose and cellulose-derived carbohydrates into organic acids, *Catal. Today*, 234 (2014) 31-41.
- [18] A. Takagaki, C. Tagusagawa, K. Domen, Glucose production from saccharides using layered transition metal oxide and exfoliated nanosheets as a water-tolerant solid acid catalyst, *Chem. Commun.*, (2008) 5363-5365.
- [19] S. Suganuma, K. Nakajima, M. Kitano, D. Yamaguchi, H. Kato, S. Hayashi, M. Hara, Hydrolysis of Cellulose by Amorphous Carbon Bearing SO₃H, COOH, and OH Groups, *J. Am. Chem. Soc.*, 130 (2008) 12787-12793.
- [20] A. Onda, T. Ochi, K. Yanagisawa, Selective hydrolysis of cellulose into glucose over solid acid catalysts, *Green Chem.*, 10 (2008) 1033.

Hidrólisis Ácida de Celulosa con Catalizadores Heterogéneos Pretrat. con LIs

[21] Y. Wu, Z. Fu, D. Yin, Q. Xu, F. Liu, C. Lu, L. Mao, Microwave-assisted hydrolysis of crystalline cellulose catalyzed by biomass char sulfonic acids, *Green Chem.*, 12 (2010) 696.

[22] J. Pang, A. Wang, M. Zheng, T. Zhang, Hydrolysis of cellulose into glucose over carbons sulfonated at elevated temperatures, *Chem. Commun.*, 46 (2010) 6935-6937.

[23] G.S. Foo, C. Sievers, Synergistic Effect between Defect Sites and Functional Groups on the Hydrolysis of Cellulose over Activated Carbon, *ChemSusChem*, 8 (2015) 534-543.

[24] S. Van de Vyver, L. Peng, J. Geboers, H. Schepers, F. de Clippel, C.J. Gommers, B. Goderis, P.A. Jacobs, B.F. Sels, Sulfonated silica/carbon nanocomposites as novel catalysts for hydrolysis of cellulose to glucose, *Green Chem.*, 12 (2010) 1560-1563.

[25] Y.-B. Huang, Y. Fu, Hydrolysis of cellulose to glucose by solid acid catalysts, *Green Chem.*, 15 (2013) 1095.

[26] X. Li, Y. Jiang, L. Shuai, L. Wang, L. Meng, X. Mu, Sulfonated copolymers with SO₃H and COOH groups for the hydrolysis of polysaccharides, *J. Mater. Chem.*, 22 (2012) 1283-1289.

8. CONCLUSIONES

Conclusiones

En esta memoria se ha presentado el trabajo realizado, y éste se ha dividido en una serie de capítulos, para facilitar la lectura de las conclusiones se han dividido en bloques que coinciden con los capítulos de esta memoria. A continuación se enumeran las conclusiones que se han alcanzado a partir del trabajo expuesto en esta memoria.

En relación a la hidrólisis ácida de celulosa y biomasa lignocelulósica disuelta en líquidos iónicos con catalizadores homogéneos, se puede concluir:

1. Se ha establecido un método en el que se puede hidrolizar la celulosa y biomasa lignocelulósica disuelta en [BMIM]Cl y en [EMIM]Cl de forma selectiva a glucosa y celobiosa, obteniendo selectividad a azúcares mayores del 95%, este es un valor de los más elevados de los publicados hasta ese momento.

Conclusiones secundarias:

- Es necesaria la adición progresiva de agua al medio de reacción durante la hidrólisis de celulosa para obtener una elevada selectividad a glucosa.
- Es necesario que el pKa del catalizador ácido sea negativo para obtener elevadas conversiones de celulosa, preferiblemente $pK_a < -2$ para obtener una mayor selectividad a glucosa.
- Es necesario hacer una optimización del tiempo de disolución en los líquidos iónicos para cada temperatura para obtener un elevado rendimiento a glucosa en la posterior hidrólisis. Elevados

tiempos de disolución a temperaturas altas dan lugar a productos de deshidratación.

- Este método de hidrólisis es eficiente en un amplio rango de concentración celulosa disuelta en el LI, desde un 4,5% en peso hasta un 13,5% en peso, sin que los resultados de hidrólisis se vean afectados. Con la concentración de celulosa en LI más elevada se alcanzan hasta 37 g/L de azúcares fermentables.
- Este método solo se puede aplicar con LI en los que el anión corresponda a la base conjugada de un ácido muy fuerte ($pK_a < -2$), porque en caso contrario se produce un intercambio iónico con el catalizador ácido dando lugar a la formación de ácidos más débiles que no son efectivos en esta reacción.
- Este procedimiento de hidrólisis se puede aplicar a biomasa lignocelulósica completa, dando lugar a una elevada concentración de azúcares solubles, con conversiones entre el 86 – 95 % de los polisacáridos presentes en la biomasa y rendimientos a azúcares reductores en disolución de alrededor del 70 %.
- Cuando se utiliza biomasa lignocelulósica no es necesaria la disolución completa antes de la hidrólisis, puesto que durante el proceso de hidrólisis está se disuelve completamente. Cuando se utilizan tiempos de disolución largos la concentración a compuestos secundarios de reacción no deseados aumenta.

Conclusiones

En relación al estudio de la hidrólisis ácida con catalizadores homogéneos de celulosa sin tratamiento previos a la hidrólisis, se puede concluir:

2. La mayor selectividad a glucosa frente al ácido levulínico durante la hidrólisis de celulosa se obtiene a 120 °C y una concentración del 0,2 y 0,5 mol/L de ácido. Si bien, los rendimientos a azúcares fermentables son mucho menores a los otros procedimientos descritos en esta memoria.

Conclusiones secundarias:

- El aumento de la temperatura y/o la concentración de ácido da lugar a un aumento de la velocidad de hidrólisis de celulosa. Pero la selectividad se desvía a la formación de ácido levulínico y un decrecimiento del rendimiento a glucosa.
- Existe una correlación entre la conversión de la celulosa y la fuerza ácida del catalizador. Hace falta un pKa negativo para poder llevar a cabo la reacción de hidrólisis de celulosa en condiciones suaves de reacción. Sin embargo, los ácidos más fuertes dan lugar a la formación de mayor cantidad de productos secundarios a las temperaturas más elevadas.

En relación a la hidrólisis ácida con catalizadores homogéneos tras el método de disolución/precipitación con LIs, se puede concluir:

3. Se ha estudiado un segundo método de hidrólisis basado en un tratamiento disolución en LI/precipitación anterior a la hidrólisis de celulosa o biomasa lignocelulósica, mediante este tratamiento se mejora la velocidad de hidrólisis de forma muy evidente. En este método, no se ponen en contacto los azúcares hidrolizados con el LI por lo que se puede reciclar el LI más fácilmente.

Conclusiones secundarias:

- La caracterización de las muestras sometidas al tratamiento de disolución en LI/precipitación muestran una pérdida de la estructura y cristalinidad.
- La naturaleza del líquido iónico empleado en el tratamiento afecta a la velocidad de hidrólisis de la celulosa. El efecto del líquido iónico utilizado en el tratamiento se dio en el orden:
[BMIM] Cl > [EMIM] Cl > [EMIM] Ac
- Se detecta la formación de oligómeros de celulosa en las aguas de lavado al separar el [EMIM]Cl utilizado en el tratamiento, este hecho indica que durante el tratamiento se produce una hidrólisis parcial de la celulosa. Sin embargo, esta pérdida es muy pequeña.
- Se ha conseguido recuperar prácticamente la totalidad del LI utilizado tras la precipitación de las muestras de celulosa.

Conclusiones

En relación a la hidrólisis ácida con catalizadores heterogéneos, se puede concluir:

4. Los catalizadores heterogéneos son capaces de hidrolizar la celulosa. La hidrólisis es mucho más eficiente cuando la celulosa se ha sometido a un de disolución en LI/precipitación.

5. La naturaleza de la superficie del catalizador heterogéneo empleado tiene una gran importancia. Así, la presencia de los grupos –OH en los catalizadores heterogéneos de sílice funcionalizados favorecen la interacción con las cadenas de celulosa, y por lo tanto se facilita que los centros activos (grupos sulfónicos) estén más próximos a las cadenas de celulosa y hace que se facilite la hidrólisis. Los resultados obtenidos con sílices funcionalizados con grupos aril-sulfónico (Acid Tosic) son muy interesantes y prometedores, ya que el rendimiento a glucosa fue comparable al obtenido con el ácido sulfúrico.

**9. PUBLICACIONES Y SOLICITUDES DE
PATENTES DERIVADAS DE ESTA TESIS
DOCTORAL**



High glucose yields from the hydrolysis of cellulose dissolved in ionic liquids

Silvia Morales-delaRosa, Jose M. Campos-Martin*, Jose L.G. Fierro*

Sustainable Energy and Chemistry Group, Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, CSIC, Marie Curie, 2 Cantoblanco, 28049 Madrid, Spain¹

ARTICLE INFO

Article history:
Received 29 September 2011
Received in revised form
15 November 2011
Accepted 16 November 2011

Keywords:
Cellulose
Hydrolysis
Ionic liquid
Glucose
Acid

ABSTRACT

Here we show a method to hydrolyze cellulose selectively to glucose and cellobiose, sugars that can be easily fermented. Selecting an ideal ionic liquid ([EMIM][Cl]), optimizing the dissolution time/temperature (15 min, 408 K) and the reaction procedure (addition of water during the reaction time) led to a very high selectivity to glucose + cellobiose (99.6%).

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Among the renewable energies, biomass is an abundant and carbon-neutral energy resource for the production of biofuels and valuable chemicals [1–3]. Shifting world market dependence away from fossil-based energy resources to renewable alternatives, such as biomass, can be regarded as an important contribution towards favorable climate conditions and a sustainable economy [4].

One of the most important bottlenecks of commercializing lignocellulosic bioethanol is the discovery of a cost-effective hydrolysis of cellulose [5,6]. The β -glycosidic linkages of the sugar molecules contained in cellulose or lignocellulose are strongly protected by the tight packing of cellulose chains in microfibrils, making hydrolysis challenging. Accordingly, the hydrolysis of cellulose requires harsh conditions such as the use of dilute sulfuric acid at high temperatures. As cellulose is dissolved into ionic liquids (ILs) [7–10], the protons in the solution can more easily access the β -glycosidic bonds to hydrolyze the bond. It appears that the “physical” barrier can be overcome through the formation of a cellulose solution that facilitates the acid-catalyzed hydrolysis under mild reaction conditions and a lower catalyst loading.

Chemical deconstruction of cellulose to produce glucose in ionic liquids has resulted in only moderate yields [11–13], which contrasts with the high yields obtained from cellulose in concentrated acids and other cellulose solvents [6]. This low yield is due to the

small amount of water added in the reaction in the presence of IL; a large amount of water leads to the precipitation of unreacted cellulose. However, a large excess of water is essential to reach higher sugar yields dissolved in ionic liquids because it favors the hydrolysis of cellulose and retards the dehydration of glucose. This effect is described by the “Le Chatelier’s Principle”. By adding water successively during the reaction, this issue was elegantly overcome [14].

We report a simple method to selectively hydrolyze cellulose to glucose and cellobiose that reaches the highest yields of glucose and cellobiose can be obtained when the optimal conditions of dissolution and hydrolysis of cellulose in ionic liquid are selected.

2. Experimental

2.1. Materials

Fibrous and microgranular cellulose was purchased from Sigma–Aldrich. Ionic liquids manufactured by BASF (Basionics) were purchased from Sigma–Aldrich and used as received.

Cellulose (467.5 mg) was dissolved in 9.50 g of hot ionic liquid, in a temperature range between 373 and 413 K, in a Mettler–Toledo Easy Max[®] equipped with mechanical stirring. After the complete dissolution of the solid, the temperature was fixed to 378 K, and 1.00 mmol of HCl was added to the mixture using an aqueous acid solution (1.66 M). This mixture remained stirring for 180 min. Deionized water aliquots were added at the following reaction times: 10 min, 2000 μ L; 20 min, 1000 μ L; 30 min, 1500 μ L; and 60 min, 2500 μ L. Finally, the reaction was stopped by adding 17.52 mL of distilled water. After the addition of water, the

* Corresponding authors. Tel.: +34 915854948; fax: +34 915854760.
E-mail addresses: j.m.campos@icp.csic.es (J.M. Campos-Martin),
jlgfierro@icp.csic.es (J.L.G. Fierro).
¹ <http://www.icp.csic.es/eqs/>.

Optimization of the process of chemical hydrolysis of cellulose to glucose

Silvia Morales-de-laRosa · Jose M. Campos-Martin · Jose L. G. Fierro

Received: 11 October 2013 / Accepted: 30 April 2014 / Published online: 10 May 2014
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2014

Abstract We studied the acid hydrolysis of cellulose in an aqueous medium with the aim of maximizing glucose yield and minimizing the formation of by-products. The influence of reaction parameters such as temperature, acid concentration, acid strength and type of cellulose precursor on glucose yield was investigated. We observed that moderate reaction temperature and low acid concentration resulted in the highest glucose yield with little formation of levulinic acid. Strong acid ($pK_a < 0$) is required to achieve high glucose yield. The crystallite size of the cellulose also affects its reactivity; cellulose with higher crystallite size is more resistant to hydrolysis catalyzed by acid. The highest selectivity for glucose over levulinic acid was recorded at a reaction temperature of 413 K and a sulfuric acid concentration in the range of 0.2–0.5 mol/L. Under these reaction conditions, no levulinic acid was detected, but the glucose yield reached 20 % in only 2 h.

Keywords Cellulose · Hydrolysis · Sulfuric acid · Glucose · Levulinic acid

Introduction

Lignocellulosic biomass, which comes from the woody parts of plants, can be hydrolyzed to yield chemical components that can be used as renewable carbon sources to produce biofuels. Lignocellulose comprises three main C-based polymers (cellulose, hemicellulose and lignin) which, when taken apart, yield chemical components that can be used to produce biofuels.

The conceptual approach to deconstruct cellulose into sugar monomers is similar to the one followed for decades in conventional oil refineries to produce fuels and chemicals. Thus, it is believed that, in the future, different biorefinery platforms (thermal, oily, chemical and biochemical) can supply marketable biofuels and biochemical products to replace, at least in part, those obtained from fossil precursors. The development of second and third generation biofuels has made it possible to use lignocellulosic biomass and algae for large-scale biofuel production that does not compete with food production as did first-generation biofuels made from corn, sugar cane, canola and soy (Morales-de-laRosa and Campos-Martin 2014).

Lignocellulosic biomass can be used to produce bio-ethanol, a promising alternative to crude oil as an energy source. There are two main processes involved

S. Morales-de-laRosa · J. M. Campos-Martin (✉) · J. L. G. Fierro (✉)
Sustainable Energy and Chemistry Group (EQS), Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, CSIC, Marie Curie, 2 Cantoblanco, 28049 Madrid, Spain
e-mail: j.m.campos@icp.csic.es
URL: <http://www.icp.csic.es/eqsgroup/>

J. L. G. Fierro
e-mail: jlgfierro@icp.csic.es
URL: <http://www.icp.csic.es/eqsgroup/>

Catalytic processes and catalyst development in biorefining

S. MORALES-DELAROSA and
J. M. CAMPOS-MARTIN,
Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, CSIC, Spain

DOI: 10.1533/9780857097385.1.152

Abstract: In this chapter, we will focus on the catalysts used in a biorefinery for the production of fuels and base chemicals from biomass. Catalysts and catalytic processes are involved in several steps of a biorefinery, but in general, these processes can be divided in two main groups: (a) processes of biomass deconstruction to produce upgradeable gaseous or liquid platforms; and (b) processes to upgrade deconstructed biomass to useful fuels or chemicals.

Key words: catalyst, biomass, depolymerization, products upgrading, thermochemical processes.

6.1 Introduction

Biomass is a renewable carbon source that can be processed in an integrated biorefinery, in a manner similar to petroleum in conventional refineries, to produce fuels and chemicals. While commercial-scale biofuel production has been established with bioethanol (corn, sugar cane) and biodiesel (canola, soybeans), these first generation processes utilize only the edible fraction of certain food crops, thereby decreasing their widespread applicability. The development of second and third generation biofuels that utilize lignocellulosic biomass and algae could allow for the large-scale production of sustainable fuels and chemicals.

The process of refining biomass feedstocks to hydrocarbon biofuels can be subdivided into two general portions. First, whole biomass is deconstructed to produce upgradeable gaseous or liquid platforms. This step is typically carried out through thermochemical pathways to produce synthesis gas (by gasification) or bio-oils (by pyrolysis or liquefaction), or by hydrolysis pathways to produce upgradeable intermediates. In all of these steps catalysts play a crucial role, because without them the processes are uneconomical and will produce an excessive amount of waste. The use of catalysts in a biorefinery scheme has been widely reviewed (Kamm and Kamm, 2004; Lichtenthaler and Peters, 2004; Huber *et al.*, 2006; Corma *et al.*, 2007; Gallezot, 2007a, 2007b, 2012; Huber and Corma, 2007; Lange,

DOI: 10.1002/cssc.201402466

Complete Chemical Hydrolysis of Cellulose into Fermentable Sugars through Ionic Liquids and Antisolvent Pretreatments

Silvia Morales-de la Rosa, Jose M. Campos-Martin,* and Jose L. G. Fierro*^[a]

This work describes a relatively simple methodology for efficiently deconstructing cellulose into monomeric glucose, which is more easily transformed into a variety of platform molecules for the production of chemicals and fuels. The approach undertaken herein first involves the dissolution of cellulose in an ionic liquid (IL), followed by a second reconstruction step aided by an antisolvent. The regenerated cellulose exhibited strong structural and morphological changes, as revealed by XRD and SEM analyses. These changes dramatically affect the hydrolytic reactivity of cellulose with dilute mineral acids.

As a consequence, the glucose yield obtained from the deconstructed–reconstructed cellulose was substantially higher than that achieved through hydrolysis of the starting cellulose. Factors that affect the hydrolysis reaction include the type of cellulose substrate, the type of IL used in pretreatment, and the type of acid used in the hydrolysis step. The best results were obtained by treating cellulose with IL and using phosphotungstic acid (0.067 mol L^{-1}) as a catalyst at 413 K. Under these conditions, the conversion of cellulose was almost complete (> 99%), with a glucose yield of 87% after only 5 h of reaction.

Introduction

The progressive increase in global oil consumption and the associated depletion of oil reserves has encouraged scientists to explore alternative routes to the synthesis of fuels and chemicals.^[1] A promising feedstock for commercial-scale production of biofuels and chemicals is lignocellulosic biomass, which is abundant and readily available. Lignocellulose, which forms the structural framework of plants, consisting of cellulose, hemicellulose, and lignin, is first broken down and hydrolyzed into simple fermentable sugars.^[2] A major bottleneck is the need to disarray lignin, which is present as a protective covering and makes cellulose and hemicellulose recalcitrant to enzymatic hydrolysis. A number of biomass deconstruction or pretreatment processes (physical, chemical, and biological) have been used to break the structural framework of plants and to depolymerize lignocellulose biomass. Some of these pretreatments include treatments with dilute sulfuric acid,^[3,4] aqueous ammonia at high temperature,^[5,6] lime^[7,8] or organic solvents,^[9,10] as well as treatments by oxidative delignification,^[11] microwave irradiation,^[12–14] ball milling,^[15,16] or steam explosion.^[17–19]

Examination of these cellulose deconstruction methods reveals that no pretreatment technology offers 100% conversion of cellulose into fermentable C_5/C_6 sugars. Some biomass is always lost, which affects the final yield and increases the cost of the finished fuel or chemical product. Although pretreat-

ment of lignocellulosic biomass with a combination of two or more pretreatment processes has shown promising results, there is room for further development,^[20] through either the development of a new, efficient treatment process or the improvement of an existing process to provide better performance.

Conventional methodologies have technological limitations that compromise the efficiency of the separation processes, such as insufficient selectivity or partial degeneration of the products. Hence, the current and envisaged investigations are focused on understanding the pathways to improve the selective separation of lignocellulose compounds to achieve feasible and sustainable processes.^[21]

In pioneering work, Fort et al. reported that solvent systems based on 1-butyl-3-methylimidazolium chloride ([BMIM]Cl)/ $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ mixed in a proportion of 84/16 wt% were capable of partially dissolving wood chips.^[22] They noted that, based on the color intensity and viscosity of the solution mixture, wood particles swelled and were reduced in size during dissolution. Similarly, Kilpeläinen et al. reported the complete dissolution of 8 wt% dried wood sawdust samples (Southern pine) in both [BMIM]Cl and 1-allyl-3-methylimidazolium chloride ([AMIM]Cl) ionic liquids (ILs) in the temperature range of 80 to 130 °C after 8 h.^[23] ILs have been recognized as promising solvents for the mild and rapid hydrolysis of biomass feedstocks.^[24–28] However, the high cost of ILs can be a potential drawback. Therefore, ILs should be recovered from the hydrolyzate efficiently through the use of a cost-effective separation technology. Preliminary calculations show that at least 98% of the ILs should be recovered for an economically feasible process.^[26] Extraction appears to be challenging because ferment-

[a] S. Morales-de la Rosa, Dr. J. M. Campos-Martin, Prof. Dr. J. L. G. Fierro
Sustainable Energy and Chemistry Group (EQS)
Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, CSIC
Marie Curie, 2 Cantoblanco, 28049 Madrid (Spain)
E-mail: j.m.campos@icp.csic.es
jlfierro@icp.csic.es
Homepage: <http://www.icp.csic.es/eqsgroup/>

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad Intelectual
Oficina internacional



(10) Número de Publicación Internacional
WO 2015/004296 A1

(43) Fecha de publicación internacional
15 de enero de 2015 (15.01.2015) **WIPO | PCT**

- (51) Clasificación Internacional de Patentes: *C13K 1/02* (2006.01) *D21C 3/20* (2006.01)
C08J 3/09 (2006.01)
- (21) Número de la solicitud internacional: PCT/ES2014/070533
- (22) Fecha de presentación internacional: 30 de junio de 2014 (30.06.2014)
- (25) Idioma de presentación: español
- (26) Idioma de publicación: español
- (30) Datos relativos a la prioridad: P 201331029 8 de julio de 2013 (08.07.2013) ES
- (71) Solicitante: **CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC)** [ES/ES]; Serrano, 117, E-28006 Madrid (ES).
- (72) Inventores: **MORALES DE LA ROSA, Silvia**; Instituto de Catálisis y Petroleoquímica (ICP), C/ Marie Curie, 2, Campus de Cantoblanco, E-28049 Madrid (ES). **GARCÍA FIERRO, José Luis**; Instituto de Catálisis y Petroleoquímica (ICP), C/ Marie Curie, 2, Campus de Cantoblanco, E-28049 Madrid (ES). **CAMPOS MARTÍN, José Miguel**; Instituto de Catálisis y Petroleoquímica (ICP), C/ Marie Curie, 2, Campus de Cantoblanco, E-28049 Madrid (ES).
- (74) Mandatario: **PONS ARIÑO, Ángel**; Glorieta Rubén Darío, 4, E-28010 Madrid (ES).
- (81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Publicada:
— con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))



WO 2015/004296 A1

(54) Title: METHOD FOR THE HYDROLYSIS OF LIGNOCELLULOSIC BIOMASS

(54) Título : PROCEDIMIENTO DE HIDRÓLISIS DE BIOMASA LIGNOCELULÓSICA

(57) Abstract: The invention relates to a method for the hydrolysis of lignocellulosic biomass, comprising a pre-treatment stage using ionic liquids and a subsequent hydrolysis treatment using acidic reagents. The method of the invention demonstrates that the speed of the hydrolysis increases by between 2 and 8 times depending on the temperature and the concentration of acid, as well as the type of acid used in the hydrolysis.

(57) Resumen: El objeto de la invención es un procedimiento de hidrólisis de biomasa lignocelulósica que comprende una etapa de pretratamiento mediante líquidos iónicos y un posterior tratamiento de hidrólisis con reactivos ácidos. Mediante el procedimiento de la invención se ha comprobado que se aumenta la velocidad de la hidrólisis entre 2 y 8 veces dependiendo de la temperatura y de la concentración de ácido y tipo de ácido utilizado en la hidrólisis.

