



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**



FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

CARACTERIZACIÓN DE LIGNINA KRAFT PRECIPITADA CON TÉCNICAS ECO-AMIGABLES Y ESTUDIO DEL SISTEMA DE PRECIPITACIÓN MEDIANTE MODELADO MOLECULAR

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE INGENIERO QUÍMICO

PRESENTA:

ULISES SALAZAR MARTÍNEZ

DIRECTOR:

DR. AGUSTÍN JAIME CASTRO MONTOYA

CODIRECTOR:

DRA. NANCY ELOÍSA RODRÍGUEZ OLALDE

MORELIA, MICHOACÁN (MARZO, 2020)

Dedicatoria

A mis padres, Claudia e Ignacio, por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad; muchos de mis logros se los debo a su gran esfuerzo y dedicación, entre los que se encuentra este. Me formaron con reglas y con algunas libertades, pero al final de cuentas, me motivaron constantemente para alcanzar mis sueños.

Gracias de todo corazón, madre y padre.

Agradecimientos

Son tantas las personas que de alguna u otra forma han contribuido a la conclusión a este proyecto de tesis. En primer lugar, quiero agradecer a la Dra. Nancy Eloísa Rodríguez Olalde y el Dr. Agustín Castro Montoya, por toda la confianza, soporte, conocimiento y sabiduría transmitidos a lo largo de este proyecto. A la Dra. Nancy, que desde un principio compartimos el interés por el modelado molecular, y que siempre me brindó su tiempo y apoyo cuando lo necesitaba. Al Dr. Agustín, excelente profesor con quien tuve el gusto de compartir un año de mi carrera y de quien aprendí a ser mejor profesionalista y ser humano.

Al Dr. Pedro Navarro, por brindarme el conocimiento sobre química computacional para sustentar este proyecto, ayudándome a resolver todas las dudas relacionadas sobre el tema.

A Lluvia Martínez, quien siempre ha estado a mi lado apoyándome incondicionalmente y motivándome a lograr todos mis anhelos.

A todos mis amigos y compañeros, que siempre estuvieron a mi lado en los momentos buenos y malos, pero que siempre trataban de animarme a culminar este proyecto.

Al PRODEP, que a través del Proyecto UMSNH-PTC-401 apoyó esta investigación.

Contenido

Índice de Figuras	vi
Índice de Tablas	viii
Resumen	ix
Abstract	x
1. Introducción	1
2. Marco teórico	2
2.1 Madera	2
2.1.1 Celulosa	3
2.1.2 Hemicelulosa	3
2.1.3 Lignina	4
2.1.4 Extraíbles	10
2.2 Proceso Kraft para la obtención de celulosa	11
2.3 Licor negro como fuente importante de lignina.....	12
2.4 Métodos de extracción y aislamiento de lignina	13
2.5 Precipitación de lignina Kraft proveniente del licor negro	14
2.6 Determinación de la estructura química de la lignina con técnicas espectroscópicas	15
2.7 Química computacional	16
2.7.1 Modelado molecular y modelo químico	18
3. Antecedentes	20
3.1 Caracterización del licor negro	20
3.2 Precipitación y caracterización de la lignina Kraft	20
3.3 Modelado molecular	22
4. Justificación	23

5. Hipótesis	24
6. Objetivo General	25
7. Objetivos particulares	25
8. Metodología	26
8.1 Precipitación y caracterización	26
8.1.1 Caracterización del licor negro	27
8.1.2 Precipitación de lignina.....	28
8.1.3 Caracterización fisicoquímica de la lignina.....	30
8.1.3.1 Pruebas de solubilidad	30
8.1.3.2 Poder calorífico.....	31
8.1.4 Caracterización estructural de las ligninas	32
8.2 Modelado molecular	32
8.2.1 Optimización de LK y los ácidos	33
8.2.2 Potencial electrostático molecular.....	33
8.2.3 Formación de complejos y energías de interacción molecular	34
9. Resultados y discusiones	36
9.1 Resultados experimentales	36
9.1.1 Propiedades fisicoquímicas del licor negro Kraft	36
9.1.2 Precipitación y caracterización de las ligninas.....	37
9.1.3 Solubilidad de las ligninas.....	38
9.1.4 Poder calorífico	39
9.1.5 FTIR de las ligninas separadas.....	39
9.2 Resultados teóricos	43
9.2.1 Optimización de las geometrías de lignina Kraft y los agentes ácidos de precipitación	43

9.2.2	Potencial Electrostático Molecular de la LK y los agentes de precipitación	45
9.2.3	Análisis de las energías de interacción entre LKS y los ácidos	48
10.	Conclusiones	53
11.	Recomendaciones	55
	Bibliografía	56

Índice de Figuras

Figura 1. Esquema de la pared celular vegetal.....	2
Figura 2. Estructura de una cadena de celulosa.....	3
Figura 3. Estructura del xilano, principal constituyente de la hemicelulosa en la madera.	4
Figura 4. Estructuras relacionadas con la lignina	5
Figura 5. Unidades que conforman principalmente a la lignina.. ..	6
Figura 6. Estructuras de resonancia de los radicales libres formadas por la deshidrogenación de alcohol coniferílico.	6
Figura 7. Dilignol formado a partir de los radicales libres del monlignol.	7
Figura 8. Modelo estructural de la lignina de abeto.	8
Figura 9. Enlace β -O-4 entre dos unidades monoméricas.	8
Figura 10. Principales dímeros formados de la unión de radicales libres estables que se generan de la deshidrogenación del alcohol coniferílico.	9
Figura 11. Esquema de la producción de pulpa mediante el Proceso Kraft.	11
Figura 12. Ejemplos de modos vibracionales presentes en las moléculas.	16
Figura 13. Licor negro de cocción de madera <i>Pinus</i> spp.	29
Figura 14. Suspensión de la lignina precipitada.	29
Figura 15. Resultados de la prueba de solubilidad para lignina.....	31
Figura 16. Lignina secada al aire libre.....	36
Figura 17. Equipo Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR Spectrometer.	32
Figura 18. Modelo representativo de la LKS (San Juan, 1997).	33
Figura 19. Geometrías optimizadas de las especies implicadas en el estudio computacional	44
Figura 20. Potencial electrostático molecular de la Lignina Kraft.....	45
Figura 21. Sitios reactivos de lignina Kraft propuestos para la formación de los complejos con ácidos	46
Figura 22. Potencial electrostático molecular de los ácidos.....	47
Figura 23. Complejo formado entre lignina y ácido sulfúrico	48
Figura 24. Optimización del complejo lignina-ácido sulfúrico en el sitio OH_Alifático... ..	48
Figura 25. Complejo LKA1_OH_Alifático optimizado.....	50

Figura 26. Complejo LKA2_MeO	50
Figura 27. Complejo LKA3_MeO optimizado.....	51
Figura 28. Complejo LKA4_OH_Fenólico optimizado.....	51
Figura 29. Complejo LKA5_MeO optimizado.....	52

Índice de Tablas

Tabla 2. Porcentaje de los diferentes monolignoles presentes en la lignina para varios tipos de plantas.	10
Tabla 3. Composición química del licor negro subproducto del proceso Kraft para maderas suaves.	12
Tabla 4. Diferentes tipos de métodos para el aislamiento de la lignina.....	13
Tabla 5. Tipos de algunos métodos teóricos disponibles en Gaussian para el modelado molecular.....	19
Tabla 6. Ácidos orgánicos propuestos para la precipitación de la lignina y su constante de disociación a 25 °C.....	27
Tabla 7. Nomenclatura de las ligninas precipitadas.....	27
Tabla 8. Técnicas utilizadas en la caracterización fisicoquímica del licor negro y lignina.	28
Tabla 9. Parámetros de solubilidad de Hildenbrand de los distintos solventes.....	31
Tabla 10. Propiedades físicas del licor negro Kraft.....	37
Tabla 11. Porcentaje de recuperación de la lignina Kraft con base en los sólidos secos totales de licor negro Kraft.....	37
Tabla 12. Solubilidad de la lignina Kraft en disolventes de diferente polaridad y parámetro de Hildebrand.	38
Tabla 13. Poder calorífico de las ligninas.....	39
Tabla 14. Frecuencias de los resultados del FTIR para las ligninas obtenidas.....	42
Tabla 15. Energías de la optimización de las especies neutras.....	43
Tabla 16. Energías de optimización de los complejos formados entre lignina y los ácidos considerando los diferentes sitios reactivos de la lignina Kraft.....	49
Tabla 17. Energías de optimización para los complejos entre lignina y los ácidos.	49

Resumen

La lignina, junto con la celulosa y la hemicelulosa, es uno de los principales componentes de la biomasa lignocelulósica que constituye de un 15 a 35% del peso y contiene la mayor cantidad de energía de las tres fracciones. La lignina es un polímero amorfo y heterogéneo que está constituido principalmente por tres monómeros fenilpropano que se unen aleatoriamente mediante enlaces C-O-C y C-C entre las unidades. Al ser el único polímero en la naturaleza que contiene anillos aromáticos, resulta ser un material de alto potencial comercial. Dependiendo de la madera, proceso de extracción y método de separación que se utilice para obtenerla, la lignina contiene una estructura muy variada por lo que es necesario caracterizarla antes de valorar su transformación en productos de valor agregado. En este trabajo, se logró precipitar lignina del licor negro Kraft utilizando por primera vez para este fin los ácidos orgánicos cítrico, málico y láctico. Se realizó la caracterización fisicoquímica (solubilidad y poder calorífico) y estructural (FT-IR) de la lignina precipitada. Mediante la teoría de los funcionales de la densidad (DFT) se estudió el sistema de precipitación propuesto analizando la interacción entre el modelo de lignina Kraft y cada uno de los ácidos. Los resultados experimentales mostraron que con los ácidos orgánicos se obtienen mayores rendimientos de precipitación y menor degradación de la lignina que con el ácido sulfúrico. Los resultados teóricos indicaron que es importante la naturaleza del ácido que se utilice en la etapa de precipitación ya que interactúan de manera específica con la lignina Kraft.

Palabras clave: precipitación de lignina, caracterización de lignina, licor negro, ácidos orgánicos, DFT.

Abstract

Lignin, together with cellulose and hemicellulose, is one of the main components of lignocellulosic biomass that constitutes 15 to 35% of the weight and contains the greatest amount of energy of the three fractions. Lignin is an amorphous and heterogeneous polymer that is mainly constituted by three phenylpropane monomers that are randomly linked using C-O-C and C-C bonds between the units. Being the only polymer in nature that contains aromatic rings, it turns out to be a material of high commercial potential. Depending on the wood, extraction process and separation method used to obtain it, lignin contains a very varied structure, so it is necessary to characterize it before assessing its transformation into value-added products. In this work, it was possible to precipitate lignin from Kraft black liquor using citric, malic and lactic organic acids for the first time. Physicochemical (solubility and calorific value) and structural (FT-IR) characterization of the precipitated lignin was performed. Using the theory of functional density (DFT), the proposed precipitation system was studied by analyzing the interaction between the Kraft lignin model and each of the acids. Experimental results showed that higher yields of precipitation and less degradation of lignin are obtained with organic acids than with sulfuric acid. Theoretical results indicated that the nature of the acid that is used in the precipitation stage is important since they interact specifically with Kraft lignin.

1. Introducción

La lignina es uno de los polímeros naturales más abundantes cuyas características estructurales la hacen muy atractiva para la producción de bio-productos. Por esta razón, en los últimos años se han investigado técnicas de obtención y aislamiento de la lignina que proporcionen buenos rendimientos y que no sean dañinas para el medio ambiente, además de que su caracterización estructural es de suma importancia para diseñar tecnologías que puedan ser integradas dentro de las denominadas biorrefinerías del futuro. En México, cada año se producen grandes cantidades de lignina mediante la industria de pulpa y papel como un subproducto de deslignificación de la madera, sin embargo, esta lignina es actualmente utilizada como combustible para generar energía eléctrica para abastecimiento de la planta misma, y no se ha hecho mucho por estudiarla y poder integrar corrientes de proceso donde se le pueda aprovechar para obtener productos de mayor valor agregado. La estructura molecular de la lignina es muy variada dependiendo del tipo de madera de donde provenga y el método de obtención y aislamiento utilizado. El proceso Kraft es actualmente el proceso industrial más utilizado globalmente de donde se puede extraer lignina. En este proceso a la madera se le trata químicamente para separar la celulosa, dejando como residuos a la lignina álcali, azúcares y otros subproductos de reacción en una solución conocida como licor negro, de donde se puede precipitar y separar a la lignina mediante el uso de un ácido que disminuye el pH de la solución haciendo que se vuelva insoluble y se pueda separar. Sin embargo, este proceso degrada a la lignina y hace que se vuelva menos atractiva para el mercado. Otro hecho importante es que la naturaleza del ácido que se utilice para precipitar a la lignina también afecta a la ya degradada estructura de la lignina. Dicho esto, surgen preguntas como ¿con qué rendimiento se puede obtener lignina Kraft?, ¿qué características presentan las ligninas precipitadas?, ¿cómo afecta el tipo de ácido utilizado para la precipitación?, ¿es atractiva, estructuralmente hablando, para investigar posibles procesos de transformación? Las respuestas a estas preguntas se encontraron a lo largo de este trabajo de investigación.

2. Marco teórico

2.1 Madera

La madera es un material anisotrópico encontrado como principal contenido del tronco de un árbol (Figura 1). Los árboles se caracterizan por tener troncos que crecen cada año y que están compuestos por fibras de celulosa unidas con lignina. Las plantas que no producen madera son conocidas como herbáceas. Como la madera la producen y utilizan las plantas con fines estructurales, es un material muy resistente y gracias a esta característica y a su abundancia natural, es utilizada ampliamente por los humanos, ya desde tiempos muy remotos.

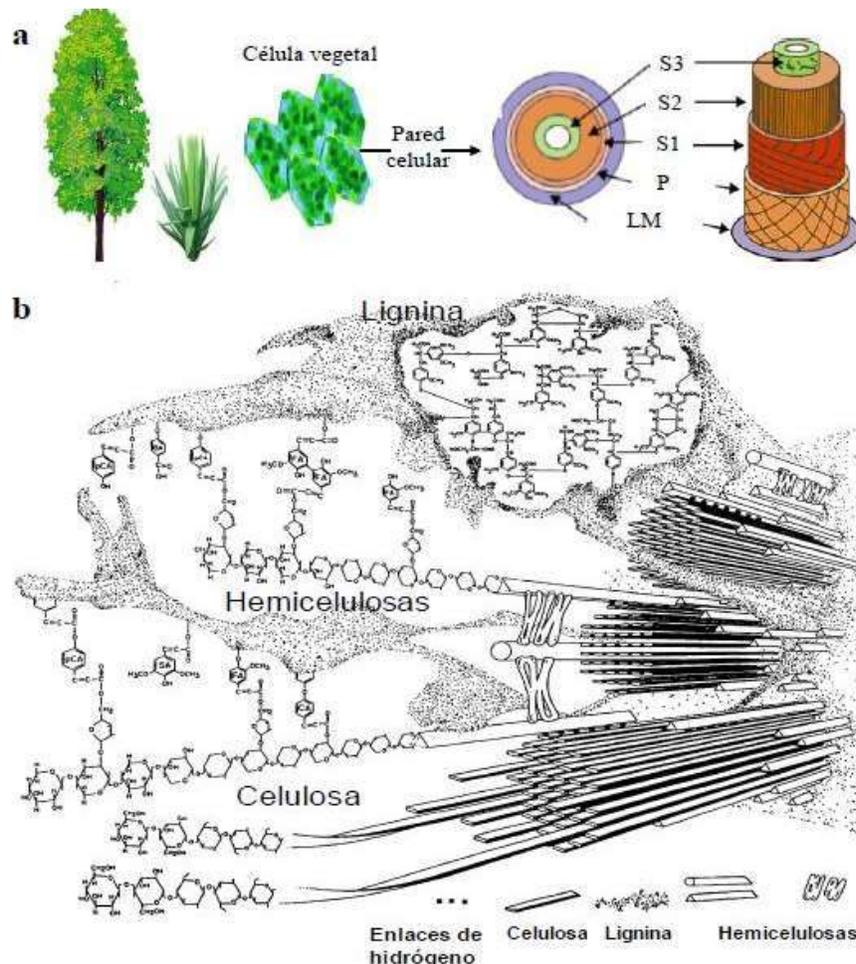


Figura 1. a) Esquema de la pared celular vegetal, constituida por la lámina media (LM), una pared primaria (P) y una pared secundaria (S), que se puede diferenciar en la capa externa (S1), media (S2) e interna (S3) (adaptado de Côté, 1967), y b) representación esquemática de los principales contribuyentes de la pared celular (adaptado de Bidlack, *et al.*, 1992).

2.1.1 Celulosa

La celulosa es el polímero más abundante de la Tierra (Klemm, *et al.*, 2005), recibe el nombre de biopolímero ya que forma parte de las estructuras biológicas vegetales. La celulosa tiene una estructura lineal o fibrosa, en la que se establecen múltiples puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de distintas cadenas yuxtapuestas de glucosa, haciéndolas impenetrables al agua, lo que hace que sea insoluble en agua, y originando fibras compactas que constituyen la pared celular de las células vegetales. En las maderas, la celulosa, representa cerca del 50% del material lignocelulósico seco (Aitken, *et al.*, 1988). Su estructura está formada por monómeros de glucosa unidos por enlaces en el carbono 1 y el carbono 4 por medio de una unión β como se puede apreciar en la Figura 2 (Laureano-Perez, *et al.*, 2005). La formación de las cadenas de celulosa empieza a nivel de biosíntesis, mediante interacciones inter- e intramoleculares no covalentes (Gómez, *et al.*, 2013).

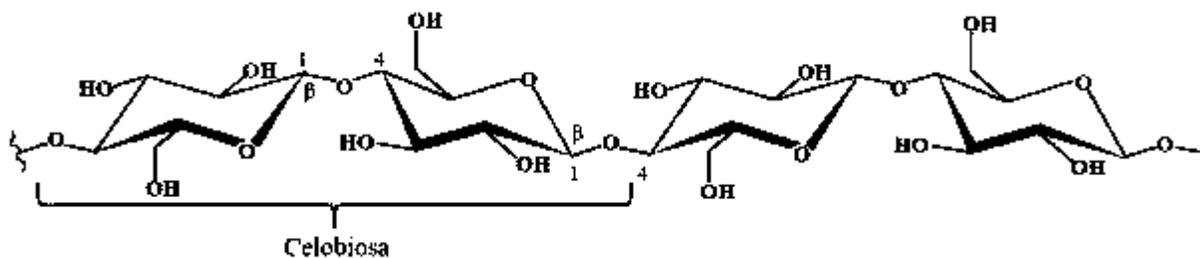


Figura 2. Estructura de una cadena de celulosa (Prinsen, 2013).

2.1.2 Hemicelulosa

La hemicelulosa (Figura 3) es un heteropolímero, amorfo y variable, la cual está compuesta por hexosas (D-glucosa, D-galactosa, y D-manosa), así como pentosas (D-xilosa y L-arabinosa) y puede contener ácidos urónicos (Saha, 2003). La hemicelulosa sirve como una conexión entre la lignina y las fibras de celulosa y le da al conjunto de celulosa-hemicelulosa-lignina rigidez. Las principales hemicelulosas que se encuentran en los materiales lignocelulósicos son galactomananos, xiloglucanos, galactoglucamanos, por mencionar algunos.

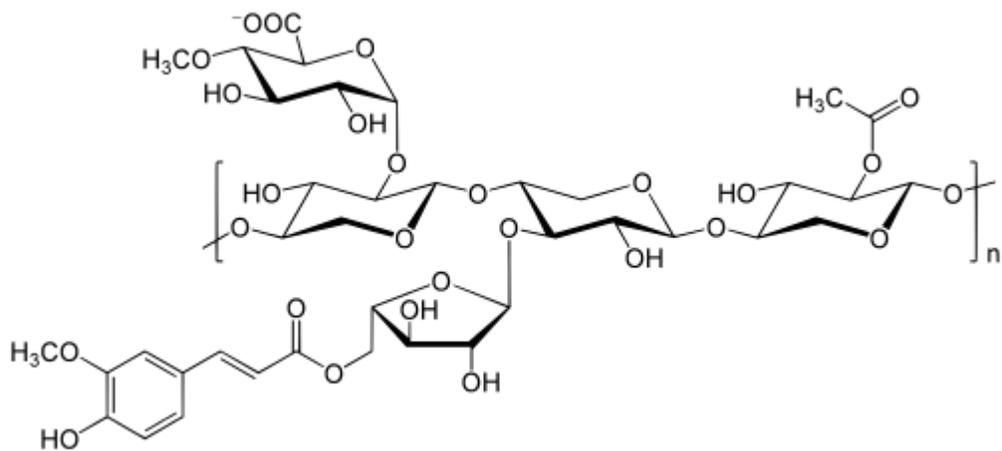


Figura 3. Estructura del xilano, principal constituyente de la hemicelulosa en la madera (Prinsen 2013).

2.1.3 Lignina

La lignina es uno de los biopolímeros más abundantes en la naturaleza junto con la celulosa y las hemicelulosas. Se encuentra presente en recursos maderables y no maderables. El objetivo principal de la lignina es dar a la planta el soporte estructural, impermeabilidad, y la resistencia contra el ataque microbiano y el estrés oxidativo. Dependiendo del tipo de biomasa, la lignina está presente en un 13 a 35 % (Azadi, Inderwildi, Farnood, & King, 2013). P. Klason, como citó Adler, 1977, p. 170, encontró que la estructura de la lignina se encuentra relacionada con el alcohol coniferílico o coniferaldehído (Klason, 1908) (Figura 4). Para llegar a esta conclusión, P. Klason (1897) observó que mezclando soluciones de alcohol coniferílico con sulfito ácido de sodio se producía un ácido sulfónico parecido al lignosulfonato obtenido del proceso al sulfito para la obtención de pulpa celulósica.

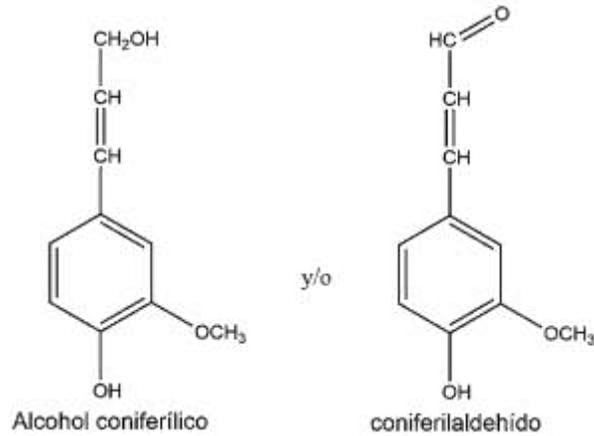


Figura 4. Estructuras relacionadas con la lignina encontradas por P. Klason (1897).

Por otra parte, P. Klason (1908) consideró a la lignina como una sustancia de alto peso molecular y diez años más tarde propuso que las unidades alcohol coniferílico se podrían unir unas con otras a través de una continua condensación entre grupos de alcohol e hidroxilos fenólicos. Aunque Klason no pudo fundamentar estas ideas experimentalmente, sin duda influenciaron las mentes de los próximos químicos que estudiarían la estructura de la lignina. Actualmente, con la ayuda de procedimientos analíticos estandarizados y de una instrumentación cada vez más sofisticada, la estructura de la lignina se ha definido de una forma casi perfecta (Dence & Lin, 1992).

Estructuralmente, la lignina se encuentra formada por tres alcoholes, comúnmente llamados monolignoles, con unidades fenil-propano: p-hidroxifenil (H), guayacil (G) y siringil (S) los cuales se muestran en la Figura 5 (Adler, 1977).

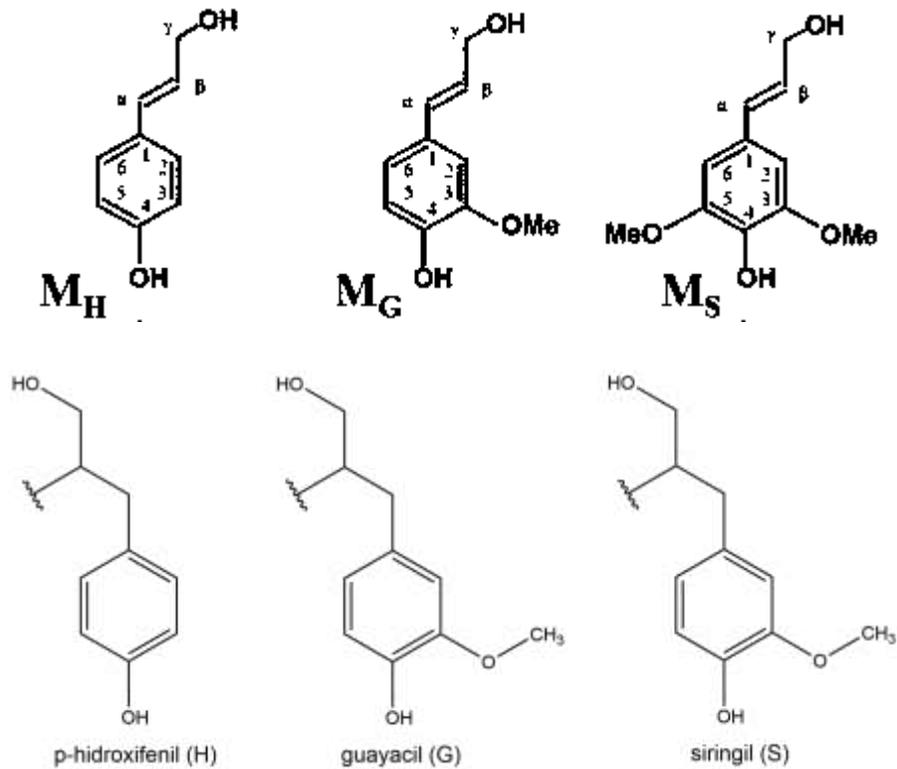


Figura 5. Las unidades H, G y S que conforman la lignina se forman a partir del acoplamiento de los monolignoles M_H (alcohol p-cumarílico), M_G (alcohol coniferílico) y M_S (alcohol sinapílico) (Adler, 1977).

La deshidrogenación de alcohol coniferílico en presencia de aire y una enzima oxidante produce un polímero parecido al de la lignina de abeto (ver Figura 8). El resultado es que el alcohol coniferílico al deshidrogenarse produce los siguientes radicales libres (Figura 6.).

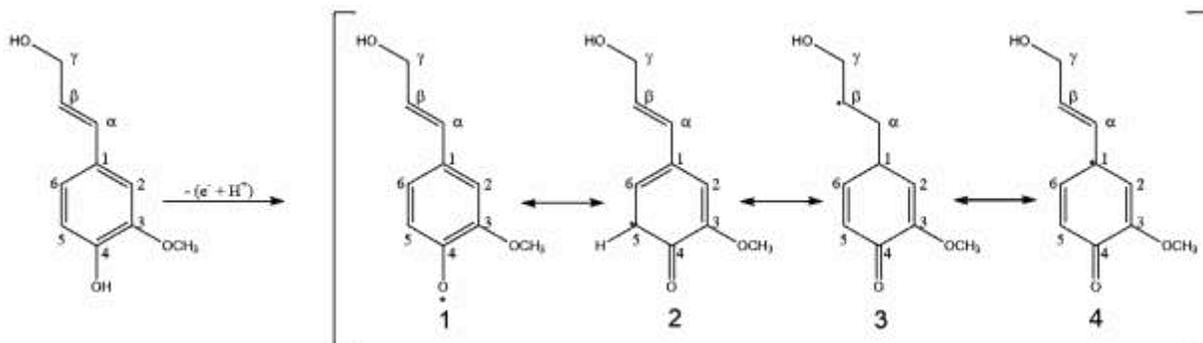


Figura 6. Estructuras de resonancia de los radicales libres formadas por la deshidrogenación de alcohol coniferílico.

Así, la formación de la lignina empieza con la formación de un dilignol al unir los radicales 6.1 y 6.3 como se observa en la Figura 7, además de otros dilignoles posibles.

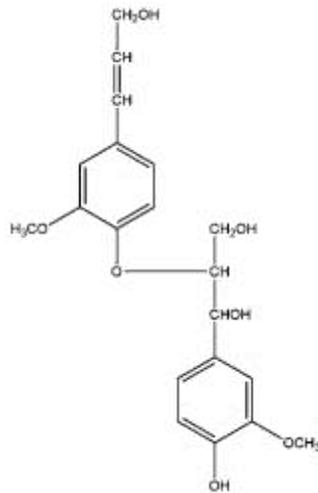


Figura 7. Dilignol que se forma al unir las estructuras 6.1 y 6.3.

El proceso de biosíntesis de la lignina, que consiste esencialmente en reacciones de acoplamiento de radicales seguidas de la adición de agua o de grupos hidroxilos primarios, secundarios y fenólicos a los intermediarios tipo quinona, conduce a la formación de un polímero de tres dimensiones como la celulosa y las proteínas. Por esta razón, la lignina no se considera un compuesto definido constitucionalmente, sino un compuesto de materiales física y químicamente heterogéneos cuya estructura puede estar representada por modelos como los propuestos para las ligninas de “abeto” y “haya” (ver Figura 8). Cabe señalar, que estos modelos no deben tratarse como una representación de las fórmulas estructurales de la lignina, sino como una guía para ilustrar los tipos y modos de unión de los elementos estructurales que la constituyen y las proporciones en que se cree que ocurren en la lignina.

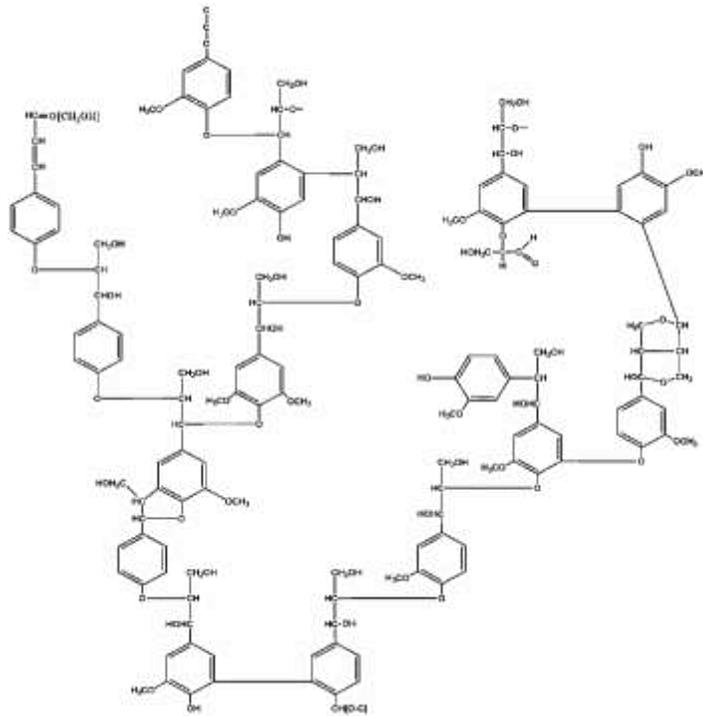


Figura 8. Modelo estructural de la lignina de abeto. (Adler, 1977).

Los elementos estructurales que comprenden la lignina se unen mediante enlaces tipo carbono-carbono y éter. Así, cuando un carbono beta se une al oxígeno de otra unidad que está en el carbono 4 a este enlace se le representa como β -O-4 (ver Figura 9), y si se une al carbón 5 del anillo, como β -5. De esta forma, los tipos de enlace que se dan principalmente entre las unidades monoméricas son: β -O-4, β -5, α -O-4, 5-5, β -1, 4-O-5 y β - β .

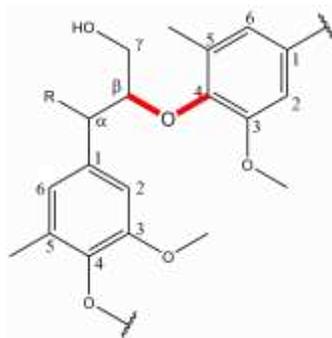


Figura 9. Enlace β -O-4 entre dos unidades monoméricas (Azadi, *et al.*, 2013).

La forma radical de los monolignoles prefieren unirse en la posición β , creando en su mayoría dímeros con enlaces tipo β -O-4, β - β y β -5.

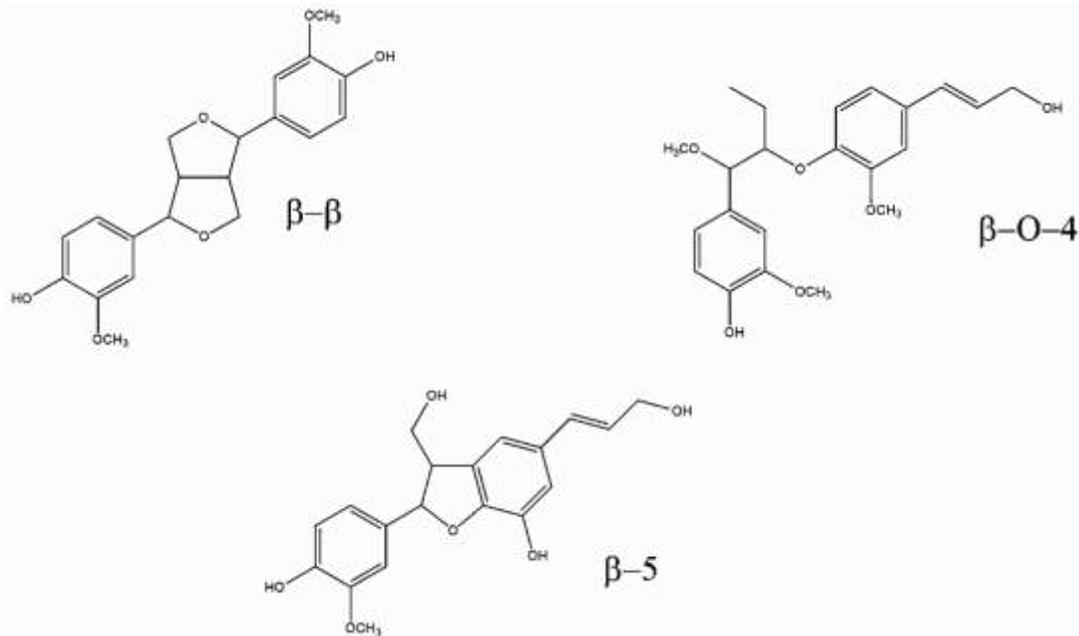


Figura 10. Principales dímeros formados de la unión de radicales libres estables que se generan de la deshidrogenación del alcohol coniferílico (Adaptado de Stark, Yelle, & Agarwal, 2016).

Los tipos de enlaces y la frecuencia con la que se les encuentra están resumidos en la Tabla 1.

Tabla 1. Enlaces más abundantes en la lignina y su proporción (número de enlaces por cada 100 unidades C_6C_3). (Dence & Lin, 1992, p. 6).

Uniones	Madera suave (abeto)	Madera dura (abedul)
β -O-4	49-51	65
α -O-4	6-8	-
β -5	9-15	6
β -1	2	15
5-5	9.5	2.3
4-O-5	3.5	1.5
β - β	2	5.5

Dependiendo de la naturaleza de la lignina, la presencia y abundancia de los monómeros se diversifica. La lignina de coníferas está formada en su gran mayoría por unidades G, las latifoliadas por unidades G y S y la biomasa que no es maderable también contiene en su estructura unidades H. En la Tabla 2 se muestran los distintos porcentajes en las que se le encuentra dependiendo del tipo de madera.

Tabla 2. Porcentaje de los diferentes monolignoles presentes en la lignina para varios tipos de plantas (Adaptada de Gellerstedt & Henriksson (2008)).

Tipo de planta		Porcentajes		
		H	G	S
Gimnospermas	Coníferas (maderas suaves)	<5	>95	0-5
Angiospermas	Eucotiledoneas (maderas duras)	0-8	25-50	45-75
	Monocotiledonas (hierbas)	5-35	35-80	20-55

2.1.4 Extraíbles

Los extraíbles, resinas o componentes extraños de la madera son compuestos orgánicos que pueden ser extraídos con agua o solventes orgánicos neutros o ser volatilizados con vapor. Cerca de 3 % a 10 % del peso de la madera en base seca consiste en extraíbles. Las maderas de gimnospermas contienen de 4 % a 8 % y las maderas de angiospermas de 2 % a 4 %. La importancia de ellos no puede medirse por las cantidades en que se presentan, pero sí por los efectos que producen (Browning, 1967). Los extraíbles se localizan en la lamela media entre las células en pequeñas cantidades, pero en grandes proporciones en los radios medulares y en las cavidades celulares. Los terpenos, ácidos resínicos y sus esterés se localizan en los canales resiníferos en gimnospermas, donde a su vez, son generados especialmente cuando la madera envejece y los ácidos resínicos asumen una función preservadora. Las latifoliadas contienen una cantidad considerable de resinas, ácidos grasos y material insaponificable en los vasos del duramen y en las células de parénquima que, al entrar al proceso de producción, generan incrustaciones en los equipos de pulpa y/o papel.

2.2 Proceso Kraft para la obtención de celulosa

Para obtener pulpa de papel la madera se somete a un proceso químico de pulpeo, llamada proceso Kraft, cuyo objetivo es separar a los tres componentes principales de la materia prima vegetal: celulosa, hemicelulosa y lignina. Sin embargo, dichos componentes sufren un cambio en su estructura. Este proceso químico consiste en agregar una mezcla de Na_2S y NaOH , llamado licor blanco, que forman aniones hidróxilo e hidrosulfuro, y junto con la madera en forma de astillas a un digestor donde ocurre la cocción a un rango de temperatura entre 155 y 175°C durante un período de tiempo de 1 a 3 horas. En este proceso la disolución de la lignina ocurre mediante la reacción con los aniones hidróxilo e hidrosulfuro para formar fragmentos solubles en medio alcalino. Generalmente, se encuentran dos tipos de reacciones en la lignina: (i) reacciones de degradación que resulta fragmentos de lignina más pequeños y permiten la solubilidad en solución en soluciones álcali y (ii) reacciones de condensación que forman enlaces estables en medio alcalino y que afectan la eficiencia de la digestión. Al término de la cocción, se obtiene la pulpa y licor negro, este último se compone de una mezcla de lignina álcali, sales de hidrólisis y productos de sulfonación. El licor negro, después se concentra mediante evaporación de 10-15% a un 70-80%. Posteriormente se introduce a una caldera de recuperación para producir energía eléctrica. El fundido de la caldera es tratado con agua para formar el licor verde que finalmente se somete a un tratamiento de caustificación para obtener nuevamente el licor blanco que se regresa al digestor (San Juan, 1997). En la Figura 11 se representa un esquema del proceso Kraft.

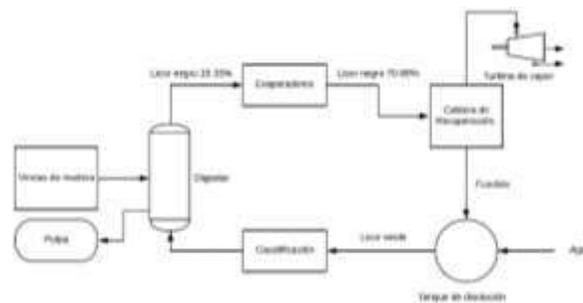


Figura 11. Esquema de la producción de pulpa mediante el Proceso Kraft (Adaptado de Rodríguez, 2016).

A pesar de que el proceso Kraft es el más utilizado globalmente de donde se puede extraer lignina, las fábricas de obtención de pulpa de celulosa han concentrado su ingeniería en un sistema para la recuperación de los reactivos del licor blanco y de obtención de energía a través de la combustión del licor negro, razón por la que no se ha optado por recuperar la lignina Kraft (LK) para su posterior transformación. Este sistema de recuperación es de suma importancia para la economía y el rendimiento de la planta, pudiendo concentrarse únicamente en el negocio de pulpa celulósica y papel. Por esta razón, la cantidad de lignina Kraft recuperada es poca en comparación con la lignina proveniente del proceso al sulfito, la cual se utiliza como materia prima para la obtención de productos químicos (Chávez-Sifontes & Domine, Lignina, estructura y aplicaciones: Métodos de despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industrial., 2013).

2.3 Licor negro como fuente importante de lignina

Como se mencionó anteriormente, el licor negro (LN) es un subproducto del proceso Kraft para la obtención de celulosa el cual está constituido por compuestos orgánicos (lignina, polisacáridos y compuestos resinosos de baja masa molecular) e inorgánicos (iones de sales solventes) (Cardoso, *et al.*, 2006). En la Tabla 3 se muestra la composición química de licor negro.

Tabla 3. Composición química del licor negro subproducto del proceso Kraft para maderas suaves (San Juan, 1997).

Producto	Cantidad kg/ton de pulpa
Metanol	5
Acetatos	100-200
Productos de la degradación de carbohidratos	350- 400
Compuestos alifáticos del azufre	1
Aguarrás	8-10
Tall oil	20-100
Álcali lignina	400-600

Como se observa en la Tabla 3 la lignina álcali está presente en un 45 a 55% en el licor negro, razón por la que resulta muy atractivo para extraer lignina del proceso Kraft.

2.4 Métodos de extracción y aislamiento de lignina

Existen distintos métodos para aislar lignina del material lignocelulósico (Tabla 4) que se pueden dividir en dos grupos principales. El primero de ellos es mediante la solubilización de la celulosa y la hemicelulosa, dejando la lignina insoluble; mientras que el segundo grupo implica la solubilización de la lignina, dejando a la celulosa y hemicelulosa como residuos insolubles.

Debido a la naturaleza heterogénea de las materias primas (maderable y no maderable), no hay ningún método disponible actualmente para el aislamiento cuantitativo de lignina natural o residual, sin el riesgo de modificarla estructuralmente durante el proceso. Sin embargo, la información obtenida sobre la reactividad química y la estructura de la lignina aislada es valiosa (Bauer, *et al.*,2012).

Tabla 4. Diferentes tipos de métodos para el aislamiento de la lignina. (Adaptada de Obst & Kirk, 1988)

Preparación	Metodología	Observaciones
Lignina de madera molida (MWL)	Extracción acuosa con dioxano de la madera finamente molida	Se obtiene alrededor del 20% de rendimiento a partir de la lignina original
Lignina enzimática de madera molida (MWEL)	Residuo que queda después de la hidrólisis de los carbohidratos de la madera finamente molida	Rendimiento del 95%, pero contiene 10-12% de carbohidratos, no es completamente soluble en los solventes comunes.
Lignina enzimática celulosa (CEL)	Fracción soluble resultante de la MWEL	Similar a la MWL
Lignina nativa de Braun	Extracto etanólico de madera residual	Rendimientos y peso molecular más bajos que los obtenidos por MWL
Ligninas tipo Kraft y tipo sulfito	Disolución química de lignina a elevadas temperaturas y presiones	No es representativo de la lignina original, importante subproducto en la producción de pulpa celulósica
Lignina tipo soda	Disolución en medio alcalino de lignina de fibras no maderables tales como paja, bagazo de caña, etc.	Ligninas de bajo peso molecular, insolubles en agua y con bajos niveles de contaminantes (por ej. Azúcares y azufre)
Lignina Klason	Insoluble, residuos condensados después de la hidrólisis de polisacáridos con ácido sulfúrico	No es representativo de la lignina original

2.5 Precipitación de lignina Kraft proveniente del licor negro

La solubilidad de la lignina Kraft en agua disminuye con el descenso del pH, este principio es utilizado para la separación de la lignina del licor negro. Al reducir el pH también se reduce el grado de ionización de las moléculas favoreciendo la auto-agregación. Dado que otros componentes del licor negro (por ej. componentes inorgánicos, azúcares y sus productos de degradación) son solubles en agua en un amplio intervalo de pH, la reducción del pH permite la precipitación de la lignina y su recuperación con un contenido relativamente bajo en carbohidratos, por esta razón las ligninas Kraft industriales no modificadas se caracterizan por un grado relativamente alto de pureza.

Análisis recientes muestran que la fracción de lignina insoluble en ácido es de aproximadamente 90% y la soluble del 3%, y el contenido de azúcar menor del 2.3% por ciento (correspondiente a fracciones de carbohidratos de elevado peso molecular). El contenido en azufre de este tipo de lignina es del 1.5-3.0%, el cual corresponde a azufre inorgánico y azufre elemental (Chávez-Sifontes & Domine, 2013).

Los tipos de ácidos que se pueden utilizar para disminuir el pH pueden ser tanto orgánicos como inorgánicos. Los ácidos inorgánicos tienen el inconveniente de que son menos aptos para el consumo humano y tienen un mayor impacto ambiental, por su parte los ácidos orgánicos son menos tóxicos para el consumo humano, llegando a utilizarse en la industria alimentaria, farmacéutica y cosméticas. El ácido sulfúrico es un ácido fuerte que, cuando se calienta por encima de 30 °C, desprende vapores y, por encima de 200 °C, emite trióxido de azufre. En frío, reacciona con todos los metales, incluido el platino; en caliente, su reactividad se intensifica. El ácido sulfúrico diluido disuelve el aluminio, el cromo, el cobalto, el cobre, el hierro, el manganeso, el níquel y el zinc, pero no el plomo ni el mercurio. Tiene una gran afinidad por el agua, y es por esta razón que absorbe la humedad de la atmósfera y extrae el agua de las materias orgánicas, carbonizándolas. Descompone las sales de todos los demás ácidos, excepto las del ácido silícico. Los ácidos orgánicos son menos agresivos que los inorgánicos. Se utilizan en las industrias

de plásticos, curtidos, textiles, papel, metales, productos farmacéuticos, alimentos, bebidas y cosméticos. También se encuentran en perfumes, herbicidas, colorantes, lubricantes y productos de limpieza. El ácido fórmico y el ácido acético son los principales productos químicos industriales del grupo de los ácidos monocarboxílicos saturados. El ácido fórmico se utiliza sobre todo en las industrias textil y del cuero. Actúa como agente agotador de tintes de diversas fibras naturales y sintéticas y como agente reductor en la tinción de cromo. El ácido fórmico se utiliza como agente descalcificante y neutralizante en la industria del cuero, como coagulante para látex de caucho y en la fabricación de fumigantes e insecticidas. El ácido acético sirve de producto químico intermedio, agente descalcificante en el curtido del cuero, disolvente y acidificante de pozos de petróleo. Además, se utiliza como aditivo en distintos alimentos y en el vidriado y como catalizador y agente de acabado en las industrias de colorantes y tejidos. Tienen la capacidad de formar puentes de hidrógenos con el agua, lo cual los hace completamente solubles en este medio a los ácidos de 1 a 5 carbonos. Sin embargo, al incrementar el tamaño de la cadena alifática, o parte hidrofóbica, esta propiedad de formar puentes de hidrógeno es cada vez más débil, lo que hace que sean menos solubles en agua.

2.6 Determinación de la estructura química de la lignina con técnicas espectroscópicas

La estructura de la lignina es muy compleja y se han utilizado muchas técnicas para su caracterización. Entre las técnicas espectroscópicas se encuentran espectroscopía UV, espectroscopía Raman y la espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR por sus siglas en inglés).

La espectroscopia de infrarrojo estudia la interacción entre la luz en la zona del infrarrojo del espectro electromagnético y la materia. Este método se basa en que los átomos de las moléculas se encuentran vibrando, lo que se conoce como modos vibracionales (ver Figura 12), y absorben energía de específicas frecuencias del espectro electromagnético a varias intensidades. Durante la espectroscopia de infrarrojo la radiación electromagnética se transmite a través de la muestra o se refleja en la superficie. Los fotones del IR que corresponden a la frecuencia de los modos de

resonancia en las moléculas son absorbidos. El FT-IR permite registrar todo el espectro y observar la radiación emitida en una gráfica. Esta gráfica está en términos de absorbancia o transmitancia y el número de onda, que es igual al número de ondas por centímetro.

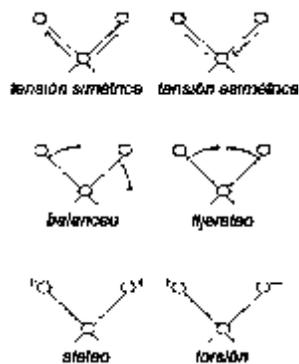


Figura 12. Ejemplos de modos vibracionales presentes en las moléculas (Gavira, 2012).

Con el análisis de una gran variedad de sustancias, se ha logrado reportar señales en el espectro de infrarrojo donde es común que se encuentren los grupos funcionales.

2.7 Química computacional

El empleo de métodos computacionales al campo de la química se conoce como química computacional. Estos métodos computacionales están basados en leyes físicas que describen a las partículas a nivel atómico como son las leyes de la mecánica cuántica. La química cuántica se refiere a los métodos, derivados, total o parcialmente, de las bases de estas leyes, más específicamente la ecuación de Schrödinger. Esta ecuación (ec. 1) describe como cambia un sistema mecánico cuántico con respecto al tiempo. Sin embargo, para sistemas moleculares, el tiempo no es una variable, y la ecuación de Schrödinger se puede simplificar matemáticamente para quedar en su forma independiente del tiempo que está solo en función de las coordenadas de los núcleos de los átomos y los electrones. A continuación, se presenta su forma familiar y compacta:

$$\hat{H}\Psi(\vec{r})=E\Psi(\vec{r}) \quad (1)$$

El operador \hat{H} es el operador *Hamiltoniano*, y su correspondiente observable es la energía total del sistema (E). El operador *Hamiltoniano* para la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo y no relativista se muestra en la ec. (2).

$$\hat{H} = - \sum_i^{\text{electrones}} \frac{\hbar}{2m_e} \nabla_i^2 - \sum_A^{\text{núcleos}} \frac{\hbar}{2m_A} \nabla_A^2 - \sum_i^{\text{electrones}} \sum_A^{\text{núcleos}} \frac{e^2 Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i>j}^{\text{electrones}} \frac{e^2}{r_{ij}} + \sum_{A>B}^{\text{núcleos}} \frac{e^2 Z_A Z_B}{r_{AB}} \quad (2)$$

Donde r_{ln} representa la distancia entre l y n . Por convención, i es el subíndice para los electrones y A es el subíndice para los núcleos. m_e y m_A son las masas del electrón y del núcleo, respectivamente, y \hbar la constante de Planck dividida por 2π .

Los primeros dos términos del *Hamiltoniano* representan la energía cinética de los electrones y el núcleo, respectivamente. Los demás términos, representan la energía potencial que resulta de la atracción de los electrones por el núcleo, las repulsiones electrón-electrón, y las repulsiones núcleo-núcleo (términos tres, cuatro y cinco, respectivamente).

Debido a que el núcleo es mucho más pesado y se mueve mucho más lento que los electrones, se puede congelar las posiciones nucleares y resolver para una energía y una función de onda del sistema molecular que involucra únicamente las coordenadas de los electrones. Esto provee una ruta para únicamente definir una energía que dependen de un conjunto de coordenadas atómicas. Cuando se hace esto, se dice que se hace la *aproximación de Born-Oppenheimer*, y sus consecuencias son:

- El segundo término en el *Hamiltoniano* (que involucra solo al núcleo) puede ser ignorado.
- El último término en el *Hamiltoniano* es trivial para evaluar debido a que solo se necesita conocer las cargas de los núcleos y sus distancias de uno a otro. Esta es la energía de repulsión nuclear E_{NRE} y puede ser evaluada separadamente.
- Los términos restantes (uno, tres y cuatro) quedan en el problema del eigenvalor, y la energía que emerge de resolverlo se puede añadir a la energía de repulsión nuclear para obtener la energía total, E_{total} , para el sistema molecular.

Como resultado de la resolución de la ecuación Schrödinger, podemos obtener información electrónica para predecir comportamientos moleculares que no se han investigado y se proveen argumentos teóricos para modelar la reactividad y complementar o comprobar los resultados experimentales. Sin embargo, la resolución de la ecuación de Schrödinger solamente ha sido obtenida de manera exacta para el átomo de hidrógeno debido a la simplicidad de la interacción entre un solo protón y electrón. Al aumentar la complejidad del sistema, incluso con el átomo de Helio, ya no es posible resolver esta ecuación. Por tal motivo, para estudiar sistemas moleculares más complejos, se ha desarrollado un conjunto de técnicas y métodos para calcular de forma aproximada la ecuación 1.

2.7.1 Modelado molecular y modelo químico

El modelado molecular es un conjunto de métodos teóricos y técnicas usadas para modelar el comportamiento de las moléculas. El modelado molecular se ha establecido como un área de investigación en la última década debido a los grandes avances en hardware y software computacional que han llevado a un alto rendimiento en computación y gráficos al alcance de la mayoría de los laboratorios académicos e industriales. Algunos usos en el campo de la química son desarrollo de fármacos, biología computacional, ciencia y estudio de materiales.

Cuando se habla de cálculos dentro del modelado molecular, se necesita conocer el modelo químico a emplear para el sistema que queremos estudiar. Se define como la combinación de un método teórico más un conjunto base. Si se quiere comparar propiedades de diferentes moléculas o reacciones, deben de predecirse usando el mismo modelo químico.

Los diferentes métodos teóricos que existen corresponden a las diferentes aproximaciones a la ecuación de Schrödinger, cada uno con su propia precisión, costo computacional y recursos que se requieren. A los métodos teóricos se les refiere también como niveles de teoría, donde un nivel de teoría alto es más preciso, pero consecuentemente tiene un costo computacional alto. Existen ya una familia de métodos

que se utilizan para el modelado molecular, se pueden observar algunos de ellos en la Tabla 5, se describen brevemente y se muestran algunos ejemplos.

Tabla 5. Tipos de algunos métodos teóricos disponibles en Gaussian para el modelado molecular (Foresman & AEleen, 1993).

Familia de métodos	Ejemplos
Los métodos semi-empíricos son de bajo costo y cualitativos. Son útiles para moléculas que son muy largas para usarse en la práctica con otros métodos más precisos.	PM6 AMI
Hartree-Fock. El método ab initio preciso y menos caro. Fue el método inicial de elección por muchos años. Este método sufre por el hecho de que no incluye correlaciones de los electrones: la contribución de energía que surge de la interacción entre cada uno de los electrones.	HF
DFT: Estos métodos incluyen muchos efectos de la correlación de los electrones con tan solo un modesto incremento en el costo sobre Hartree-Fock, llevando a una suplantación universal de él. Existe una gran cantidad de métodos. Una gran distinción entre métodos puros e híbridos. Un método puro consiste en un par de funcionales que describen dos términos diferentes, conocidos como intercambio y correlación. Los funcionales híbridos también incluyen alguna cantidad del término intercambio en Hartree-Fock.	B3LYP APFD CAM-B3LYP
Coupled Cluster son métodos que añaden la consideración de varios niveles de excitación de los electrones, generando así una gran precisión, pero a un costo computacional muy grande.	CCSD(T)

El segundo componente de un modelo químico es el conjunto base. Un conjunto base es la colección de funciones matemáticas que se usan para construir la función de onda de la mecánica cuántica para un sistema molecular. Cuando se especifica un conjunto base, se dice que se restringe al electrón a una región en el espacio. Los conjuntos base que se emplean actualmente, se componen típicamente de una combinación lineal de muchas funciones gaussianas, conocidas como primitivas. La colección de las funciones base en un átomo aproximan matemáticamente a los orbitales.

3. Antecedentes

3.1 Caracterización del licor negro

San Juan (1997) menciona la importancia de identificar las propiedades fisicoquímicas del licor negro obtenido de la cocción de maderas blandas durante el proceso Kraft. Determina composición química del licor negro con un contenido de 400-600 kg/tonelada de pulpa y volatilidad relativa, densidad y gravedad específica, calor específico, viscosidad, pH de 12 y conductividad térmica como función de la concentración del contenido de sólidos.

Tapia (2005) analizó el licor negro de cocción de *Pinus radiata* para determinar la influencia de la carga de antraquinona a las propiedades físicas del licor negro durante la digestión en un digestor de laboratorio utilizando condiciones de cocción industriales. Mediante las normas TAPPI determinó viscosidad de 2 cP, densidad 1.083 g/cm³, % de sólidos de 17.3, orgánicos e inorgánicos y álcali consumido.

Andreuceti, *et al.* (2011) lograron recabar información para un conjunto de seis grupos de muestras de licor de cocción de Eucalipto de tres distintas corrientes: a la entrada de los evaporadores, corriente de recirculación del sexto efecto y corriente de salida del segundo efecto de los evaporadores. Utilizando diferentes técnicas que, de acuerdo con los resultados, obtuvieron buena reproducibilidad de los datos obtenidos experimentalmente. Dentro de los resultados obtenidos se rescatan valores de densidad de 1087.7 a 1080.2 kg/m³, contenido de sólidos de 13.1 a 16% y viscosidad a 60 rpm de 2.7 a 3.1 cP.

3.2 Precipitación y caracterización de la lignina Kraft

Braunes reportó en 1960 el uso de etanol como solvente para extraer, por primera vez, lignina a temperatura ambiente, razón por la que se le conoce como “lignina nativa” o “lignina de Brauns”. Alen, *et al.*, (1979) precipitaron licor negro Kraft de madera de pino mediante la disminución del pH con dióxido de carbono y estudiaron la influencia sobre el rendimiento del contenido en sólidos, de la presión parcial de CO₂ y del tiempo de carbonatación. Los resultados que presentan muestran un rendimiento máximo de un 27

% de sólidos en la lejía, dicho rendimiento, dentro del rango estudiado, aumenta continuamente con el tiempo y la presión de CO₂. La precipitación se realiza a 80 °C para mejorar la filtrabilidad, que a temperatura ambiente se dificulta por la formación de una suspensión coloidal. Venter y Van der Klashort (1989) extrajeron el 65% de la lignina de licor negro de cocción de bagazo utilizando CO₂ a un pH de 9.5. Rojas y Salager (1994) utilizaron H₂SO₄ 2N para disminuir el pH hasta 2 del licor negro subproducto de la cocción de bagazo en el proceso a la sosa para la obtención del pulpa. Fernández, *et al.*, (2004) propusieron la caracterización de lignina extraída del licor negro del proceso organosolv procedente de Kenaf. González, *et al.*, (2007) precipitaron lignina del proceso Kraft utilizando ácido sulfúrico y acético para disminuir el pH hasta 2 y 3 respectivamente, y solventes de diferente polaridad y parámetro de Hildenbrand. Lograron realizar un estudio comparativo con respecto a la concentración de lignina, contenido de grupos fenólicos, y conductividad de las muestras de ligninas y determinaron la afinidad por solventes de baja polaridad de las lignina precipitada con ácido acético. Con respecto al poder calorífico, Blunk y Jenkins (2000) registraron para lignina obtenida a partir del residuo de fragmentación de madera suave un valor de 5,616 kcal/kg; Rodríguez (2016) obtuvo el poder calorífico para lignina precipitada con ácido sulfúrico y acético del licor negro de cocción de *Pinus spp* de 5877.83 y 6147.51 kJ/kg respectivamente.

Existen distintas técnicas para llevar a cabo la caracterización de la compleja estructura de la lignina. Faix, O. realiza una compilación de señales de bandas para el espectro de FTIR de diferentes tipos de ligninas provenientes de maderas suaves y blandas, detalla distintos gráficos y tablas sobre la composición de lignina, grupos funcionales e intensidad relativa de las señales (1992). El Mansouri y Salvadó reportan estudios basados en FTIR para determinar características estructurales en lignina Kraft, lignina a la sosa-antraquinona, proceso organosolv y proceso con etanol. Para la lignina Kraft de *Pinus spp* precipitada con ácido sulfúrico y acético, se reportan estudios de caracterización utilizando infrarrojo, entre otras técnicas espectroscópicas, por Rodríguez (2016) logrando establecer diferencias estructurales entre ellas.

3.3 Modelado molecular

Con la implementación de métodos computacionales y el poder de procesamiento de los equipos de cómputo actuales, es posible predecir la reactividad intrínseca de las moléculas mediante descriptores de reactividad como son el potencial electrostático molecular y los orbitales moleculares HOMO y LUMO, por mencionar algunos (Foresman et al, 1993; Gaussian, 2012). Con respecto a estudios mediante modelado molecular sobre la lignina es importante señalar que no existen trabajos reportados actualmente sobre un modelo de precipitación para estudiar la actividad entre la lignina y el ácido. De los estudios realizados con respecto a la lignina se puede remarcar el trabajo hecho por Beste y Buchanan, (2011) quienes realizaron un estudio cinético de la conversión de un modelo representativo de la lignina con unión β -O-4. Utilizando la teoría de los funcionales de la densidad obtuvieron constantes de velocidad en el estado de transición logrando resultados notables comparados con los experimentales. Rodríguez (2016) realizó un estudio computacional para obtener propiedades termodinámicas de dilignoles como modelos representativos de la lignina. Los resultados obtenidos contrastan con los reportados experimentalmente validando la metodología aplicada. Navarro, *et al.*, (2019) estudiaron la etapa inicial de la polimerización de la lignina utilizando modelos de oligolignoles mediante la teoría de los funcionales de la densidad (DFT) y las funciones Fukui spin-polarizadas. Los resultados mostraron que los átomos específicos de un grupo de monolignoles y oligolignoles dirigen la polimerización de la lignina en las etapas iniciales debido a una redistribución de la densidad electrónica. También mostraron que algunos átomos son activados después de la formación de dilignoles y trilignoles específicos, discerniendo entre continuar con la polimerización o cuándo ocurre la terminación de la cadena.

4. Justificación

En la actualidad, el interés por la biomasa como recurso energético y fuente de productos químicos que contribuyan a satisfacer las necesidades de la sociedad es cada vez mayor, por lo que es de gran relevancia desarrollar investigaciones ya sea experimentales y/o teóricas que permitan estudiar los procesos existentes y/o proponer nuevos procesos para la obtención, caracterización y transformación de la biomasa o sus componentes. En ese sentido, la lignina es un material de gran interés ya que conforma un 40% de la capacidad energética de la biomasa, representa del 15 al 35 % de la composición y es la única molécula en la naturaleza que está conformada por anillos aromáticos. Una de las fuentes industriales para la obtención de lignina es el proceso de Pulpeo Kraft, cuyo objetivo es la obtención de pulpa celulósica y como subproducto se obtiene una corriente llamada licor negro cuyo principal componente es la lignina. Debido a la gran complejidad de la estructura de la lignina y las variantes que ésta presenta dependiendo de la materia prima, fuente de obtención y método de aislamiento es de gran relevancia estudiar la influencia de dichas variables. Respecto al método de aislamiento, se ha reportado el uso de distintos ácidos inorgánicos como agentes de precipitación: sulfúrico, fosfórico, yodhídrico, bromhídrico, clorhídrico, nítrico y solamente el uso de un ácido orgánico: acético. A nivel molecular, las interacciones presentes en el sistema de precipitación determinan el comportamiento del mismo al momento de realizar la separación de la lignina que se logra precipitar, dichas interacciones son determinadas por la naturaleza de las especies presentes de manera que cada especie a precipitar y agente de precipitación tienen comportamientos particulares. Lo anterior se reflejará en la estructura de la lignina precipitada y sus propiedades.

Debido a lo antes expuesto, en este trabajo de investigación se estudia la obtención de lignina a partir de licor negro Kraft industrial producto de la cocción de *Pinus spp* mediante precipitación con ácidos orgánicos cítrico, málico y láctico que son utilizados en procesos de obtención de productos para consumo humano y animal y que tienen menor toxicidad que los ácidos inorgánicos, lo que hace que la técnica de separación sea eco-amigable; y se realiza un estudio computacional de la interacción de los complejos lignina representativa kraft – agente de precipitación utilizando modelado

molecular, simulando la etapa de precipitación para analizar las interacciones moleculares que pudieran ocurrir para observar desde el punto de vista energético las diferencias de utilizar diferentes ácidos orgánicos.

Contribuyendo así con la metodología para obtener lignina a partir de licor negro utilizando ácidos orgánicos como agentes de precipitación que abarca desde la caracterización de licor negro hasta la caracterización de la lignina obtenida; estableciendo también, la influencia del agente de precipitación en las propiedades estructurales y fisicoquímicas de la lignina obtenida, y aportando conocimiento del sistema de precipitación estudiado mediante modelado molecular. Lo anterior proporcionará elementos para desarrollar procesos de transformación de un compuesto del alto potencial como lo es la lignina.

5. Hipótesis

La lignina proveniente de licor negro industrial tiene propiedades y características estructurales diferentes dependiendo de la naturaleza química del agente de precipitación.

6. Objetivo General

Caracterizar fisicoquímica y estructuralmente a la lignina obtenida a partir del licor negro proveniente del proceso de cocción Kraft de madera *Pinus spp* y realizar un estudio del sistema de precipitación aplicando cálculos computacionales basados en la DFT.

7. Objetivos particulares

1. Caracterizar experimentalmente el licor negro Kraft.
2. Implementar y evaluar técnicas eco-amigables para la separación de lignina Kraft, utilizando ácidos orgánicos, a condiciones normales de temperatura y presión.
3. Realizar pruebas de caracterización de la lignina separada mediante técnicas experimentales y espectroscópicas.
4. Estudiar las interacciones físicas y/o químicas de la lignina con los agentes de precipitación ácidos empleando modelado molecular.

8. Metodología

8.1 Precipitación y caracterización

La estructura de la lignina se ve afectada por el tipo de proceso que se utilice para su extracción y el tipo de ácido que se usa para precipitarla y separarla. El proceso Kraft fue de donde se obtuvo el licor negro y la técnica para separar la lignina fue disminuyendo el pH con ácidos orgánicos e inorgánicos. Para la caracterización estructural se utilizó infrarrojo con transformada de Fourier, y se empleó, además, modelado molecular para estudiar la interacción entre el ácido y la lignina Kraft durante la precipitación.

Debido al uso que tienen los ácidos orgánicos en productos para el consumo humano y animal se propusieron ácidos de diferente tamaño y número de grupos carboxílicos que no han sido utilizados como agentes de precipitación. En la Tabla 6 se muestran los valores de la constante de disociación y la solubilidad en agua para cada uno de ellos. La constante de disociación está relacionada con la capacidad del ácido de liberar un protón y a su vez, con la estabilidad de las bases conjugadas que se forman. Mediante el estudio químico computacional fue posible predecir la estabilidad de la base conjugada que se obtiene al liberar un protón de los distintos grupos carboxílicos y así determinar a qué grupo carboxílico pertenece el protón que se disocia. Como se puede observar en la Tabla 6, el ácido más fuerte es el ácido cítrico (A3) (constante de disociación más grande) seguido del ácido málico (A4), láctico (A5) y acético (A2). Además, estos también difieren en cuanto a tamaño de la molécula y número de grupos carboxílicos que les confieren distintas propiedades químicas como mayores centros reactivos, mayores momentos dipolares, mayor impedimento estérico, etc., lo que los hace ideales para estudiar su reactividad con la lignina.

Tabla 6. Ácidos orgánicos propuestos para la precipitación de la lignina: constante de disociación y solubilidad, g/L a 25 °C. (Skoog, West, Holler, & Crouch, 2004).

Ácido	Fórmula	K _{a1}	K _{a2}	K _{a3}	Solubilidad
acético	CH ₃ COOH	1.75x10 ⁻⁵			602.9
málico	HOOCCHOHCH ₂ COOH	3.48x10 ⁻⁴	8.00x10 ⁻⁶		364
láctico	CH ₃ CHOHCOOH	1.38x10 ⁻⁴			100
cítrico	HOOC(OH)C(CH ₂ COOH) ₂	7.45x10 ⁻⁴	1.73x10 ⁻⁵	4.02x10 ⁻⁷	59

La lignina motivo de estudio se obtuvo del licor negro proporcionado por la Compañía Scribe Planta Morelia, producto de cocción madera *Pinus* spp. Se cuenta también con lignina Kraft técnica (LKT) de Sigma Aldrich. Dependiendo cada ácido utilizado para la precipitación, se utiliza la siguiente nomenclatura para cada lignina obtenida (Tabla 7), tanto la LKT y las obtenidas con ácido sulfúrico y acético se utilizan como referencia.

Tabla 7. Nomenclatura de las ligninas precipitadas.

Ácido	Nomenclatura
Sulfúrico	LK1
Acético	LK2
Cítrico	LK3
Málico	LK4
Láctico	LK5

8.1.1 Caracterización del licor negro

Las técnicas que se utilizaron para la caracterización del licor negro Kraft de *Pinus* spp y lignina se muestran en la Tabla 8. Se tomaron como referencia las normas TAPPI (Tehhnical Association of the Pulp and Paper), así como otros procedimientos.

Tabla 8. Técnicas utilizadas en la caracterización fisicoquímica del licor negro y lignina.

Propiedad	Licor negro
pH	Potenciométrico (Accumet AB15 Fisher Scientific Basic)
Sólidos	T 650 om-99
Cenizas	T 625 cm-85
Densidad	T 625 cm-85
Viscosidad	Viscosímetro (Anton Paar Stabinger Viscometer)
Poder calorífico	T 684 om-02
	Lignina
Poder Calorífico	Bomba calorimétrica LECO AC 600
Solubilidad	Parámetros de Solubilidad de Hildebrand

8.1.2 Precipitación de lignina

La metodología utilizada comprende las etapas de acondicionamiento, precipitación, centrifugado, filtrado/lavado y secado (González *et al.*, 2007). Para la precipitación con ácido orgánico se realiza una modificación a la metodología a partir de la etapa de centrifugado que consiste en dejar en reposo 24 horas para filtrar/lavar por gravedad y ya que se tiene el pH neutro el secado se lleva a temperatura ambiente por aproximadamente 48 horas (Rodríguez, 2016).

Para el método con ácido sulfúrico, el licor negro se calentó a 50 °C en constante agitación, para después ir agregando el ácido de manera gradual y controlada para separar la lignina. Con los ácidos orgánicos fue necesario calentar a 50°C, de igual forma en constante agitación, por una hora previo a la adición del ácido, solo que, para este caso, se agregó NaOH para controlar la caída del pH (Figura 13).



Figura 13. Licor negro de cocción de madera *Pinus* spp.

El licor negro, previamente acondicionado, se mantuvo en una placa de calentamiento a una temperatura constante de 50 °C y en agitación durante todo el proceso. El ácido se fue añadiendo controladamente, gota a gota, mediante una bureta hasta alcanzar un pH de 2 para el ácido sulfúrico y pH de 3 para los ácidos orgánicos. La suspensión obtenida al precipitar la lignina se dejó reposar durante 24 horas para lograr separar las dos fases como se observa en la Figura 14.



Figura 14. Suspensión de la lignina precipitada.

Cumplido este tiempo, la suspensión se vertió en un embudo Büchner con un papel filtro humedecido previamente secado y pesado. Para el ácido sulfúrico se lavó primero con una solución de H_2SO_4 (0.1 N) y, posteriormente se lavó con agua destilada caliente.

Debido a que los ácidos orgánicos no son tan violentos como el sulfúrico, esta lignina se lavó solo con agua destilada caliente. Una vez que ambas ligninas alcanzaron un pH neutro, se secaron al aire libre por 24 horas (Figura 15).



Figura 15. Lignina secada al aire libre.

8.1.3 Caracterización fisicoquímica de la lignina

Con el fin de obtener más información fisicoquímica y establecer diferencias entre las ligninas precipitadas, se propuso determinar la solubilidad que presentan con distintos solventes y el poder calorífico.

8.1.3.1 Pruebas de solubilidad

La solubilidad es la capacidad de una sustancia para disolverse al mezclarse con un líquido. Una forma cuantitativa de determinar si un solvente disolverá a una sustancia es mediante la utilización de un parámetro de solubilidad, δ , el cual se puede decir que refleja de manera cuantitativa la energía de cohesión de un material. Este parámetro nos dice que materiales con valores similares de δ serán miscibles. Además, también se considera la polaridad de los solventes propuestos.

En la tabla 9, se presenta el parámetro de Hildebrand (δ) y polaridad para los solvente utilizados.

Tabla 9. Parámetros de solubilidad de Hildebrand de los distintos solventes a utilizarse.

Solvente	σ (cal ^{1/2} cm ^{-3/2})	Polaridad
Acetona	9.7	5.4
Etanol	12.9	5.2
Metanol	14.2	6.6
Agua	23.5	9

Las pruebas de solubilidad se realizaron colocando 0.1 g de lignina precipitada en un tubo de ensaye y añadiendo 5 ml de solvente (Figura 16). Se dejó reposar durante 24 horas y se reportaron los resultados obtenidos.



Figura 16. Resultados de la prueba de solubilidad para LK2.

8.1.3.2 Poder calorífico

El poder calorífico es la cantidad de energía que libera una sustancia en una reacción de combustión completa. Esta energía resulta de la ruptura de los enlaces químicos del combustible y la formación de nuevos enlaces para dar el producto de oxidación. Esta liberación de energía en forma de calor está relacionada con la estructura y composición química de la sustancia. Una diferencia entre el poder calorífico entre dos muestras de estudio remarca una diferencia en cuanto a su estructura. Dado que estudios anteriores han demostrado que la estructura de la lignina se ve afectada por el tipo de ácido que se utilice para su precipitación, se propone en este estudio la determinación

del poder calorífico para todas las ligninas precipitadas. Se determinó el poder calorífico mediante el equipo LECO AC600.

8.1.4 Caracterización estructural de las ligninas

Para la caracterización estructural de las ligninas se utilizó la Espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR), esta técnica permite identificar los grupos funcionales presentes, así como los enlaces entre estructuras monoméricas. Se utilizó un intervalo de 600 - 4000 nm y cinco barridos. El espectro para sólido fue obtenido con equipo Perkin Elmer Septum 100 FT-IR Spectrometer (Figura 17). Para este trabajo se destacan los trabajos de Faix, O.(1992), que reportan señales de infrarrojo para ligninas de madera suaves y maderas duras; Rodríguez, N. E. (2016) reporta la caracterización de lignina Kraft con FTIR precipitadas con ácido sulfúrico y ácido acético.



Figura 17. Equipo Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR Spectrometer.

8.2 Modelado molecular

Mediante el modelado molecular es posible obtener las geometrías de acoplamiento o interacción entre dos especies químicas. Con estas técnicas es posibles calcular las energías de interacción que sugieran el tipo de interacción dominante, pudiendo ser de carácter físico o químico, adicional al análisis de las propiedades estructurales en los complejos de interacción.

Todos los cálculos se obtuvieron mediante la suite de Gaussian16 utilizando el nivel de teoría de la teoría B3LYP/6-311 + G(d,p) el cual, se sabe que funciona adecuadamente para sistemas orgánicos para obtener propiedades de interés como el MEP, orbitales HOMO y LUMO, interacciones físicas y/o químicas, etc. Primero, se obtuvieron las energías de optimización para cada especie individual, y después para todos los complejos formados, y comparando cada una de las energías de interacción se obtuvo el complejo más estable o favorecido.

8.2.1 Optimización de LK y los ácidos

En este trabajo se consideraron la lignina Kraft y los agentes de precipitación ácido descritos previamente. El modelo representativo de la lignina Kraft (LKS) se tomó de los resultados experimentales obtenidos por Robert, *et al.*, (1984), San Juan (1997) y la reportada por Sigma-Aldrich (Figura 18).

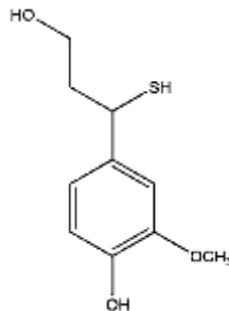


Figura 18. Modelo representativo de la LKS (San Juan, 1997).

Se construyeron todas las geometrías de la LKS y los ácidos. Estas geometrías se optimizaron en la suite Gaussian 16. De los resultados de la optimización para cada geometría, se obtuvieron el potencial electrostático molecular y la energía del punto cero.

8.2.2 Potencial electrostático molecular

El potencial electrostático molecular (MEP por sus siglas en inglés) es un descriptor no covalente de reactividad que resulta de la interacción de una carga puntual positiva con la densidad electrónica de un átomo o molécula. Con descriptor no covalente,

se refiere a las interacciones entre las moléculas en estados condensados (sólido, líquido, soluciones) que son primordialmente electrostáticas en su naturaleza, como los puentes de hidrógeno, la adsorción física y las etapas del proceso de reconocimiento biológico, por mencionar algunas (Chattaraj, 2009).

El MEP se obtuvo la realizar un cálculo de energía a cada una de las geometrías optimizadas, la información resultante se obtuvo en un archivo del tipo .chk que se formateo para obtener un archivo traducido que, mediante el comando cubegen, se guardó finalmente en un archivo .cube para poder ser visualizado con un software compatible.

Con el MEP de la LKS y los ácidos, obtenidos de la optimización, se identificaron las regiones negativas en color rojo donde existe una atracción de la carga positiva, y las regiones positivas en color azul donde se espera una carga parcial positiva se repele. Debido a la naturaleza de las especies, se identificaron las regiones negativas en LKS y las azules en los ácidos para formar los complejos que se estudiaron posteriormente.

8.2.3 Formación de complejos y energías de interacción molecular

Con los MEP de las especies, se determinaron las zonas rojas de LKS que resultaron como sitios propuestos de interacción. De la misma forma para los ácidos, se estudiaron sus correspondientes MEP, solo que para este caso se identificaron las zonas azules que corresponden principalmente a los protones ácidos. En el caso especial de los ácidos, al contar con varios protones ácidos, se optó por la zona azul más intensa. Una vez hecho este análisis, se construyeron las geometrías de todos los complejos que se formaron al acercar la región azul más fuerte del ácido y las regiones negativas de la LKS, resultando en total cinco grupos de complejos, los cuales se acercaron a una distancia entre 2.5 a 3 Å. Las geometrías de los complejos resultantes se optimizaron empleando el mismo nivel de teoría.

Con las geometrías optimizadas de todas las especies individuales y la de los complejos formados, se obtuvo la energía del punto cero (ZPE, por sus siglas en inglés), la cual es la energía vibracional que una molécula retiene aun cuando se ha alcanzado el cero absoluto de temperatura. Esta energía resulta de la aplicación del operador

Hamiltoniano a la función de onda de la molécula, cuyo valor más bajo se denomina energía del punto cero, y es la energía del estado fundamental de la molécula. Para obtener la energía de interacción del complejo, se utilizó la siguiente ecuación:

$$E_i = E_{complejo} - (E_{LKS} + E_A) \quad (3)$$

Donde $E_{complejo}$ es la energía optimizada del complejo que se forma entre la LKS y el ácido, E_{LKS} es la energía optimizada de la LK y E_A es la energía optimizada de cada ácido. De la ec. (3) se puede concluir que, si la energía de optimización de las dos moléculas individuales es menor, el valor de E_i será positivo y la interacción desfavorable. En cambio, si la energía de optimización de los complejos individuales es mayor, E_i sería negativa y la interacción será favorable, de esta forma mientras más negativa sea E_i más favorecido será el complejo formado. Para cada ácido se obtuvo el complejo más estable que interaccionó con LKS.

9. Resultados y discusiones

9.1 Resultados experimentales

9.1.1 Propiedades fisicoquímicas del licor negro Kraft

El licor negro Kraft proveniente de *Pinus* spp presentó las siguientes propiedades físicas que se muestran en la Tabla 10. Para licores Kraft con álcali residual el pH reportado es de 12 (San Juan, 1997), para el licor analizado, en este caso, es de 12.02. Para la determinación de sólidos presentes se obtuvo un valor de 19.07% que es una cantidad mayor comparada con el valor de 15% reportado por Azadi, *et al.*, (2013), este valor se modifica dependiendo de las necesidades operativas en la etapa de recuperación de reactivos en el proceso Kraft para cada planta. El contenido de cenizas es de 35.1%, más alto que el valor reportado de 30% por Tapia (2005), esta variación se debe al tipo de madera que reacciona y/o al contenido de reactivos en el proceso de cocción. La determinación de la densidad dio un valor de 1.09 g/cm³, este resultado concuerda con el reportado por Andreuccetti, *et al.*, (2011); este valor hace evidente que la composición del licor (agua, celulosa, hemicelulosas, lignina y materia inorgánica) a la salida del digestor contiene una gran cantidad de agua. El valor de la viscosidad de 2.3179 cP concuerda con el reportado por Tapia (2005) de 2.0 cP para licor de cocción Kraft de *Pinus radiata*. El poder calorífico determina la cantidad de energía que puede liberar la corriente al hacer la combustión, el valor de 3247.07 kJ/kg es muy bajo, debido a que el mayor componente es el agua, por esta razón se hace pasar la corriente por evaporadores para aumentar su concentración y obtener una mayor eficiencia en las calderas.

Tabla 10. Propiedades físicas del licor negro Kraft.

Propiedades	Valor obtenido para licor negro Kraft
pH	12.02
Sólidos (%)	19.07
Cenizas (%)	35.1
Densidad (g/cm ³)	1.09
Viscosidad (cP)	2.3179
Poder calorífico (kJ/kg)	3247.07

9.1.2 Precipitación y caracterización de las ligninas

En la Tabla 11 se reportan los porcentajes de recuperación de lignina con base en los sólidos totales del LNK que aquí se discuten. La cantidad de lignina recuperada es mayor con los ácidos orgánicos A3, A4 y A5, siendo A3 con el rendimiento más alto de 57.80%, y A2 la que presentó el menor rendimiento de todos los ácidos con una recuperación de 20.65%, lo cual se puede deber a que con A1 la lignina presentó una mayor dificultad al momento de la filtración de la suspensión, lo que generó más pérdidas. Por otro lado, el ácido inorgánico presenta un porcentaje de recuperación intermedio de 34.21%, que se asemeja al valor reportado en el trabajo de Cardoso, *et al.*, (2006). Para la LKT no se reporta un porcentaje de recuperación por Sigma Aldrich.

Tabla 11. Porcentaje de recuperación de la lignina Kraft con base en los sólidos secos totales de LNK.

Agente de precipitación	%Recuperación
A1	34.21
A2	20.65
A3	57.80
A4	53.47
A5	52.39

9.1.3 Solubilidad de las ligninas

Los resultados de la solubilidad de la LK se presentan en la Tabla 12. LKT presentó la mejor solubilidad favorable con el agua, lo que demuestra una estructura de alta polaridad. La LK1 se disolvió favorablemente con solventes de baja polaridad, lo que concuerda con lo reportado por González, *et al.*, (2007) para ligninas precipitadas con pH igual a 2. Para las ligninas precipitadas con ácidos orgánicos a pH igual a 3, se obtuvo una mayor afinidad por solventes de baja polaridad y parámetro de Hildebrand, presentando todas ellas el mismo resultado de solubilidad sin destacar alguna diferencia. Considerando el hecho de que los grupos fenólicos presenta una alta afinidad por solventes de alta polaridad, podemos decir que LKT contiene mayores grupos fenólicos en comparación con el resto de las ligninas, y que LK1 presenta aún más grupos fenólicos que LK2, LK3, LK4 y LK5, asumiendo que sus componentes tendrán pesos moleculares mayores.

Tabla 12. Solubilidad de la lignina Kraft en disolventes de diferente polaridad y parámetro de Hildebrand.

SOLVENTES		LKT	LK1	LK2	LK3	LK4	LK5
Parámetro de Hildebrand (cal ^{1/2} cm ^{-3/2})	Polaridad						
Agua		Sí	+/-	No	No	No	No
23.4	9						
Acetona		No	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
9.77	5.4						
Etanol		No	Sí	+/-	+/-	+/-	+/-
12.9	5.2						
Metanol		No	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
14.5	6.6						

9.1.4 Poder calorífico

El poder calorífico está relacionado con la estructura de la molécula, por lo que se puede relacionar los valores obtenidos que se muestran en la Tabla 13 con el grado de fragmentación de las ligninas precipitadas. LKT presentó el valor más bajo con 5176 kcal/kg, lo que nos dice que esta lignina presenta una fragmentación muy alta respecto a las demás ligninas, además debido a que no se conoce el método de separación, se presume que se utilizó un ácido muy fuerte para su precipitación. Todas las demás ligninas presentan un valor más alto que el reportado por Blunk & Jenkins (2000) de 5616 kcal/kg para lignina obtenida a partir del residuo de fragmentación de madera suave. Lo anterior se puede deber al hecho de que el proceso con el que fue obtenida la lignina contribuyó a la despolimerización y fragmentación. LK1 presenta un valor menor que las ligninas obtenidas mediante ácidos orgánicos, por lo que se puede decir que el ácido inorgánico continúa degradando la estructura de la lignina en mayor proporción que los ácidos orgánicos durante la precipitación.

Tabla 13. Poder calorífico de las ligninas precipitadas con los cinco ácidos y LKT.

Lignina	Poder calorífico (kcal/kg)
LKT	5176.06
LK1	5890.97
LK2	6276.77
LK3	6522.15
LK4	6484.28
LK5	6330.13

9.1.5 FTIR de las ligninas separadas

Para discutir los resultados obtenidos del FTIR para las distintas ligninas, se tomaron como base los trabajos de Faix, O. (1992), El Mansouri & Salvado (2007) y Rodríguez (2016). La Figura 18 muestra las curvas obtenidas del FT-IR para las ligninas. De los resultados obtenidos mediante el FTIR se observan que todas las curvas de las

ligninas presentan diferencias entre ellas. A 3400 cm^{-1} se observó la presencia del grupo -OH que está presente en cadenas alifáticas, que se forma al romper los enlaces éter entre las unidades de lignina, y por presencia de agua. Entre 3000 cm^{-1} y 2800 cm^{-1} se encuentran los estiramientos C-H de grupos metil (-CH_3) y metilen ($\text{-CH}_2\text{-}$) que se pueden encontrar dentro de una cadena o como radical metil unido a un metoxilo, hidroxilo o a alguna estructura mayor. Entre 1716 y 1695 se observan señales que corresponden a cetonas conjugadas, grupos carboxilo o ésteres, presentes en los carbohidratos, la LKT no presenta esta señal. Las señales entre $1590\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ son por estiramientos de C=O en anillos aromáticos, todas las ligninas presentan esta señal. De 1505 a 1510 cm^{-1} se observan vibraciones en esqueletos aromáticos que indican la presencia de unidades G en mayor proporción que S; se encuentra presente en todas las ligninas precipitadas. Entre 1460 y 1470 cm^{-1} se encuentran presentes nuevamente los grupos metil y metilen, ahora por deformaciones asimétricas. De 1420 a 1430 cm^{-1} es señal de vibraciones del anillo aromático combinado con deformaciones en el plano C-H, se observa en todas las ligninas. En el rango de $1365\text{-}1360$ podemos encontrar estiramientos C-H en CH_3 alifáticos, no en -OCH_3 , y -OH fenólicos; todas las ligninas comprueban -OH fenólicos por ruptura de enlaces éter. Para las ligninas se puede observar en todas ellas estructuras del anillo S y el anillo G condensados entre $1325\text{-}1330\text{ cm}^{-1}$, esto se debe a que durante la cocción en el proceso Kraft, las reacciones intermedias propician las condensaciones, en la LKT esta señal está ausente, lo que significa que está más fragmentada que las demás ligninas, esto explica el menor poder calorífico. Para un rango de $1220\text{-}1230\text{ cm}^{-1}$ se encuentran enlaces del tipo C-C, C=O , C-O y unidades guayacil condensadas más abundantes que esterificadas, en LKT este pico no está definido, corroborando nuevamente la mayor degradación. A 1140 cm^{-1} existen deformaciones aromáticas C-H, típico de unidades G, todas las ligninas la definen debido a que al provenir de madera suave las unidades G se encuentran en mayor proporción. En 1086 cm^{-1} están presentes alcoholes secundarios para todas las ligninas, lo que indica la presencia de cadenas alifáticas en el anillo aromático. Entre $1030\text{-}1035\text{ cm}^{-1}$ hay deformaciones aromáticas C-H fuera del plano en G>S ; deformaciones en alcoholes primarios y estiramiento C=O , se encuentra presente en todas las ligninas. Para $960\text{-}990\text{ cm}^{-1}$ es característico de la deformación fuera del plano de -HC=CH- en posición trans, tal como se observa en

unidades fenil-propano precursoras de la lignina, presente en toda la serie de ligninas. Los valores de las frecuencias obtenidas para cada lignina precipitada se reportan en la Tabla 14.

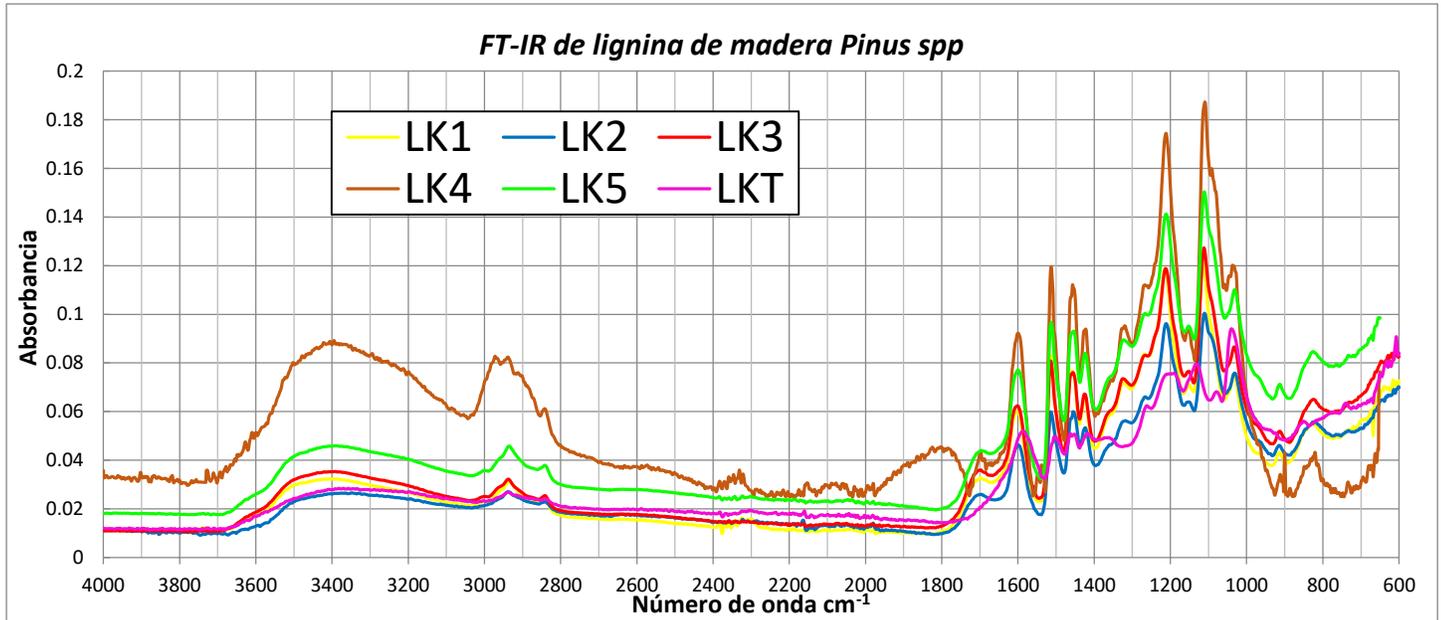


Figura 18. FTIR de las ligninas obtenidas.

Tabla 14. Frecuencias de los resultados del FTIR para las ligninas obtenidas.

Frecuencia (cm ⁻¹)	Descripción	LKT	LK1	LK2	LK3	LK4	LK5
3400	Estiramiento O-H, H-enlazado	x	x	x	x	x	x
3000-2842	Estiramiento C-H en grupos metilén y metil	2940	2936	2936	2942	2969	2938
1738-1709	Estiramientos C=O en cetonas no conjugadas, carbonilos y grupos éster (frecuentemente de los carbohidratos de origen)		1701	1690	1697	1694	1686
1590-1610	Estiramiento de C=O en anillos aromáticos	1594	1607	1590	1603	1594	1595
1515-1505	Vibraciones del esqueleto aromático, G > S	1507	1516	1520	1512	1512	1514
1460-1470	Deformaciones asimétricas en -CH ₃ y -CH ₂ -		1462	1457	1459	1454	1457
1422-1430	-OH secundarios	1425	1422	1420	1421	1422	1421
1365-1370	Estiramiento C-H alifático en CH ₃ , no en -OCH ₃ ; OH-fenólicos	1369	1355	1350	1353	1358	1361
1325-1330	Anillo S más anillo G condensado. Ej. Anillo G sust. en pos. 5		1317	1329	1316	1323	1328
1266-1270	Anillo G y estiramiento C=O	1259	1272	1269	1270	1269	1269
1221-1230	Estiramiento C-C más C-O más C=O; G _c > G _e		1215	1214	1217	1214	1212
1140	Deformaciones aromáticas C-H, típico de unidades G	1157	1140	1149	1143	1153	1156
1086	Deformación C-O en alcoholes secundarios y éteres alifáticos.	1083	1083	1086	1090	1108	1090
1030-1035	Deformaciones de C-H aromáticos en el plano.	1033	1035	1032	1029	1030	1035
960-990	Deform. -HC=CH- fuera del plano'		980	970	972	963	970
915-925	C-H fuera del plano, aromático		909	910	923	911	915
853-858	C-H fuera del plano en posiciones 2, 5, y 6 de unidades G	856					
817-832	C-H fuera del plano en posiciones 2, 5, y 6 de unidades G		822	827	830	825	828

9.2 Resultados teóricos

9.2.1 Optimización de las geometrías de lignina Kraft y los agentes ácidos de precipitación

Se construyó el modelo tridimensional del monómero LKS representativo de la lignina Kraft, el cual fue la unidad guayacil unido a un grupo tiol en el carbono β . Posteriormente, se formaron los complejos entre los ácidos y la LKS partiendo de diversas geometrías iniciales para ser optimizados en la suite computacional Gaussian 16. Una vez optimizados y verificando que las especies individuales se encontraban en un estado mínimo de energía, se obtuvieron las energías del punto cero (ZPE, por sus siglas en inglés) la cual corresponde a la energía vibracional de la molécula en su estado fundamental sin tener en cuenta el tipo de energía de rotación y traslación. En la Tabla 15 se muestran los valores de las energías ZPE de las especies consideradas para la formación de los complejos en kcal/mol.

Tabla 15. Energías de la optimización de las especies neutras.

Especie	ZPE (kcal/mol)
LKS	-635851.04
A1	-439438.74
A2	-143756.62
A3	-476998.10
A4	-333983.84
A5	-215631.38

Con el propósito de mostrar con mayor claridad los átomos y enlaces durante este estudio computacional, todas las geometrías de las estructuras implicadas se encuentran enumeradas como se muestra en la Figura 19.

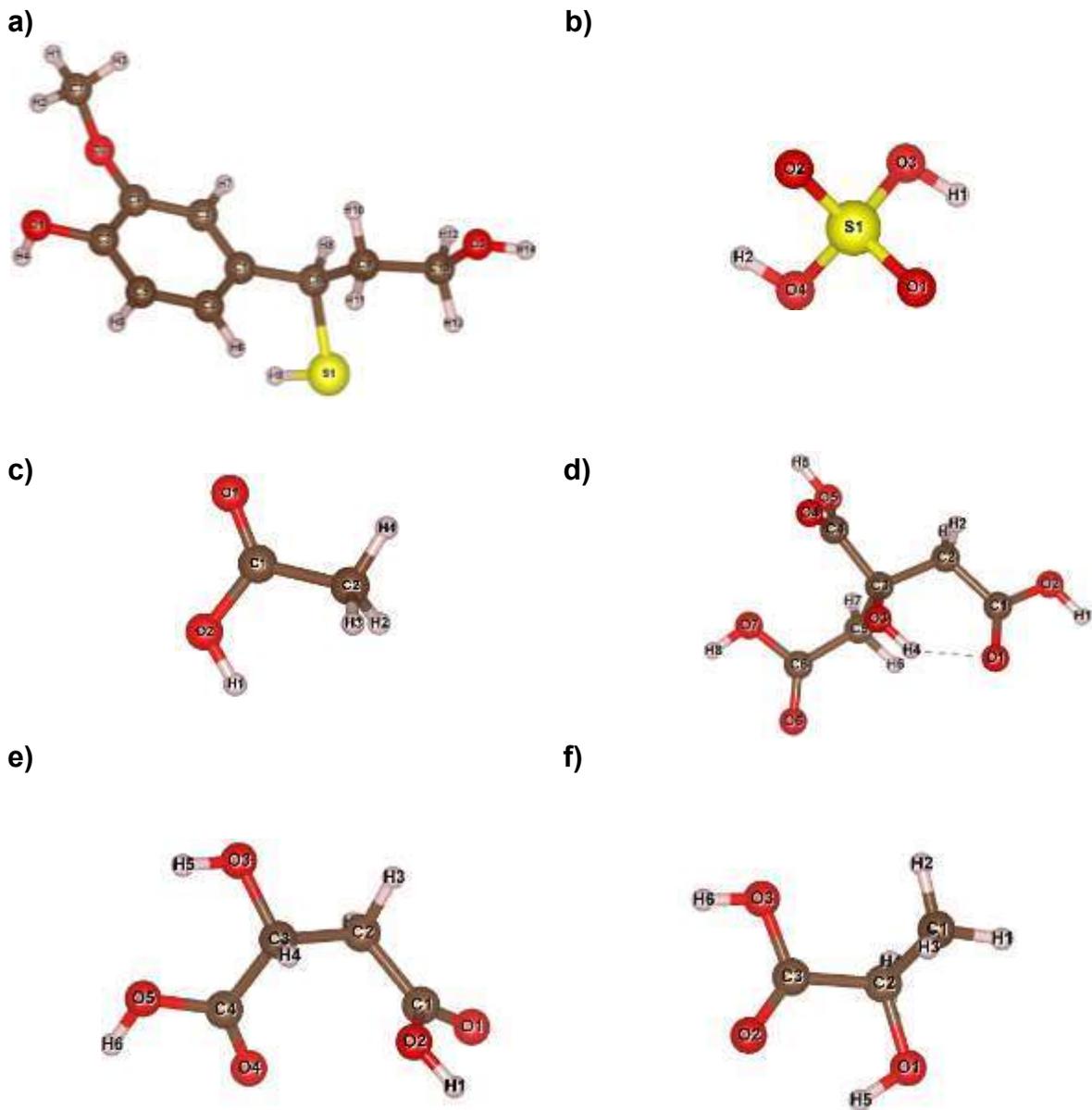


Figura 19. Geometrías optimizadas de las especies implicadas en el estudio computacional, a) LKS (modelo de lignina Kraft), b) A1 (ácido sulfúrico), c) A2 (ácido acético), d) A3 (ácido cítrico), e) A4 (ácido málico) y f) A5 (ácido láctico).

9.2.2 Potencial Electrostático Molecular de la LK y los agentes de precipitación

El MEP es un descriptor no covalente de reactividad que nos permite identificar, en una molécula, las regiones donde existe una atracción o repulsión de la densidad electrónica al acercar una carga puntual positiva. En la Figura 20 se muestra el MEP de LKS donde se observan regiones negativas en el grupo ^-OH alifático, R-OH (O3-H14) con una ligera acidez del H14. El grupo ^-OH fenólico, Ar-OH (O1-H4) presenta una región negativa más fuerte que el R-OH, esto se debe a que los pares de electrones libres del oxígeno interaccionan por resonancia con el anillo aromático, esto también hace que este protón (H4) sea más ácido que H14. El grupo metoxilo, Ar-OMe (O2-C7) presenta una región negativa considerable, debido a que el grupo metilo y el anillo aromático hacen hiperconjugación con los orbitales que contienen los pares de electrones libres del oxígeno aumentando la densidad electrónica. El grupo tiol, también llamado sulfhidrilo, R-SH (S1-H9), presenta una región negativa demasiado pobre, esto puede ser debido a que el azufre es menos electronegativo que el oxígeno y sus pares de electrones son menos atraídos hacia este átomo.

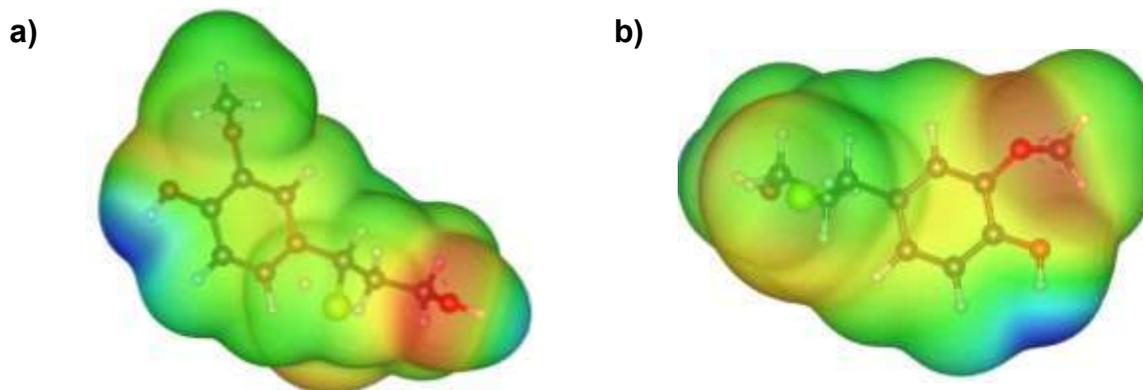


Figura 20. Potencial electrostático molecular de la LKS. a) perspectiva 1: se observa una región roja en O3, y regiones azules en H4 y H14. b) perspectiva 2: se observa una región roja en O2 Isovalor = $0.02 \text{ e}^-/\text{\AA}^3$

Con estos resultados del MEP para LKS, fue posible determinar los sitios donde podría una especie ácida interactuar mayormente al formarse un complejo con LKS. Las cuales representan regiones en color rojo del MEP del LKS. Considerando lo mencionado anteriormente, podríamos hablar de cinco sitios reactivos que se nombraron de manera arbitraria como se observa en la Figura 21.

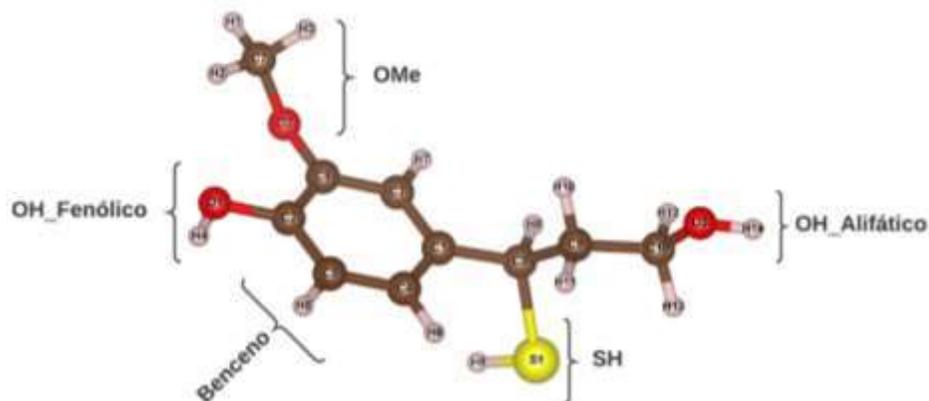


Figura 21. Sitios reactivos de LKS propuestos para la formación de los complejos con ácidos

De la Figura 22 se observa que el A1 (Figura 22a) contiene dos regiones azules en H1 y H2 con carácter ácido. El A2 (Figura 22b) presenta regiones negativas en el grupo carboxílico, $-\text{COOH}$ del C1 y el hidroxilo, ^-OH (O2-H1) en el O2, mientras que el H1 presenta una región azul. El A3 (Figura 22c) cuenta con tres $-\text{COOH}$ en los carbonos 1, 4 y 6, de los cuales todos presentan similares regiones negativas y positivas, además del O5 y H5 del ^-OH . Es importante señalar que el A3 es el más fuerte de todos, esto se debe a que al momento de optimizar la molécula esta crea interacciones intermoleculares que hace que se establezca su base conjugada, recordando que a mayor estabilidad de la base conjugada mayor es la acidez. El A4 (Figura 22d) cuenta con dos $-\text{COOH}$ en los C1 y C4 y un ^-OH en el C3 en los que presentan regiones negativas, mientras que las regiones azules en los hidrógenos 1, 5 y 6, siendo el más ácido el H6, esta mayor acidez se debe a que el ^-OH en el C3 ayuda a estabilizar la base conjugada del $-\text{COOH}$ del C4 que su similar el C1. Por último, el A5 (Figura 22e) presenta regiones negativas en los oxígenos 1, 2 y 3, y regiones azules en los hidrógenos 5 y 6, siendo H6 el más ácido.

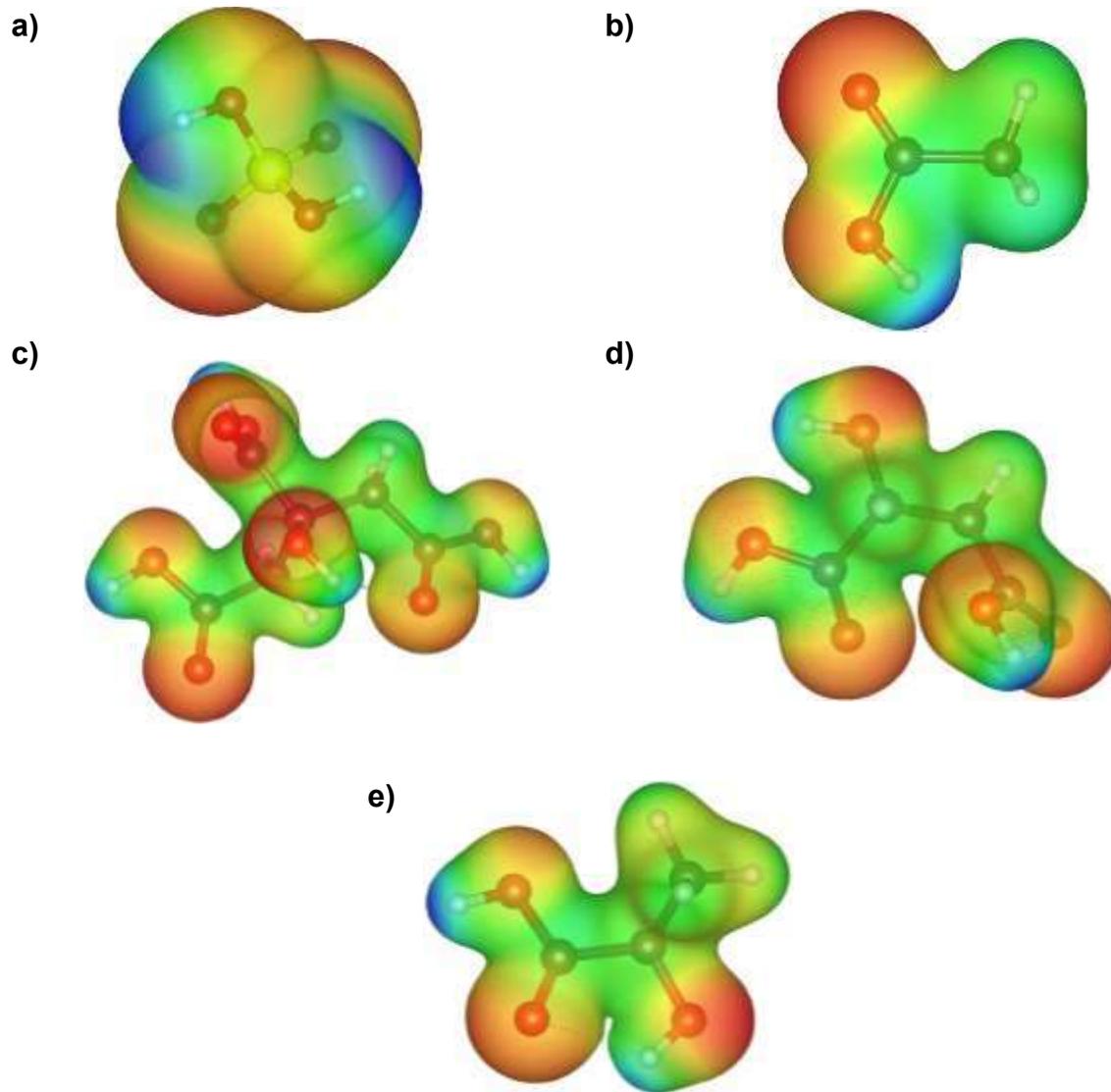


Figura 22. Potencial electrostático molecular de a) A1, b) A2, c) A3, d) A4 y e) A5. Isovalor = $0.02 \text{ e}^{-}/\text{\AA}^3$

9.2.3 Análisis de las energías de interacción entre LKS y los ácidos

Para formar el primer complejo, mediante un programa informático se manipuló A1 para acercarlo a cada uno de los sitios que presentan regiones rojas en LKS, formando en total cinco complejos para cada ácido, resultando un total de 25 complejos que se optimizaron para obtener sus energías de interacción. En la siguiente figura se muestra un primer complejo entre A1 y el sitio SH de la LKS (LKA1_SH).

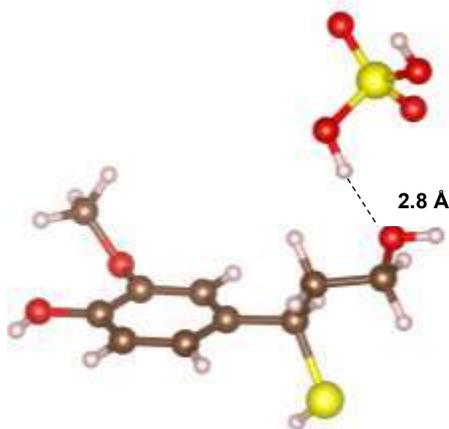


Figura 23. Complejo formado entre LK-A1 a una distancia (d) aproximada de 2.5-3 Å.

Una vez optimizado el complejo mostrado en la Figura 23, se obtuvo el siguiente reacomodo como resultado:

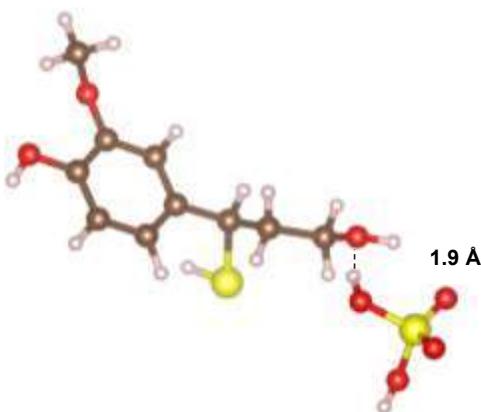


Figura 24. Optimización del complejo LK-A1 en el sitio OH_Alifático. Se observa un cambio en la posición de A1 para dar una interacción con una estructura más estable.

De la Figura 24 se puede observar que A1 se alejó de la densidad electrónica de LKS lo que representaba un costo energético por la repulsión electrónica entre las dos especies.

Realizando los mismos pasos para los 25 complejos formados, se obtuvieron las energías de optimización que se muestran en la Tabla 16. La columna 1, representa los sitios reactivos de LKS anteriormente descritos.

Tabla 16. Energías de optimización de los complejos (kcal/mol) formados entre LKS y los ácidos considerando los diferentes sitios reactivos de la LK.

Sitio \ Ácido	ZPE				
	A1	A2	A3	A4	A5
SH	-1075298.37	-779612.555	-1112854.13	-969841.42	-851486.9966
OH_Alifático	-1075301.38	-779609.894	-1112854.85	-969838.318	-851490.6461
Benceno	-1075301.17	-779611.558	-1112855.25	-969836.594	-851490.2439
OH_Fenólico	-1075300.07	-779613.97	-1112854.8	-969846.664	-851488.6363
OMe	-1075294.93	-779615.447	-1112856.93	-969843.415	-851488.635

Con estas energías de optimización, se determinaron mediante la ec. (3) las energías de interacción que se muestran en la Tabla 17.

Tabla 17. Energías de optimización para los complejos entre lignina y los ácidos en kcal/mol.

Sitio \ Ácido	Energías de interacción (kcal/mol)				
	A1	A2	A3	A4	A5
SH	-8.58	-4.90	-4.98	-6.54	-4.58
OH_Alifático	-11.59	-2.24	-5.70	-3.43	-8.23
Benceno	-11.39	-3.90	-6.11	-1.71	-7.82
OH_Fenólico	-10.29	-6.31	-5.66	-11.78	-6.22
OMe	-5.15	-7.79	-7.78	-8.53	-6.21

Para el ácido A1 el sitio de mayor preferencia que arrojó el complejo más estable (Figura 25), fue el OH_Alifático con un valor de -11.59 kcal/mol, esto puede deberse a que el A1 tiene una estructura muy voluminosa por los cuatro oxígenos unidos al azufre y que este átomo es más grande comparado con el átomo de oxígeno; por esta razón el sitio reactivo más preferido será el menos impedido que es R-OH.

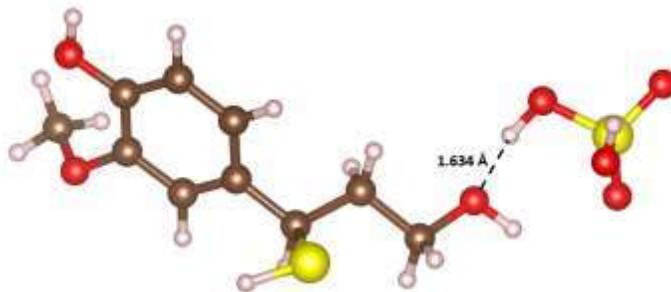


Figura 25. Complejo LKA1_OH_Alifático optimizado.

Con A2, la menor energía se obtuvo para el complejo LKA2_MeO (Figura 26) con una energía de -7.79 kcal/mol. Para este caso, el A2 prefirió el sitio OMe que es el que presenta la región más roja en el MEP.

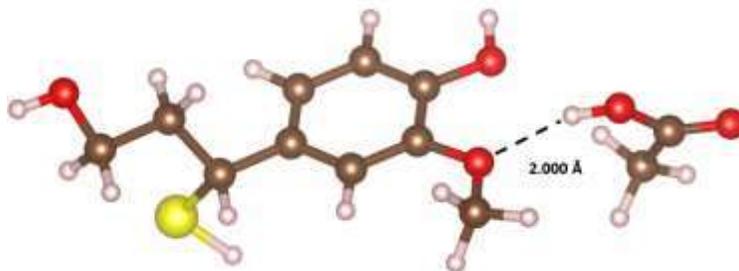


Figura 26. Complejo LKA2_MeO optimizado.

Para el A3 mostrado en la Figura 27, de la misma forma que el A2, prefirió el sitio OMe, sin embargo, es interesante observar como el grupo metilo del OMe hizo un giro hacia el grupo OH_Fenólico que, aunque se genera una repulsión electrónica muy fuerte debido al tamaño del grupo metilo en OMe, es compensado por una mayor disponibilidad

de los pares de electrones libres que disminuye el impedimento estérico y deja más libre los pares de electrones libres del oxígeno para interactuar con A3.

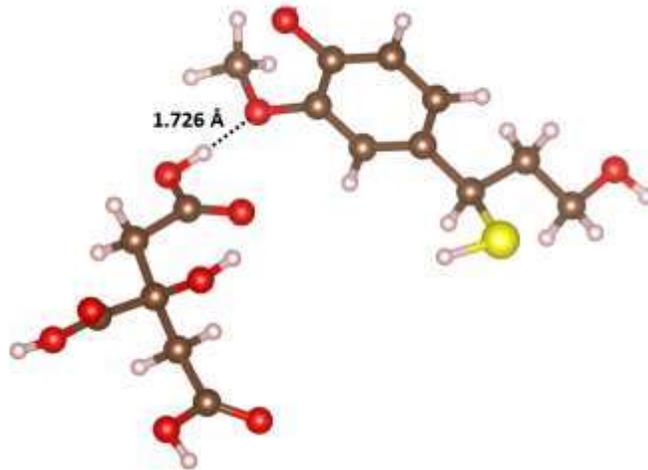


Figura 27. Complejo LKA3_MeO optimizado.

La interacción más favorable con A4 se dio en OH_Fenólico (Figura 28) con un valor energético de -11.78 kcal/mol que fue la energía menor, y por tanto la interacción más fuerte, entre todos los complejos. Este hecho se puede deber a que A4 es el segundo ácido más fuerte y que su tamaño no es tan voluminoso como A3, lo que permite la interacción con OH_Fenólico sin sacrificar el costo energético que implica la repulsión electrónica del giro de OMe como sucedió con A3.

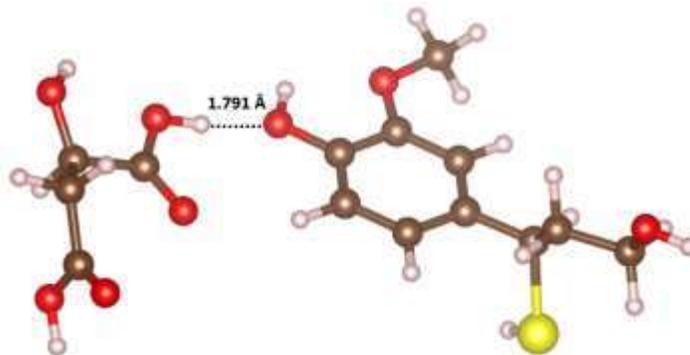


Figura 28. Complejo LKA4_OH_Fenólico optimizado.

El complejo más favorable para A5 fue para la interacción en el sitio OH_Alifático (Figura 29). Este fue el único ácido que presentó la interacción más preferible hacia este sitio de LKS. El tamaño relativamente grande de esta molécula y su acides pueden relacionarse con la menor actividad de este ácido hacia los grupos OMe y OH_Fenólico.

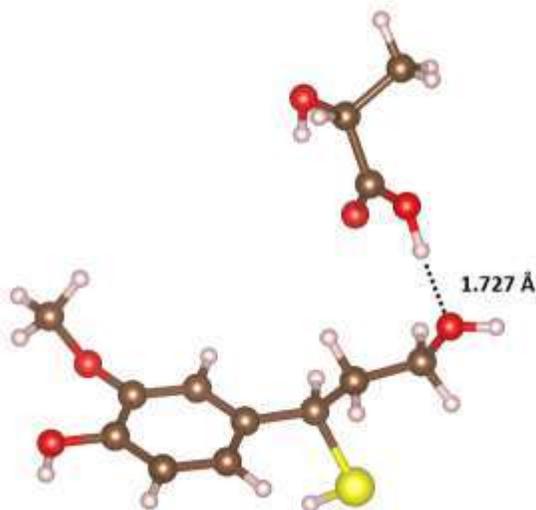


Figura 29. Complejo LKA5_MeO optimizado

Como se observó desde el MEP de LKS, los sitios menos preferidos que presentaban las regiones negativas más débiles, y en este caso las energías menos favorables por los ácidos fueron la región del SH y Benceno.

De los cinco complejos estudiados, el ácido que mostró las energías de interacción más fuertes fue A4, con el valor más alto de -11.78 kcal/mol. Este valor corresponde a la fuerza y tamaño del ácido que interactuó preferiblemente en la región más reactiva de LKS. El siguiente ácido con mayor energía fue el A1 con -11.59. El A2, A3 y A5, presentaron las energías más débiles con valores de -7.79, -7.78 y -8.23 respectivamente.

10. Conclusiones

Las propiedades físicas obtenidas en la caracterización del licor negro con las técnicas utilizadas en este trabajo pueden ser usadas para obtener datos en estudios posteriores. Estas propiedades físicas varían considerablemente debido a la composición química asociada con el tipo de madera procesada y las condiciones de operación en la etapa del pulpeo. El conocer las propiedades físicas del licor negro es de utilidad para integrar esta corriente a tratamientos y procesos posteriores.

Los ácidos utilizados para la precipitación de lignina mostraron mayor rendimiento para los ácidos orgánicos a excepción del ácido acético que presentó el menor porcentaje con una diferencia del 14% con respecto al ácido sulfúrico y de 37% con respecto al ácido cítrico con el mayor rendimiento de la serie. A pesar del mayor rendimiento en la solubilidad con los ácidos orgánicos, la formación de una suspensión coloidal durante la precipitación genera mayor dificultad para separar en la fase del filtrado.

Las ligninas precipitadas con ácidos orgánicos presentan la misma tendencia de una mayor afinidad por solventes de baja polaridad lo que puede explicar una menor degradación en la estructura molecular por la menor cantidad de grupos fenólicos presentes. Por otra parte, la LKT muestra una fuerte degradación al ser totalmente soluble en agua, lo que indica una estructura más pequeña y fragmentada.

El poder calorífico mostró diferencias considerables entre las ligninas obtenidas, y aún mayor en comparación con el licor negro Kraft que contiene mayor cantidad de agua y reactivos subproductos del proceso Kraft. Se identifica que los ácidos orgánicos degradan en menor cantidad a la lignina al presentar una diferencia de 1150 kcal/kg entre LKT y el ácido cítrico quien presenta mayor poder calorífico.

El estudio FT-IR revela una diferencia considerable de LKT con respecto a las demás ligninas. LKT presenta menor número de señales que corresponde a anillos aromáticos y sustituidos. Las demás ligninas muestran señales que indican la presencia de unidades guayacil en mayor proporción que siringil, lo que explica que provienen de maderas suaves. También se observan uniones interanulares por condensación, alcoholes secundarios y cadenas laterales en anillos aromáticos, que exponen una

estructura de mayor peso molecular. Este análisis estructural hace que la lignina separada sea de interés para estudiarla en procesos de transformación.

El estudio computacional indica que el tipo de ácido utilizado durante la etapa de precipitación presenta diferentes interacciones de naturaleza física. El análisis del potencial electrostático molecular permitió encontrar los posibles sitios de interacción entre la lignina y los ácidos. El A1 muestra las interacciones más fuertes de toda la serie, sin embargo, al ser un ácido bastante voluminoso prefirió el sitio menos impedido de LKS que fue el OH_Alifático. Los ácidos orgánicos al presentar diversos grupos carboxílicos, fuerza de acidez y tamaño de molécula mostraron afinidad por diferentes sitios de LKS. Estos resultados exponen que el tipo de ácido que se utilice puede afectar en la etapa de precipitación al interaccionar de manera selectiva con LKS.

Con los resultados y conclusiones obtenidas se comprueba la hipótesis de investigación: la lignina proveniente del licor negro industrial tiene propiedades y características estructurales diferentes dependiendo la naturaleza química del agente de precipitación.

11. Recomendaciones

El licor negro puede ser integrado a un proceso de transformación dependiendo del tipo de uso que se le desee hacer (combustible, gas de síntesis o materia prima para productos de peso molecular pequeño) es necesario seguir obteniendo más información sobre el licor negro para más especies de madera y diferentes etapas del proceso Kraft para realizar estudios a las condiciones en las que resulte más conveniente usar esta corriente. Con respecto a la metodología para la precipitación de la lignina, es importante estudiar un coagulante-floculante eco-amigable libre de metales para lograr una separación más rápida durante la etapa de filtrado, ya que la formación de una suspensión coloidal retarda la filtración y separación de la lignina. En cuanto a la caracterización, se propone utilizar más técnicas de análisis instrumental para elucidar con más certeza la estructura de la lignina tales como espectroscopia de masas, espectroscopía UV, cromatografía, rayos X, etc. para entender con mayor claridad su estructura química. Para complementar la parte experimental de la etapa de precipitación, y acercarse más a un modelo representativo de la lignina, es necesario modelar estructuras más complejas que contengan dímeros y trímeros, utilizando además un ambiente de dinámica molecular utilizando moléculas de agua como disolvente para estudiar con mayor precisión la influencia del ácido.

Bibliografía

- Adler, E. (1977). Lignin chemistry: Past, present and future. *Wood Science and Technology*, 169-218.
- Aitken, I., Cadel, F., & Voillot, C. (1988). Constituents fibreux de pates papiers et cartons pratique de l'analyse, 1st edition. *Pratique de l'analyse, Centre Technique du Papier*.
- Alen, R., Patjia, P., & Sjöström, E. (1979). Carbon dioxide precipitation of lignin from pine kraft black liquor. *Tappi*, 62(11), 108-110.
- Andreuccetti, M., Leite, B. S., & Hallak d'Ángello, J. V. (2011). Eucalyptus black liquor-density, viscosity, solids and sodium sulfate contents revisited. *O Papel*, 52-57.
- Azadi, P., Inderwildi, O. R., Farnood, R., & King, D. A. (2013). Liquid fuels, hydrogen and chemicals from lignin: A critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 506-523.
- Bauer, S., Sorek, H., Mitchell, V. D., Ibáñez, A. B., & Wemmer, D. E. (2012). Characterization of Miscanthus giganteus lignin isolated by ethanol Organosolv process under reflux condition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 8203-8212.
- Beste, A., & Buchanan, A. C. (2011). Kinetic Analysis of the Phenyl-Shift Reaction in β -O-4 Lignin. *The Journal of Organic Chemistry*, 76, 2195–2203.
- Bidlack, J., Malonge, M., & Benson, R. (1992). Molecular structure and component integration of secondary cell walls plant. *Proceedings of the Oklahoma Academy of Science*, 72, 51-56.
- Brauns, F. E. (1946). The stability of the Methoxyl Groups in Methylated Hydrochloric Acid Spruce Lignin. *Journal of American Chemical Society*, 68(9), 1721-1724.
- Browning, B. J. (1967). Methods of wood chemistry. 1, 689.
-

- Cardoso, M., Domingos, E., & Passos, M. (2006, Maio). Licor negro de Eucalipto Kraft proveniente de industrias brasileiras: características químicas, físicas e seu processamento na unidade na recuperacao. *O papel Journal*, 57-70.
- Chattaraj, P. K. (2009). *Chemical Reactivity Theory: a Density Functional View*. CRC Press.
- Chávez-Sifontes, M., & Domine, M. E. (2013). Lignina, estructura y aplicaciones: Métodos de despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industrial. *Avances en ciencia e ingeniería*, 15-46.
- Chávez-Sifontes, M., & Domine, M. E. (2013). Lignina, estructura y aplicaciones: Métodos de despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industrial. *Avances en Ciencia e Ingeniería*, 14-46.
- Chum, H. L., Johnson, D. K., & Black, S. K. (1990).) Organosolv Pretreatment for Enzymatic Hydrolysis of Poplar. 2. Catalyst Effects and the Combined Severity Parameter. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 29, 156-162.
- Côté, W. A. (1967). *Wood Ultrastructure*. Seattle: University of Washington Press.
- Crozier, T. E. (1978). *Oxygen-alkali degradations of loblolly pine dioxane lignin: Changes in chemical structure as a function of time of oxidation (Doctor's Dissertation)*. WI, The Institute of Paper Chemistry., Appleton.
- Dence, C. W., & Lin, S. Y. (1992). *Methods in Lignin Chemistry*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- El Mansouri, N.-E., & Salvado, J. (2007). Analytical methods for determining functional groups in various technical lignis. *Industrial Crops and Products* (26), 116-124.
- Faix, O. (1992). Fourier Transform Infrared Spectroscopy. In S. Y. Lin, & C. W. Dence (Eds.), *Mehods in Lignin Chemistry* (p. 578). Berlin, Heidelberg, Germany: Springer-Verlag.
- Foresman, J. B., & AEleen, F. (1993). *Exploring Chemistry with Electronic Estructure Methods*. Pittsburgh: Gaussian Inc.

- Gavira, J. M. (2012, Diciembre 29). *Triple enlace*. Retrieved from <https://tripleenlace.com/2012/12/29/espectroscopia-infrarroja-i-vibraciones-moleculares/>
- Gellerstedt, G., & Henriksson, G. (2008). Lignins: Major sources, structure and properties. (M. Naceur, & A. Gandini, Eds.) *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*, 201-224.
- Ghaffar, S. H., & Fan, M. (2013). Structural analysis for lignin characteristics in biomass straw. *Biomass and Energy*, (57), 264-279.
- Ghaffar, S., & Fan, M. (2013). Structural analysis for lignin characteristics in biomass straw. *Biomass and Bioenergy*(57), 264-279.
- Ghafrar, S. H., & Fan, M. (2013). Structural analysis for lignin characteristics in biomass straw. *Biomass and Bioenergy* (57), 264-279.
- Gómez, L. D., Steele-King, C. G., & McQueen-Mason, S. J. (n.d.). Sustainable liquid biofuels from biomass: the writing's on the walls. *New Phytologist*, 178, 473-485.
- González, A. M., Herrera, J. P., & Rodríguez, A. (2007). Caracterización de fracciones de lignina extraídas del licor negro con solventes orgánicos. *Revista Forestal Latinoamericana*, 22, 51-64.
- Industry, T. (. (2000). TAPPI. *Test Methods*.
- Karlsson, O. O., & Lundquist, K. (1991). Chemical modification of lignins during organosolv pulping in acid media. In O. Faix, & D. Meier (Eds.), *Mitteilungen der Bundesforschungsanstalt fur Forstund Holzwirtschaft* (Vol. 168, pp. 66-68).
- Klason, P. (1897). *Svensk Kemisk Tidskr.*, 9. 113.
- Klason, P. (1908). Bericht über die Hauptversammlung des Vereins der Zellstoff- und Papierchemiker. 52.
- Klemm, D., Heublein, B., Fin, H. P., & Bohn, A. (2005). Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angewandte Chemie International Edition*, 44, 3358-3393.
-

- Laureano-Perez, L., Teymouri, F., Alizadeh, H., & Dale, B. H. (2005). Understanding factor tha limit enzymatic hydrolisis of biomass. *App. Biochem. Biotechnol.*, 1081-1099.
- Libby, C. E. (1967). *Ciencia y Tecnología sobre Pulpa y Papel*. New York: Mc Graw Hill Book.
- Naqvi, N., Jan, J., & Dahlquist, E. (2010). Black liquor gasifiacion integrated in pulp and paper mil: A critical review. *Bioresource Technology*, 101, 8001-8015.
- Navarro, P., Rodríguez, N. E., Gallo, M., Bagas, R., Garza, J., & López, P. (2019). On the initial stages of lignina polymerization through spin polarized density functional theory. *Chemical Physics Letters*(730), 289-296.
- Obst, J., & Kirk, K. (1988). Isolation of lignin. In W. A. Willis, & K. T. Scott (Eds.), *Methods in enzimology* (Vol. 161, pp. 3-12). San Diego, CA: Academic Press, Inc.
- Pouteau, C., Cathala, B., Dole, P., Kurek, B., & Monties, B. (2005). Structural modification of Kraft lignin after acid treatment: characterisation of the apolar extracts and influence on the. *Industrial Crops and Products*, 21, 101-108.
- Prinsen, P. (2013). Caracterización química y estructural de lignina y lípidos de materiales lignocelulósicos de interés industrial (Tesis doctoral). Universidad de Sevilla, Sevilla.
- Robert, D. R., Bardet, M., Gellersted, G., & Linfords, E. L. (1984). Estructural Changes in Lignin During Kraft Cooking Part 3. On the Structure of Dissolved Lignins. *Journals of Wood Chmestry and Technology*, 4(3), 293-263.
- Rodríguez, N. O. (2016). *Lignina proveniente de licor negro kraft industrial, caracterización experimental, modelado molecular y transformación en el contexto de la biorefinación (Tesis de Doctorado)*. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia.
- Rojas, O., & Salager, J. L. (1994). Surface activity of bagasse lignin derivatives found in the spent liquor of soda pulping plants. *Tappi J*, 77(3), 169-174.

- Saake, B., & Lehnen, R. (2012). Lignin. In *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*. (pp. 21-36). Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Saha, B. (2003). Hemicellulose bioconversion. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 30(5), 185-194.
- San Juan, R. (1997). *Obtención de pulpas y propiedades de las fibras para papel*. Guadalajara: Universidad de Guadalajara.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2004). *Fundamentos de Química analítica*. Ciudad de México: Cengage Learning .
- Stark, M. K., Yelle, J. D., & Agarwal, U. P. (2016). Techniques in Characterizing Lignin. In O. Faruk, & M. Sain, *Lignin in Polymer Composites* (pp. 49-65). Elsevier.
- Sun, X. J., Xu, F., Sun, X. F., Xiao, B., & Sun, R. C. (2005).) Physico-chemical and thermal characterization of cellulose from barley straw. *Polymer Degradation and Stability*, 88, 521-531.
- TAPPI (Technical Association for Pulp and Paper Industry). (200). TAPPI. *Test Methods*. Atlanta, USA: TAPPI Press.
- Tapia, B. D. (2005). *Propiedades del licor negro bajo la influencia de la carga y la formulación de antraquinona en pulpaje kraft. Tesis de licenciatura*. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Forestales, Valdivia.
- Venter, J. S., & Van der Klashort, G. H. (1989). The recovery of by-products and pulping chemicals from industrial soda bagasse spent liquors. *Tappi J*, 127-132.
-