



**INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN  
CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA, A.C.**

**POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**“Estudio de la remoción de compuestos que  
inhiben la producción de biohidrógeno por medio  
de materiales a base de carbono”**

Tesis que presenta

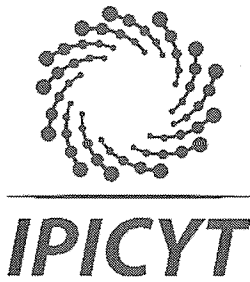
**Ivan Aviña Galván**

Para obtener el grado de  
**Maestro en Ciencias Ambientales**

**Director de la tesis**

**Dr. José René Rangel Méndez**

San Luis Potosí, S.L.P., diciembre de 2018



## Constancia de aprobación de la tesis

La tesis "**Estudio de la remoción de compuestos que inhiben la producción de biohidrógeno por medio de materiales a base de carbono**" presentada para obtener el Grado de Maestro en Ciencias Ambientales fue elaborada por **Ivan Aviña Galván** y aprobada el catorce de diciembre del dos mil dieciocho por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

**Dr. José René Rangel Méndez**  
Director de la tesis

**Dr. Felipe Alatríste Mondragón**  
Miembro del Comité Tutorial

**Dr. Luis Felipe Cházaro Ruiz**  
Miembro del Comité Tutorial

**Dr. Cesar Nieto Delgado**  
Miembro del Comité Tutorial

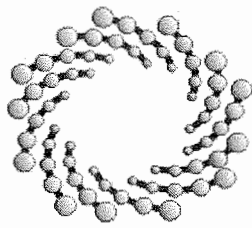


### **Créditos institucionales**

Esta tesis fue elaborada en la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., bajo la dirección del Dr. José René Rangel Méndez.

Durante la realización del trabajo el autor recibió una beca académica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología con No. De registro 610970.

El posgrado en Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, se encuentra inscrito dentro del Programa Nacional de Posgrados de Calidad del CONACYT y es de competencia internacional.



**IPICYT**

# Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

## Acta de Examen de Grado

El Secretario Académico del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., certifica que en el Acta 064 del Libro Primero de Actas de Exámenes de Grado del Programa de Maestría en Ciencias Ambientales está asentado lo siguiente:

En la ciudad de San Luis Potosí a los 14 días del mes de diciembre del año 2018, se reunió a las 16:00 horas en las instalaciones del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., el Jurado integrado por:

<b>Dr. Felipe Alatraste Mondragón</b>	<b>Presidente</b>	<b>IPICYT</b>
<b>Dr. Luis Felipe Cházaro Ruiz</b>	<b>Secretario</b>	<b>IPICYT</b>
<b>Dr. Cesar Nieto Delgado</b>	<b>Sinodal</b>	<b>IPICYT</b>
<b>Dr. José René Rangel Méndez</b>	<b>Sinodal</b>	<b>IPICYT</b>

a fin de efectuar el examen, que para obtener el Grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS AMBIENTALES**

sustentó el C.

**Ivan Aviña Galván**

sobre la Tesis intitulada:

*Estudio de la remoción de compuestos que inhiben la producción de biohidrógeno por medio de materiales a base de carbono*

que se desarrolló bajo la dirección de

**Dr. José René Rangel Méndez**

El Jurado, después de deliberar, determinó

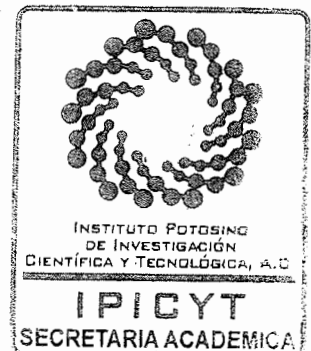
**APROBARLO**

Dándose por terminado el acto a las 18:30 horas, procediendo a la firma del Acta los integrantes del Jurado. Dando fe el Secretario Académico del Instituto.

A petición del interesado y para los fines que al mismo convengan, se extiende el presente documento en la ciudad de San Luis Potosí, S.L.P., México, a los 14 días del mes de diciembre de 2018.

  
**Dr. Horacio Flores Zúñiga**  
Secretario Académico

  
**Mtra. Ivonne Lizette Cuevas Vélez**  
Jefa del Departamento del Posgrado



## **Dedicatorias**

**El presente trabajo se lo quiero dedicar a mis padres y hermanos que siempre estuvieron ahí para apoyarme en todas mis decisiones desde el inicio hasta el final de este proyecto.**

**Con dedicatoria especial a Violeta Zúñiga Varela, por darme todo el apoyo en comenzar este proyecto y estar conmigo hasta el término, siempre le estaré inmensamente agradecido.**

**Finalmente pero no menos importante a Francisco Fabián Calvillo, Edgar Báez y Saúl Esquivel por compartir este pequeño lapso de vida, y estar apoyándome día y noche en todo lo que necesitara.**

**Gracias a todos.**

## Agradecimientos

Agradezco al Dr. José René Rangel Méndez por darme la oportunidad de colaborar en su grupo de investigación, por su apoyo y tiempo durante el transcurso del proyecto.

A los doctores Luis Felipe Cházaro, Felipe Alatríste y Cesar Nieto por todas las aportaciones, que sirvieron para llevar por buen camino el presente trabajo.

De igual manera, agradezco enormemente a los técnicos de la división de ciencias ambientales: M. en C. Dulce Partida Gutiérrez, M. en C. Alejandra Colunga Álvarez, y al M. en C. Guillermo Vidriales Escobar, por todo su tiempo y dedicación, ya que fueron de gran ayuda para llevar a cabo este proyecto.

Agradezco al técnico I.Q. Ma. Del Carmen Rocha Medina por su apoyo en el método experimental, porque fue de utilidad para el desarrollo correcto del proyecto.

Finalmente agradecer al Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, por facilitarme toda su infraestructura y así poder realizar el proyecto en tiempo y forma.

# Contenido

	Pagina
Constancia de aprobación de la tesis	ii
Créditos institucionales	iii
Acta de examen	iv
Dedicatorias	v
Agradecimientos	vi
Lista de Tablas	x
Lista de Figuras	xi
Resumen	xiii
Abstract	
1. Introducción	1
2. Antecedentes	4
2.1 Biomasa lignocelulósica	4
2.2 Pretratamientos en hidrolizados de biomasa lignocelulósica	5
2.3 Contaminación de inhibidores en hidrolizados ácidos de bagazo de agave variedad azul	8
2.4 Composición física y química de los principales inhibidores	11
2.4.1 Toxicidad de los compuestos inhibidores	
2.5 Producción de biohidrógeno	13
2.6 Destoxificación de hidrolizados de biomasa lignocelulósica	14
2.7 Definición de adsorción	15
2.8 Equilibrio de adsorción	16
2.8.1 Modelo de Langmuir	17

2.8.2 Modelo de Freundlich	18
2.9. Materiales Adsorbentes	19
2.9.1. Estructura física y química del carbón activado	19
3. Justificación	22
4. Hipótesis	23
5. Objetivos	24
5.1. Objetivos generales	24
5.2. Objetivos específicos	24
6. Materiales y Métodos	25
6.1 Materiales	25
6.2 Métodos	25
6.2.1 Modelación de adsorbatos	25
6.2.2 Caracterización de los carbones activados empleados	26
6.2.2.1 Determinación de área específica y distribución del tamaño de poros de los carbones activados	26
6.2.2.3 Determinación de grupos funcionales oxigenados en la superficie de los carbones activados (Titulaciones Boehm)	26
6.2.2.4 Distribución de carga superficial de los carbones activados	27
6.2.3 Evaluación de la capacidad de adsorción	28
6.2.4 Isotermas de Adsorción	29
6.2.5 Cinéticas de Adsorción	29
6.2.6 Efecto de pH	30



6.2.7 Capacidad de adsorción de los inhibidores con carbón activado en un hidrolizado real clarificado	30
6.2.7.1 Hidrolizado real	30
6.2.7.2 Cuantificación de azúcares totales e inhibidores	30
6.2.8 Adsorción-desorción de la vainillina en carbón activado	31
7. Resultados y Discusión	32
7.1 Determinación de área específica y distribución de tamaño de poros	32
7.2 Determinación de grupos funcionales de los carbones activados	36
7.3 Punto de carga cero (PCC)	37
7.4 Evaluación de la capacidad de adsorción	38
7.5 Isotermas de Adsorción	44
7.6 Cinéticas de adsorción	46
7.7 Efecto del pH	48
7.8 Adsorción-Desorción de la vainillina	50
7.9 Adsorción de inhibidores en un hidrolizado real	51
7.10 Estudios relacionados con la remoción de compuestos inhibitorios	53
8. Conclusiones	54
9. Perspectivas	56
10. Referencias	57
Anexos	

## Lista de Tablas

		Pagina
Tabla 1.	Composición de lignocelulosa seca para diferentes tipos de cultivos en base al peso seco p/p.	5
Tabla 2.	Propiedades físicas y químicas de los compuestos inhibitorios.	10
Tabla 3.	Caracterización química de la hidrólisis ácida y enzimática de biomasa lignocelulósica de bagazo de agave.	12
Tabla 4.	Estudios relacionados con la remoción de compuestos inhibitorios	15
Tabla 5.	Área específica y distribución del volumen de poro en los cuatro carbones activados.	36
Tabla 6.	Diámetro volumétrico (DV) de las moléculas inhibitorias solvatadas y de los posibles carbohidratos en los hidrolizados.	37
Tabla 7.	Grupos funcionales presentes en la superficie de los cuatro tipos de carbones activados.	38
Tabla 8.	Parámetros de las isoterms de adsorción de Langmuir y Freundlich para los inhibidores en los carbones activados F-400 y FCA.	48
Tabla 9.	Concentración de compuestos inhibidores y azúcares totales presentes en un hidrolizado real de bagazo de agave variedad azul, y su remoción con CA F-400.	53

## Lista de Figuras

Figura 1.	Principales compuestos inhibidores generados en el pretratamiento de la materia lignocelulósica.	2
Figura 2.	Reacciones que ocurren durante la hidrólisis de materiales lignocelulósicos. Modificado de Palmqvist & Hahn-Hägerdal, 2000.	8
Figura 3.	(a) Estructura química de la vainillina, (b) Estructura química del Siringaldehído.	9
Figura 4.	(c) Estructura química del furfural, (d) Estructura química del 5-HMF	10
Figura 5.	Estructura del carbón activado con grupos funcionales en la superficie (Marsh & Rodríguez-Reinoso, 2006).	21
Figura 6.	Posibles grupos funcionales presentes en las superficies del carbón activado (Boehm, 1994).	22
Figura 7.	Isotermas de adsorción con N <sub>2</sub> de los cuatro carbones activados.	34
Figura 8.	Distribución del tamaño de poro en los cuatro carbones activados.	34
Figura 9.	Volumen incremental contra distribución del tamaño de poro en los cuatro carbones activados.	35
Figura 10.	Distribución de carga de los cuatro carbones activados.	39
Figura 11.	Capacidades de adsorción de los inhibidores por separado a una concentración inicial de 100 ppm en los cuatro tipos de carbones activados. T = 25 °C, pH = 5 en agua desionizada.	40
Figura 12.	Capacidades de adsorción de los inhibidores individuales a una concentración inicial de 100 ppm en los cuatro tipos de carbones activados. T = 25° C, pH = 5 en 20 g/L de glucosa.	42

Figura 13.	Capacidades de adsorción de los inhibidores en mezcla a una concentración inicial de 100 ppm en los cuatro tipos de carbones activados. T = 25 °C, pH = 5, en 20 g/L glucosa.	42
Figura 14.	Interacciones entre furfurales y el carbón activado mediante enlaces $\pi$ - $\pi$ .	44
Figura 15.	Interacciones entre el carbón activado, compuestos fenólicos y ácido acético.	44
Figura 16.	Capacidad de adsorción de azúcares totales (glucosa), en un hidrolizado modelo con los cuatro tipos de carbón activado. T = 25 °C, pH = 5 y concentración inicial de 20g/L de glucosa.	45
Figura 17.	Isotermas de adsorción de 5-HMF (A), Furfural (B), Vainillina (C), Siringaldehído (D) y Ácido acético (E) sobre carbones activados F-400 y FCA en 20g/L de glucosa, los datos fueron ajustados con dos modelos matemáticos: Langmuir(—) y Freundlich (----).	46
Figura 18.	Velocidad de remoción de los cinco compuestos inhibitorios, a concentraciones equimolares (1 mmol/L), temperatura de 25 °C y pH = 5 en 20 g/L de glucosa.	50
Figura 19.	Efecto de pH en el proceso de adsorción de los compuestos inhibidores en un hidrolizado modelo a concentraciones equimolares de 1 mmol/L, a una temperatura de 25 °C en 20g/L de glucosa.	52
Figura 20.	Capacidades de remoción de los compuestos presentes en un hidrolizado real con carbón activado F-400, a un pH = 5 y una T = 25 °C.	54
Figura 21.	Adsorción-desorción de inhibidores en hidrolizado modelo, con carbón activado F-400 a pH = 5, T = 25°C, 20g/L de glucosa y concentración inicial de 100 ppm.	55
Figura 22.	Adsorción-desorción de inhibidores en hidrolizado modelo, con carbón activado F-400 a pH = 5, T = 25°C, 20g/L de glucosa y concentración inicial de 100 ppm.	56

## Resumen

### Estudio de la remoción de compuestos que inhiben la producción de biohidrógeno por medio de materiales a base de carbono

En la actualidad existe una pérdida considerable en la producción de biohidrógeno a partir de hidrolizados ácidos, causado por la presencia de compuestos inhibitorios como: derivados de furanos, compuestos fenólicos y algunos ácidos orgánicos, resultantes de la degradación de lignina y algunas pentosas y hexosas. Los cuales son tóxicos para los microorganismos que realizan la fermentación oscura mermando la producción de biohidrógeno. Por lo que en este estudio se evaluó el uso de cuatro carbones activados (F-400, FCA, Concha de coco y de Madera) con el fin de encontrar el material más eficiente, basándonos en sus propiedades físicas y químicas, para adsorber compuestos inhibitorios presentes en un hidrolizado modelo y en uno real. Las isothermas de adsorción y cinéticas demostraron que el carbón activado F-400 es el material más adecuado para este proceso, porque reportó grandes capacidades de remoción de los compuestos fenólicos (vainillina = 0.68 mmol/g, siringaldehído = 1.02 mmol/g), y una cinética aceptable que alcanza más del 80% en los primeros 30 min. Además, el F-400 solo adsorbió 0.53 mg/g de azúcares totales. Cabe destacar que el inhibidor que más se adsorbe en el F-400 en un hidrolizado real es el ácido acético, debido a su alta concentración, seguido de los compuestos fenólicos, esto por su hidrofobicidad e interacciones tipo  $\pi$ - $\pi$ , y finalmente los derivados de furanos (furfural y 5-HMF), porque son más afines al medio que al adsorbente. El CA F-400 es capaz de remover 89.1 mmol/g de vainillina y además desorber un 62.2% de este inhibidor, el cual tiene un valor agregado en la industria alimenticia.

PALABRAS CLAVE: adsorción, carbón activado, inhibidores, hidrolizados, biohidrógeno

## Abstract

### Study of the removal of compounds that inhibit the production of biohydrogen by means of carbon-based materials

At present there is a considerable loss in the production of biohydrogen, from acid hydrolysates, caused by the presence of inhibitory compounds such as: derivatives of furans, phenolic compounds and some organic acids, resulting in the degradation of lignin, in some pentoses and hexoses. Which are toxic to microorganisms that perform dark fermentation, reducing the production of biohydrogen. So in this study we evaluated the use of four activated carbons (F-400, FCA, Coconut Shell and Wood) in order to find the most efficient material, based on its physical and chemical properties, to adsorb inhibitory compounds present in a model hydrolyzed and in a real hydrolyzed. The adsorption and kinetic isotherms showed that the activated carbon F-400 is the most suitable material for this process, because it reported great removal capacities of the phenolic compounds (vanillin = 0.68 mmol/g, syringaldehyde = 1.02 mmol/g), and acceptable kinetics that reached more than 80% in the first 30 min. In addition, F-400 only adsorbed 0.53 mg/g of total sugars. It should be noted that the inhibitor that is most adsorbed in F-400 in a real hydrolyzed is acetic acid, due to its high concentration, followed by phenolic compounds, this due to its hydrophobicity and  $\pi$ - $\pi$  interactions, and finally the derivatives of furans (furfural and 5-HMF), because they are more affined to the medium than to the adsorbent. Activated carbon F-400 is able to remove 89.1 mmol/g of vanillin and also to desorb 62.2% of this inhibitor, which has an added value in the food industry.

KEY WORDS: adsorption, activated carbon, inhibitors, hydrolysates, biohydrogen

## 1. Introducción

Una de las materias primas que más relevancia presenta como alternativa a los combustibles fósiles es la lignocelulosa, ya que es la fuente de biomasa renovable más abundante y que representa el 50% de la producción mundial de biomasa. En general el 75% del peso seco de la lignocelulosa consiste en carbohidratos que están presentes en estado polimerizado, lo cual no permite su accesibilidad para ser utilizados en procesos de interés como la producción de productos químicos o biocombustibles (bioetanol, biodiesel y biohidrógeno), (Bakker, Baets, & Eggink, 2014).

La generación de biocombustibles a partir de lignocelulosa implica los siguientes pasos:

- a) Pretratamiento de la materia prima.
- b) Hidrólisis de las fracciones de celulosa y hemicelulosa.
- c) Generación de biocombustible por fermentación microbiana.

El pretratamiento podría ser la clave para un mejor rendimiento en la producción de biohidrógeno ( $\text{BioH}_2$ ), ya que existe una gran variedad de métodos para llevarlo a cabo, sin embargo, uno de los más importantes es el uso de ácidos diluidos, tales como el ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, ácido nítrico y en algunos casos el empleo de ácidos orgánicos (ácido acético), (G. Kumar et al., 2015). En la mayoría de los casos, el pretratamiento induce a la formación de compuestos tecnológicamente desfavorables (Figura 1), los cuales se conocen como inhibidores. Estos subproductos pueden clasificarse como compuestos fenólicos que se originan debido a la degradación de la lignina, o derivados furánicos tales como el furfural y 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) que se generan a partir de la transformación de azúcares C5 y C6) y ácidos débiles, como el ácido acético, ácido fórmico etc., ( ver Figura 1), (G. Kumar et al., 2015).

Se han empleado una gran variedad de métodos para la destoxificación del hidrolizado, dentro de los cuales se incluyen la adaptación de la levadura, la evaporación, extracción con disolventes, adsorción con carbón activado (CA) y el uso de resinas de intercambio iónico (RII), (G. Kumar et al., 2015).

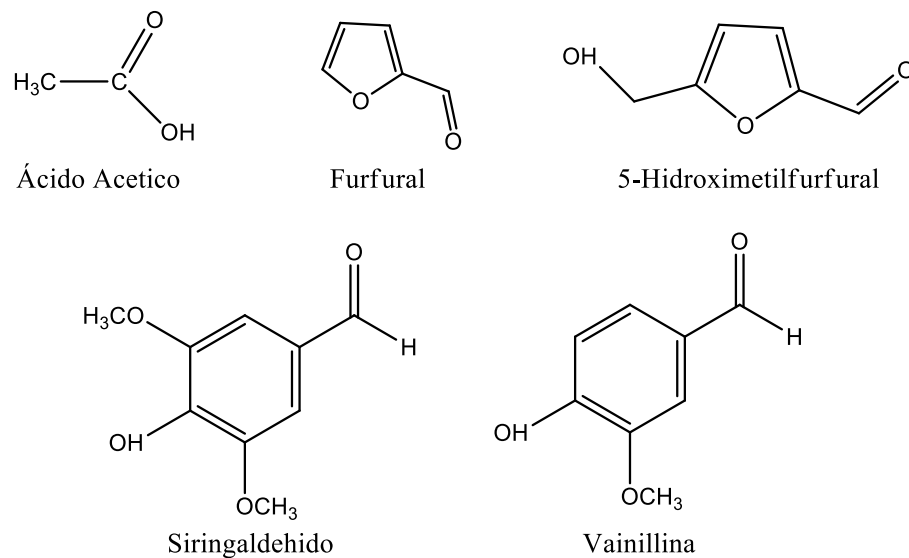


Figura 1. Principales compuestos inhibidores generados en el pretratamiento de la materia lignocelulósica.

Entre todos estos métodos, el CA se ha utilizado ampliamente como adsorbente para reducir la concentración de los compuestos inhibitorios de tipo furanos y compuestos fenólicos, cuya hidrofobicidad es mucho mayor que los azúcares y ácidos carboxílicos presentes en los hidrolizados lignocelulósicos. A pesar de que existe una relación entre la dosis de CA y la adsorción de los compuestos inhibidores, también existe una pérdida en la concentración de carbohidratos, los cuales son de interés para la fermentación microbiana (Lee & Park, 2016).

Debido a esto, el presente proyecto se basa en la destoxificación de un hidrolizado modelo y uno real empleando diferentes tipos de CA, en el cual se realizara un estudio a fondo sobre la influencia de las características físicas y



químicas de los carbones para poder obtener buenos rendimientos en las remociones de los inhibidores de manera que se adsorba la menor cantidad de azúcares disponibles para la fermentación microbiana.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Biomasa lignocelulósica

La materia prima más abundante en la naturaleza es la biomasa lignocelulósica, ya que abarca desde maderas duras y blandas, pastos, cultivos forestales, hasta residuos de cultivos agroindustriales. El rendimiento anual mundial de residuos de biomasa lignocelulósica se estima en más de 220 mil millones de toneladas, (G. Kumar et al., 2015). El interés en la biomasa lignocelulósica ha aumentado por el hecho de que grandes cantidades de este tipo de biomasa pueden recuperarse como es el caso del bagazo de *Agave tequilana* (*A. tequilana* Weber variedad Azul), que es el principal residuo sólido generado por la industria del tequila en México (Arreola-Vargas, 2016).

La biomasa lignocelulósica no es una sola molécula definida, sino una estructura que consiste en celulosa, hemicelulosa, lignina y la fracción sólida inorgánica (ceniza). Las cantidades que pueden encontrarse en el material vegetal varían significativamente debido a las especies de cultivos (Tabla 1). Las moléculas de celulosa son polímeros muy bien definidos, se unen a partir de moléculas D-glucosa, que a su vez están unidas por enlaces de tipo  $\beta$ -1-4. Los polímeros de celulosa poseen longitudes de cadena de más de 10,000 moléculas. Por otro lado la hemicelulosa puede consistir en diferentes azúcares de cinco y seis carbonos, principalmente xilosa, manosa, arabinosa, glucosa y galactosa. La xilosa es uno de los principales azúcares de la hemicelulosa de *monocotiledónea* (pasto), mientras que la manosa es uno de los principales azúcares en la hemicelulosa de *gimnospermas* (madera blanda), (van der Pol, Bakker, Baets, & Eggink, 2014).

La lignina es un complejo polimérico y aromático, el cual se encuentra compuesto de unidades fenilpropanoides, que representa el 25-39% del peso seco de las maderas blandas, y el 17-32% de las maderas duras, (Jönsson & Martín, 2016). Los materiales de madera tienen un contenido de celulosa similar, pero el

contenido de lignina en la madera blanda es generalmente más alto que en las maderas duras (Klinke, Thomsen, & Ahring, 2004).

Tabla 1. Composición de lignocelulosa seca para diferentes tipos de cultivos en base al peso seco p/p.

Compuesto	Bagazo	Paja de trigo	Rastrojo de maíz
Celulosa (%)	36 - 45	38 - 48	36 - 41
Hemicelulosa (%)	25 - 28	23 - 29	26 - 30
Lignina (%)	17 - 20	13 - 19	16 - 21
Ceniza (%)	1 - 3	5 - 9	2- 6

Modificado de C. van der Pol, 2014

## 2.2 Pretratamientos en hidrolizados de biomasa lignocelulósica

El pretratamiento es un proceso que en la mayoría de los casos induce a la formación de compuestos tecnológicamente desfavorables, los cuales son conocidos como inhibidores de la fermentación. Este fenómeno es complejo y se encuentra relacionado con la pérdida de azúcares fermentables. Los compuestos inhibitorios pueden estar presentes en el hidrolizado del pretratamiento y son considerados como barreras de fermentación, reduciendo severamente la producción de hidrógeno microbológico (G. Kumar et al., 2015). Debido a que la formación de sustancias inhibitorias está ligada en su mayoría a la etapa del pretratamiento, se abarcarán solo los métodos de pretratamiento más relevantes respecto a la formación de inhibidores y que son de interés industrial (Jönsson & Martín, 2016).

Existen diferentes métodos de pretratamiento para lograr que los carbohidratos en la biomasa lignocelulósica se encuentren accesibles para la hidrólisis

enzimática y la fermentación microbiana, incluyendo la hidrólisis ácida, explosión de vapor, métodos oxidativos, hidrólisis alcalina entre los más usados (Klinke et al., 2004).

Actualmente existen varios esquemas de pretratamientos enfocados en la obtención de azúcares fermentables a partir de biomasa lignocelulósica, en donde destacan, el uso de ácidos diluidos (hidrolisis ácida), métodos alcalinos, procesos de oxidación avanzada, y explosiones de vapor (Du et al., 2010).

En general la hidrólisis ácida es un método de pretratamiento a menudo propuesto para la descomposición de lignocelulosa debido a su alta y rápida eficiencia en la obtención de azúcares fermentables. Una combinación de un pH bajo y una alta temperatura (120-125 °C) hidroliza la hemicelulosa, aumentando el acceso enzimático de la celulosa y, por lo tanto, la conversión a glucosa monomérica en un periodo de 5 a 30 minutos (van der Pol et al., 2014). Por lo general, se realiza con ácidos minerales y resulta en una alta recuperación de los azúcares hemicelulósicos en el líquido de pretratamiento, y en una fracción de celulosa sólida (Jönsson & Martín, 2016). Además, de la hemicelulosa, la lignina y la celulosa también pueden degradarse parcialmente. La hidrólisis ácida es más eficiente para la biomasa lignocelulósica con bajos contenidos de lignina, como las plantas de tipo monocotiledóneas, debido a la eliminación moderada de la lignina durante el pretratamiento ( van der Pol et al., 2014).

### **2.3 Contaminación por inhibidores en hidrolizados**

Una gran variedad de estudios han revelado que las relaciones entre la química del pretratamiento, la materia prima de biomasa lignocelulósica y el producto resultante en general son muy complejas y poco entendidas a nivel molecular (Du et al., 2010). El pretratamiento a alta temperatura, la formación de carbohidratos fermentables y productos de degradación depende de un factor de severidad combinado, que incluye la temperatura de reacción, el tiempo y el pH

(Klinke et al., 2004). En la mayoría de los sistemas de biomasa, el pretratamiento e hidrólisis provoca la degradación de azúcares y lignina que da como resultado la formación de subproductos que suelen tener un efecto tóxico sobre la capacidad fermentativa de los organismos (Berson, Young, Kamer, & Hanley, 2005). Además de los monómeros u oligómeros generados por la hidrólisis química de la hemicelulosa en la estructura de biomasa, algunos compuestos considerados inhibidores microbianos también se producen y liberan en el hidrolizado (Soleimani, Tabil, & Niu, 2015). Dependiendo de la materia prima utilizada, existen aproximadamente 40 productos de degradación potencialmente inhibitorios en hidrolizados (Du et al., 2010), sin embargo existen tres grupos principales de subproductos formados que se presentan en mayor concentración: furanos, ácidos orgánicos y compuestos fenólicos (Edwin C. van der Pol et al., 2014). El pretratamiento generalmente degrada la hemicelulosa, lo cual conduce a la formación de productos tales como pentosa y hexosa, ácidos alifáticos, principalmente ácido acético (3), ácido fórmico (8) y ácido levulínico (9), así como aldehídos de tipo furano como el 5-hidroximetilfurfural (HMF) y furfural (Figura 2, 6 y 7 respectivamente). Después de la hidrólisis de polisacáridos de lignocelulosa, la lignina permanece como un residuo sólido, aunque una parte menor se degrada a fenólicos y a otros compuestos aromáticos (Figura 2) (Jönsson, Alriksson, & Nilvebrant, 2013).

En resumen los inhibidores generados por la hidrólisis catalizada por ácido se clasifican como: (a) minerales o metales generados por la corrosión del equipo o iones en la biomasa; (b) furanos que consisten en furfural e hidroximetilfurfural (HMF) derivados de la degradación de azúcares a altas temperaturas; (c) ácido acético derivado de los grupos acetilo en biopolímeros; y (d) otras sustancias químicas como compuestos fenólicos, aldehídos y aromáticos que se liberan de la degradación de lignina y de otros compuestos derivados de extractos.

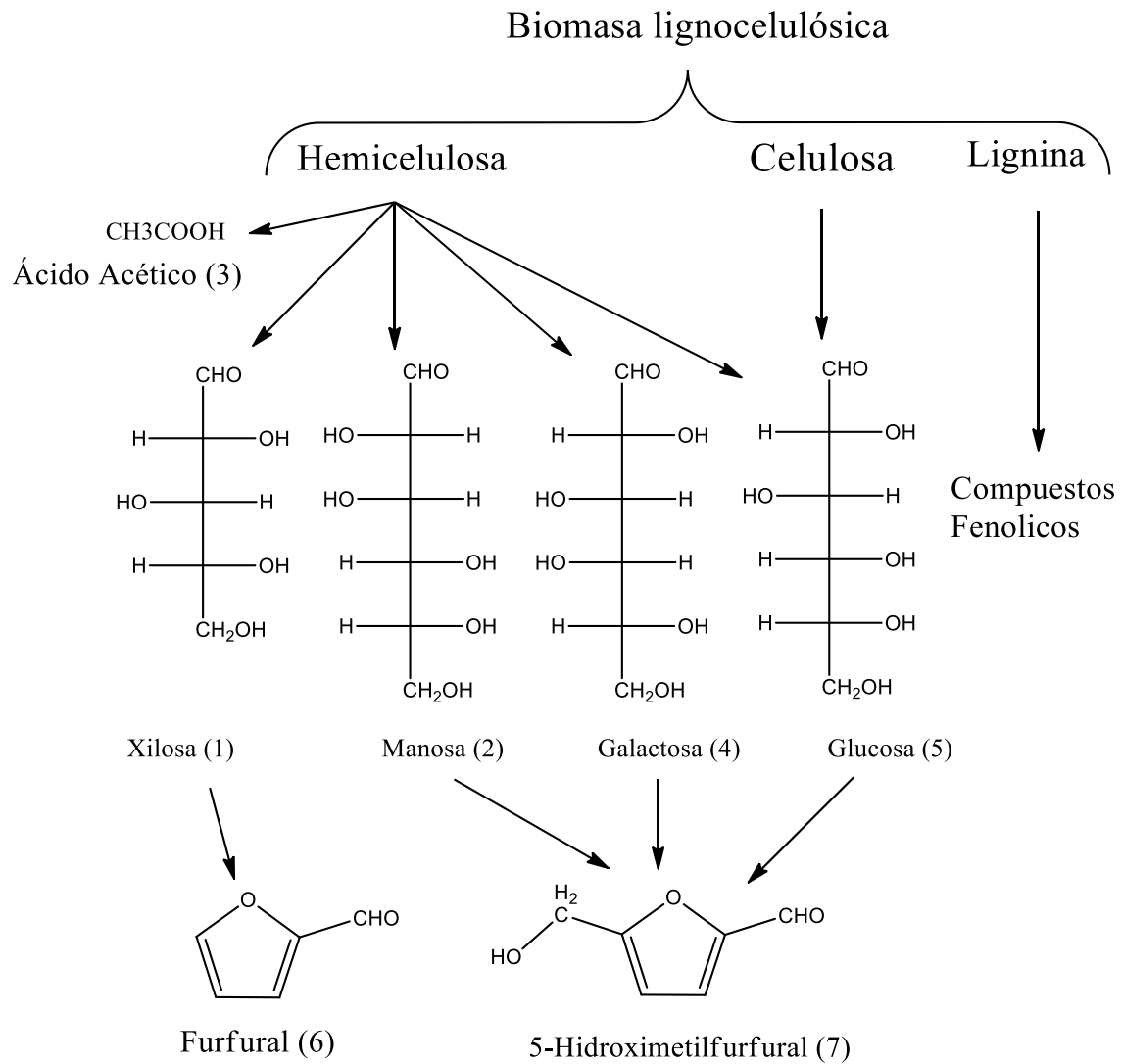


Figura 2. Reacciones que ocurren durante la hidrólisis de materiales lignocelulósicos. Modificado de Palmqvist & Hahn-Hägerdal, 2000

La toxicidad de los compuestos derivados de la lignina es mayor que la de los ácidos orgánicos y los furanos, y la vainillina es el inhibidor más tóxico para los microorganismos que consumen xilosa y hexosas (Soleimani et al., 2015).

## 2.4 Propiedades física y química de los principales inhibidores

La vainillina es un aldehído fenólico ( $C_8H_8O_3$ ), y sus grupos funcionales incluyen aldehído, éter y fenol (Figura 3 (a)), (R. Kumar, Sharma, & Mishra, 2012a). El átomo de carbono carbonílico con hibridación  $sp^2$ , está enlazado a un átomo de carbono y a uno de hidrógeno a través de enlaces sencillos de tipo  $\sigma$  y a un átomo de oxígeno, a través de un doble enlace ( $\sigma$  y  $\pi$ ). El aldehído aromático tiene estructura cristalina en forma de agujas finas de color blanco o amarillo pálido, con olor agradable y sabor a vainilla. Es muy soluble en etanol, cloroformo, éter, sulfuro de carbono, ácido acético glacial, piridina, aceites y soluciones acuosas de hidróxidos alcalinos (Trapero Quintana, 2014a).

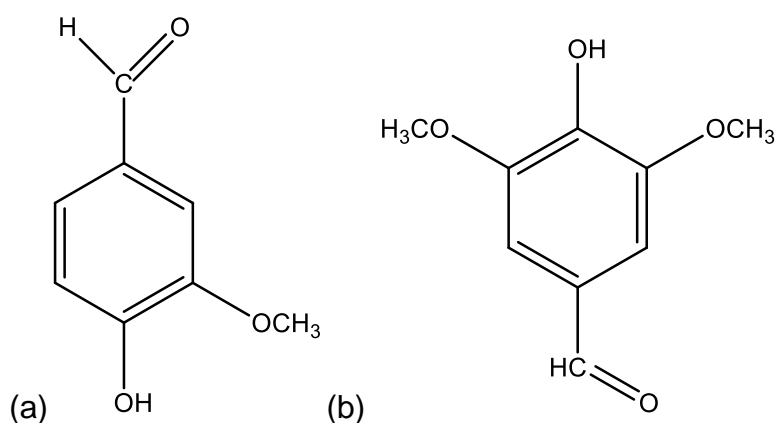


Figura 3. (a) Estructura química de la vainillina, (b) Estructura química del siringaldehído.

El siringaldehído es un compuesto fenólico que se deriva de la degradación de la lignina tras un pretratamiento térmico y ácido. Tiene una fórmula molecular  $C_9H_{10}O_4$  y posee dos grupos metoxi, un grupo aldehído y un grupo fenólico, enlazados a un anillo aromático (Figura 3 (b)).

El furfural es una sustancia química hermana del 5-hidroximetilfurfural, en donde los dos compuestos son derivados del furano con un olor característicamente fuerte. El furfural tiene la fórmula molecular  $C_5H_4O_2$ , mientras que el 5-HMF  $C_6H_6O_3$ . El primero posee dos grupos funcionales, el

aldehído y un sistema conjugado (C=C-C=C), mientras que el 5-HMF posee el mismo sistema conjugado, además de los grupos aldehído y carboxílico (Figura 4 (c), (d)), (Yan, Wu, Lafleur, & Jarvis, 2014). Las propiedades físicas y químicas de los compuestos inhibitorios se presentan en la Tabla 2.

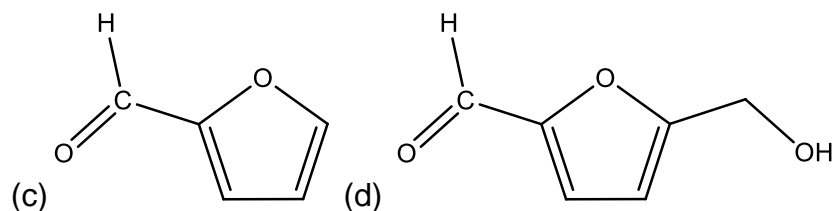


Figura 4. (c) Estructura química del furfural, (d) Estructura química del 5-HMF.

Tabla 2. Propiedades físicas y químicas de los compuestos inhibitorios

<b>Inhibidor</b>	Furfural	5-HMF	Vainillina	Siringald ehído	Ác. Acético	Glucosa
PM <sup>a</sup> (g/mol)	96.08	126.11	152.15	182.17	60.05	180.1
Densidad (g/ml)	1.16	1.20	1.056	1.01	1.051	1.56
Punto de Fusión (°C)	161.7	NR	285	193	117.9	146
Acidez (pka)	NA	12.82	7.4	7.24	4.75	NR
Coef. octanol/H <sub>2</sub> O Log <sub>10</sub> K <sub>ow</sub> <sup>b</sup>	0.41	-0.09	1.37	1.31	-0.17	-3.3
Solubilidad en agua (mg/L)	7.41x10 <sup>4</sup>	7.0x10 <sup>5</sup>	1.102x10 <sup>4</sup>	Insoluble	1x10 <sup>6</sup>	1.2
Nota: a = Peso Molecular; b = Estimado; NA = No Aplica; NR: No reportado						

Yan et al., 2014., Trapero Quintana, 2014b., Rizelio et al., 2012., R. Kumar et al., 2012a., Kim et al, 2015. (Royal Society of Chemistry, 2015)



### **2.4.1 Toxicidad de los compuestos inhibidores**

Los compuestos fenólicos en general pueden inhibir el crecimiento microbiano además de afectar el rendimiento de producto deseado, esto puede relacionarse principalmente con los grupos funcionales presentes en su estructura (ver Figura 3), como los grupos aldehídos. En muchos casos, los compuestos fenólicos interfieren con la membrana celular al influir en su función y cambiar su relación proteína-lípido (Jönsson et al., 2013). Para el caso de los compuestos derivados de furanos, la toxicidad se relaciona de igual manera que los compuestos fenólicos, basados en el grupo aldehído en su estructura (Jönsson et al., 2013). Para el caso de los compuestos ácidos, como es el caso del ácido acético, tienden a difundir sobre la membrana celular y luego se disocian debido al pH intracelular, lo que puede conducir principalmente a la muerte celular, lo que tendrá como consecuencia un bajo rendimiento en el producto final deseado (Jönsson et al., 2013).

### **2.5 Producción de biohidrógeno**

Se ha iniciado un interés mundial con el objetivo final de promover la transición a la economía basada en el hidrógeno. Esto se debe a las ventajas del uso de hidrógeno como combustible de la nueva era, ya que al someterlo a combustión solo se genera vapor de agua y comparado con los combustibles actuales tiene el más alto contenido energético específico. En décadas recientes, los proyectos se han enfocado en numerosos pero igualmente sustanciales aspectos de la producción de hidrógeno por fermentación oscura, incluyendo la selección de cepas microbianas, el desarrollo de procesos de ingeniería de biorreactores, que conlleva la recuperación de biohidrógeno y el proceso de purificación de efluentes de fermentación. También se ha investigado la utilización de diferentes materias primas. Se ha demostrado que la biomasa lignocelulósica renovable puede ser un potencial material de partida para la generación de hidrógeno debido a su abundancia en hidratos de carbono (G. Kumar et al., 2015).

Recientemente, se reportó que la hidrólisis ácida diluida es altamente efectiva para la extracción de azúcares fermentables del bagazo de Agave, sin embargo, también se produjeron subproductos tóxicos como furanos y compuestos fenólicos. La Tabla 3 muestra la composición química de los hidrolizados ácidos y enzimáticos obtenidos después de ambos procedimientos de hidrólisis. Está claro que el hidrolizado enzimático produjo concentraciones más altas de materia orgánica pero el hidrolizado ácido casi duplicó la concentración de azúcares totales del hidrolizado enzimático. Esto último está de acuerdo con la efectividad ampliamente reportada de la hidrólisis ácida para la extracción de azúcar a partir de biomasa lignocelulósica. No obstante, se detectaron subproductos tóxicos tales como ácido fórmico, ácido acético y compuestos fenólicos y de furano en el hidrolizado ácido; muy probablemente debido a la alta temperatura y al bajo pH de la condición de hidrólisis. En contraste, el hidrolizado enzimático solo presentó pequeñas cantidades de compuestos fenólicos (Arreola-Vargas et al, 2016).

Tabla 3. Caracterización química de la hidrólisis ácida y enzimática de biomasa lignocelulósica de bagazo de agave.

<b>Componente</b>	<b>Hidrólisis ácida</b>	<b>Hidrólisis enzimática</b>
<b>COD (g/L)</b>	30.2 ± 3.5	40.2 ± 5.8
<b>Azúcares totales (g/L)</b>	17.3 ± 2.1	8.9 ± 1.2
<b>Ácido Fórmico (g/L)</b>	2.2 ± 0.4	Nd
<b>Ácido Acético (g/L)</b>	7.7 ± 2.6	Nd
<b>Fenoles totales (mg/L)</b>	941.6 ± 125.7	328.7 ± 96.4
<b>HMF (mg/L)</b>	95.8 ± 21.9	Nd
<b>Furfural (mg/L)</b>	33.1 ± 9.1	Nd
<i>Nd: No detectable</i>		

Modificado de Arreola-Vargas et al., 2016

Arreola-Vargas, et al, 2016 especifican que los valores de la producción acumulada máxima de hidrógeno ( $H_{max-H_2}$ ) y la tasa máxima de producción de hidrógeno ( $R_{max-H_2}$ ) fueron mayores en los ensayos con hidrolizado enzimático que aquellos con hidrolizado ácido, (Arreola-Vargas et al., 2016). Esto claramente debido a la presencia en mayor cantidad de inhibidores en el hidrolizado ácido sometido a la fermentación oscura.

## **2.6 Destoxificación de hidrolizados de biomasa lignocelulósica**

La eliminación de los compuestos inhibitorios presentes en hidrolizados se ha llevado a cabo usando varios métodos de separación que incluyen tratamiento alcalino, evaporación al vacío, adsorción con carbón activado, remoción con resina de intercambio iónico, nanofiltración y sus combinaciones. Sin embargo, debido a que los esfuerzos de estos investigadores se han centrado principalmente en eliminar completamente los inhibidores en un intento de mejorar el rendimiento de la obtención del biocombustible, la pérdida de azúcar no se ha considerado teniendo en cuenta que es el productos final de interés para su transformación a biocombustible (Lee & Park, 2016).

El carbón activado es un material que se ha utilizado como adsorbente para la remoción de compuestos inhibitorios, tales como furanos y compuestos fenólicos ya que presentan una hidrofobicidad mayor que los azúcares y ácidos carboxílicos alifáticos en hidrolizados lignocelulósicos. La desintoxicación de los hidrolizados de biomasa mediante adsorción con carbón activado, se ha limitado a la aplicación en sistemas de adsorción por lote. Muchos trabajos de adsorción por lote han documentado la pérdida de azúcar durante el tratamiento de desintoxicación. A pesar de estar relacionado con la dosis de carbón activado y la composición del hidrolizado, la pérdida de azúcar no ha sido considerada en la mayoría de los trabajos y aún no se han comenzado a desarrollar

investigaciones con un enfoque sistemático para reducir la pérdida de azúcar (Lee & Park, 2016).

## **2.7 Estudios relacionados con la remoción de compuestos inhibitorios**

Actualmente, existen pocos reportes basados en la remoción de compuestos que inhiben la producción de hidrógeno, y los materiales empleados para removerlos, sin embargo, basándose en este estudio, se puede concluir que en comparación con otros trabajos los resultados obtenidos son bastante prometedores, para llevar a cabo principalmente la remoción de compuestos fenólicos. En la tabla 9 podemos observar un comparativo de los resultados que se obtuvieron con lo que existe reportado actualmente.

En los pocos estudios realizados, se puede observar que la mayoría de ellos, no presentan especificaciones de su material adsorbente, además, las concentraciones iniciales empleadas son muy diferentes y elevadas, lo cual refleja sus buenas capacidad de remoción.

Tabla 4. Estudios relacionados con la remoción de compuestos inhibitorios.

<b>Autores</b>	<b>Material Adsorbente</b>	<b>C<sub>o</sub></b>	<b>Q<sub>max</sub>A</b>	<b>Q<sub>max</sub>B</b>	<b>Q<sub>max</sub>C</b>	<b>% Rem de AT</b>
<i>Soleimani et al. (2014)</i>	CA Madera	A = 3 g/L B = 0.48 g/L C = 28.1 g/L	329 ppm	211 ppm	18.8 ppm	NR
<i>Lee and park (2016)</i>	CA en Polvo	A = 0.44 g/L B = 6.0 g/L C = 9.8 g/L	287 mg/g	225 mg/g	287 mg/g	9 – 19%
<i>Villareal, M.L, et al. (2006)</i>	CA en Polvo	A = 2.23 g/L B = 0.26 g/L C = 3.41 g/L	79.1 %	100%	4.4 %	30%
<i>Aviña, I. (2018)</i>	CA F-400	A, B y C = 0.1 g/L	1.02 mmol/g	0.37 mmol/g	0.28 mmol/g	0.53 mmg/g
CA: carbón activado, Co: Concentración inicial, A: Compuestos Fenólicos, B: Furfurales, C: Ácido Acético, Q <sub>max</sub> : Capacidad máxima de adsorción, AT: Azúcares Totales, NR: no reportado						

Uno de los puntos importantes es la remoción de azúcares totales que va de la mano con la de los compuestos que inhiben la producción de hidrógeno. Comparando resultados, podemos observar que en dos de los estudios reportados en la Tabla 9 la remoción es muy elevada, alcanzando 19 y 30%, y en otro estudio no fue reportada, lo cual es una ventaja porque en este estudio se alcanzó una remoción de 0.53 mg/g utilizando concentraciones iniciales semejantes (~ 20 g/L). Los resultados obtenidos en capacidades máximas de adsorción en este estudio son muy prometedores en comparación con los ya reportados, ya que el hidrolizado modelo se asemeja más a un hidrolizado real.

## **2.8 Definición de adsorción**

El proceso de adsorción surge como el resultado de las fuerzas moleculares insaturadas y en desequilibrio que están presentes en determinada superficie sólida. Por lo tanto, cuando una superficie sólida es puesta en contacto con un líquido, se presenta una interacción entre los campos de fuerzas de la superficie y la del líquido. La superficie sólida tiende a satisfacer estas fuerzas residuales atrayendo y reteniendo en su superficie las moléculas, átomos o iones del líquido. Esto da como resultado una mayor concentración del líquido en la superficie sólida que en la fase acuosa. El proceso por el que se produce este fenómeno en una superficie sólida se denomina adsorción (Bansal & Goyal, 2005).

La adsorción implica dos tipos de fuerzas que dan lugar a la interacción entre un adsorbente y un adsorbato: fuerzas físicas, que pueden ser momentos dipolares, fuerzas de polarización, fuerzas dispersivas o interacciones repulsivas de corto alcance; y fuerzas químicas, a través de enlaces químicos entre la superficie sólida y los átomos adsorbidos (Bansal & Goyal, 2005).

Dependiendo de la naturaleza de las fuerzas involucradas, la adsorción es de dos tipos: fisisorción (adsorción física) o quimisorción (adsorción química). En el caso de la fisisorción, el adsorbato se une a la superficie por fuerzas de Van der Waals relativamente débiles, que son similares a las fuerzas moleculares de cohesión. La quimisorción, por otro lado, implica el intercambio de electrones entre las moléculas de adsorbato y la superficie del adsorbente que da como resultado una reacción química. El enlace covalente formado entre el adsorbato y el adsorbente es esencialmente mucho más fuerte que la interacción en la fisisorción (Bansal & Goyal, 2005).

## **2.8 Equilibrio de adsorción**

La isoterma de adsorción es el método más ampliamente utilizado para representar los estados de equilibrio de un sistema de adsorción. Puede

proporcionar información útil sobre el adsorbato, el adsorbente y el proceso de adsorción. Ayuda en la determinación del área superficial del adsorbente, el volumen de los poros y su distribución de tamaños, etc. Varias ecuaciones de isothermas de adsorción se han derivado, dentro de las cuales destacan las ecuaciones de Langmuir, Freundlich, Brunauer-Emmett-Teller (BET). Estas tres ecuaciones son muy importantes en los procesos de quimisorción y fisisorción (Bansal & Goyal, 2005).

La isoterma de adsorción es determinada en un volumen determinado de solución, con una cantidad de adsorbato conocida y varias dosis de adsorbente. Otra manera de llevar a cabo esta determinación es: a un volumen determinado colocar una cantidad definida de adsorbente y variar la concentración de adsorbato. En cualquiera de los dos casos la fase acuosa del adsorbato es medida hasta alcanzar el equilibrio, esto es posible mediante el siguiente balance de masa:

$$q_e = \frac{V(C_o - C_e)}{m} \quad \text{ec. 1}$$

Dónde  $q_e$  = capacidad de adsorción del soluto (mg de adsorbato /g de adsorbente),  $C_o$  = concentración inicial del adsorbato (mg/L),  $C_e$  = concentración en el equilibrio del adsorbato (mg/L),  $m$  = masa del adsorbente (g) y  $V$  = volumen utilizado en el sistema (L).

Las ecuaciones desarrolladas por Langmuir, Freundlich y BET se utilizan para describir la capacidad de los adsorbentes en el equilibrio, (Crittenden & Montgomery Watson Harza, 2012).

### **2.8.1 Modelo de Langmuir**

La ecuación de la isoterma de Langmuir es la primera isoterma de adsorción desarrollada teóricamente. Esta es importante en fisisorción, así como en las teorías de quimisorción. Además, se ha derivado usando enfoques

termodinámicos y estadísticos. El científico estadounidense I. Langmuir derivó esta ecuación en base a ciertas suposiciones, dentro de las cuales se encuentran:

- Los adsorbatos (átomos o moléculas o iones) se unen a la superficie en sitios localizados definidos.
- Cada sitio tiene capacidad para una y solo una entidad adsorbida (formación de monocapa).
- El estado de energía de cada entidad adsorbida es el mismo en todos los sitios en la superficie, independientemente de la presencia o ausencia de otras entidades adsorbidas en sitios vecinos. Por lo tanto, el modelo de Langmuir (también llamado modelo localizado) supone que la superficie es perfectamente lisa y homogénea y que las interacciones laterales entre las entidades adsorbidas son insignificantes, (Bansal & Goyal, 2005).

Generalmente la ecuación de Langmuir es usada cuando la tasa de adsorción es proporcional a la concentración del soluto en el líquido, así como a la fracción de los sitios vacantes. Sin embargo en la mayoría de los casos es preferible trabajar en términos de capacidad de adsorción ( $q$ ), que representa la cantidad de soluto adsorbido por unidad de masa, en este sentido la ecuación de Langmuir se expresa en la ecuación 2 (Crittenden & Montgomery Watson Harza, 2012):

$$q = \frac{q_m b C_e}{1 + b C_e} \quad \text{ec. 2}$$

Donde  $q$  = capacidad de adsorción del soluto (mg de adsorbato /g de adsorbente),  $C_e$  = concentración en equilibrio del adsorbato en solución (mg/L),  $q_m$  = concentración de las especies adsorbidas en la superficie cuando se forma la capa molecular, cuando la superficie del adsorbente esta satura por el adsorbato (mg de adsorbente/ g de adsorbente),  $b$  = constante de adsorción de Langmuir (L/mg) (Crittenden & Montgomery Watson Harza, 2012).



## 2.8.2 Modelo de Freundlich

La isoterma de adsorción de Freundlich, originalmente propuesta como una ecuación empírica, se usa para describir los datos de adsorbentes heterogéneos, donde no se considera la formación de una monocapa únicamente y donde la energía de los sitios activos es de un tipo exponencial (Crittenden & Montgomery Watson Harza, 2012), esta relación es descrita por la ecuación 3:

$$q = kC_e^{\frac{1}{n}} \quad \text{ec. 3}$$

Donde  $q$  = capacidad de adsorción del soluto (mg de adsorbato /g de adsorbente),  $C_e$  = concentración en equilibrio del adsorbato en solución (mg/L),  $k$  es la capacidad de adsorción de Freundlich (mg/g) (L/mg)<sup>1/n</sup> y  $1/n$  es el parámetro de la intensidad de adsorción de Freundlich.

## 2.9. Materiales Adsorbentes

Existe una gran variedad de materiales adsorbentes empleados para la remoción de compuestos orgánicos como: carbones activados, resinas, minerales, y residuos industriales agrícolas (Soto, Moure, Domínguez, & Parajó, 2011). Se han empleado varias tecnologías para eliminar compuestos inhibidores de hidrolizados lignocelulósicos, en donde el tratamiento con carbón activado y las resinas de intercambio iónico eliminan eficazmente los inhibidores y puede conducir a hidrolizados que muestran un rendimiento de fermentación elevado (Ranjan et al., 2009).

### 2.9.1. Estructura física y química del carbón activado

Los carbones activados son materiales porosos cuyo tamaño va desde menos de un nanómetro hasta varios miles de nanómetros. La Unión Internacional de Química

Pura y Aplicada (IUPAC) clasifica a los carbones basándose en los poro, que se representa mediante la distancia entre las paredes de un poro en forma de hendidura o el radio de un poro cilíndrico (Bansal & Goyal, 2005). Los poros se dividen en tres grupos: microporos, mesoporos (poros transicionales) y los macroporos, (Bansal & Goyal, 2005).

Los microporos tienen dimensiones moleculares, siendo los radios efectivos menores de 2 nm. La adsorción en estos poros ocurre a través del llenado de volumen, y no hay condensación capilar presente. Tienen un volumen de poro de 0.15 a 0.70 cm<sup>3</sup>/g. Su área de superficie específica constituye aproximadamente el 95% de la superficie total del carbón activado. La estructura microporosa puede subdividirse en dos estructuras microporosas superpuestas que implican ultramicroporos con radios de poro efectivos menores de 0.6 a 0.7 nm y los supermicroporos que muestran radios de 0.7 a 2 nm aproximadamente. Los mesoporos, también llamados poros transicionales, tienen dimensiones efectivas en el intervalo de 2 a 50 nm, y su volumen generalmente varía entre 0.1 y 0.2 cm<sup>3</sup>/g. El área superficial de estos poros no supera el 5% del área superficial total del carbono. Los macroporos no son de una importancia considerable para el proceso de adsorción en los carbones activados porque su contribución al área superficial del adsorbente es muy pequeña y no excede de 0.5 m<sup>2</sup>/g. Tienen radios efectivos mayores a 50 nm, y frecuentemente en el intervalo de 500 a 2000 nm, con un volumen de poro entre 0.2 y 0.4 cm<sup>3</sup>/g. Los poros actúan como canales de transporte para el adsorbato en los micro y mesoporos (Bansal & Goyal, 2005).

Se ha dirigido una cantidad considerable de esfuerzo para identificar y estimar los grupos superficiales de carbón-oxígeno (o grupos funcionales) usando varias técnicas físicas, químicas y fisicoquímicas que incluyen, neutralización con álcalis, titulaciones potenciométricas, termométricas y radiométricas, y métodos espectroscópicos tales como espectroscopía infrarroja (IR) y espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (Bansal & Goyal, 2005).

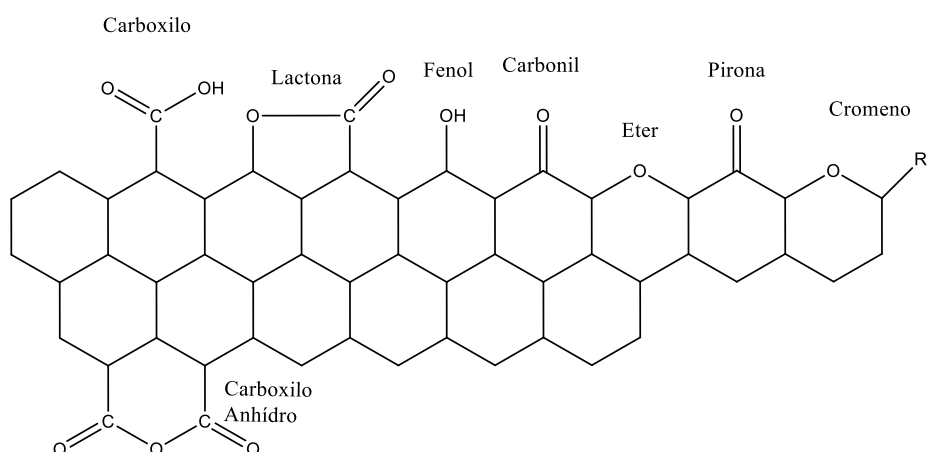


Figura 5. Estructura del carbón activado con grupos funcionales oxigenados en la superficie. (Marsh & Rodríguez-Reinoso, 2006)

Se presenta varias estructuras de grupos funcionales de oxígeno que podrían encontrarse en los bordes de las láminas grafiticas (Figura 5). Los grupos presentes se observan por separado en la Figura 6, como los son los carboxilos (a) que pueden dar lugar a carboxílicos anhídridos (b) si son vecinos inmediatos. En vecindad cercana a grupos hidroxilo o grupos carboxilo, los grupos carbonilo pueden condensarse a grupos lactona (c) o formar lactols (d). Los grupos de tipo hidroxilo simple (e) en el borde de las capas "aromáticas" serían de carácter fenólico. La existencia de grupos carbonilo es muy plausible; pueden estar aislados (f) u organizados en forma de quinona (g). Finalmente, el oxígeno de grupo éter podría simplemente ser sustituido por los átomos de carbono del borde (h); tal oxígeno de tipo éter es muy difícil de detectar, (Boehm, 1994).

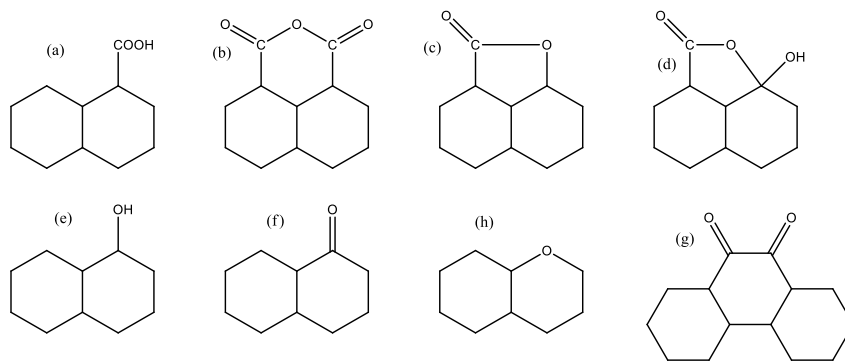


Figura 6. Posibles grupos funcionales presentes en las superficies del carbón activado (Boehm, 1994).

### **3. Justificación**

Existe una pérdida considerable en la producción de biohidrógeno derivado de la fermentación de hidrolizados de materia lignocelulósica, que es causada por la presencia de compuestos inhibitorios, resultantes de la degradación de lignina, de algunas pentosas, y hexosas: Estos inhibidores tienen un cierto grado de toxicidad para los microorganismos que realizan la fermentación oscura.

El proceso de adsorción con materiales a base de carbono puede ser una alternativa eficiente para remover los compuestos inhibitorios presentes en el hidrolizado del pretratamiento, por lo que los carbones activados comerciales podrían adsorber preferentemente los compuestos inhibitorios, considerando su similitud del tamaño de microporos con el diámetro de dichos compuestos, además de la química superficial de estos adsorbentes. Lo anterior podría evitar la adsorción de los azúcares fermentables presentes en el hidrolizado.

#### **4. Hipótesis**

La similitud entre el diámetro de las moléculas que inhiben la fermentación de hidrolizados en la producción de hidrógeno y el diámetro de poro de los carbones activados comerciales propuestos, permitirán la remoción de estos compuestos de una manera eficiente y hasta cierto punto selectiva, aunado a las propiedades químicas de los carbones activados, evitando la remoción de los azúcares fermentables. Además, de acuerdo a los mecanismos de adsorción previstos, la adsorción de compuesto inhibidores será reversible.

## 5. Objetivos

### 5.1. Objetivos generales

- Remover eficientemente los cinco compuestos inhibidores más tóxicos presentes en un hidrolizado modelo con carbones activados comerciales.

### 5.2. Objetivos específicos

- Evaluar las características específicas (área específica, capacidad de adsorción, distribución de carga, diámetro de poro, etc.) de los distintos materiales a base de carbón, de manera que se pueda seleccionar el o los más adecuados.
- Determinar las capacidades de adsorción de cuatro materiales carbonosos, en un hidrolizado modelo para evaluar la factibilidad de su aplicación en remoción de inhibidores.
- Determinar las capacidades máximas de remoción ( $Q_{max}$ ) de los compuestos inhibitorios presentes en mezcla en el hidrolizado modelo sobre los materiales a base de carbón que presenten las mejores propiedades.
- Evaluar la velocidad de remoción (cinética) de los compuestos inhibitorios presentes en un hidrolizado modelo con el carbón activado que presente las mejores características (físicas y químicas).
- Evaluar el efecto del pH (4, 5, 6, 7 y 8) en la capacidad de adsorción de inhibidores presentes en un hidrolizado modelo con un carbón activado.
- Determinar la capacidad de remoción de fenoles totales de un hidrolizado real (clarificado), además determinar la concentración de azúcares totales removida.
- Realizar un estudio de adsorción-desorción de un hidrolizado real y un hidrolizado modelo para determinar el grado de reversibilidad del proceso de adsorción de los compuestos inhibitorios.

## 6. Materiales y Métodos

### 6.1 Materiales

Los Reactivos fueron obtenidos de Sigma-Aldrich con las siguientes características: 5-hidroximetilfurfural 99.5% en presentación de 100 mg, Furfural 99% en presentación de 500 ml, vainillina 99% en 500g, siringaldehído 98% en presentación de 26 g, ácido acético 99.7% en una presentación de 100 ml, además de D-(+)-Glucosa 99.5 % en presentación de 100 g. En el caso de los materiales adsorbentes se eligieron cuatro carbones activados: carbón activado F-400 de origen bituminoso marca CALGON; fibra de carbón activado (FCA) a base de poliacrilonitrilo AW1105 de KoTHmex (Taichung, Taiwán) (Amézquita Héctor J., 2015); carbones activado de madera y de concha de coco, adquiridos de la empresa Clarimex.

Para el hidrolizado real se utilizó bagazo de *Agave tequilana* Weber variedad azul proporcionado por la tequilera Casa Herradura ubicada en Amatitlán, Jalisco. Los reactivos para obtener el hidrolizado, fueron HCl al 37.1%, ácido gálico de 97.5 a 102.5 % en un presentación de 100g, reactivo Folin Ciocalteu en presentación de 125 ml, y carbonato de sodio al 99% en presentación de 500g.

### 6.2 Métodos

#### 6.2.1 Modelación de adsorbatos

Las moléculas inhibitorias (Furfural, 5-HMF, Vainillina, Siringaldehído y Ácido Acético) así como los azúcares (Glucosa y Xilosa) fueron modeladas en el programa VEGA ZZ 3.1.1 - (c) 1996-2017 (Alessandro Pedretti & Giulio Vistoli Virtual logP by Bernard Testa et al.) para determinar las dimensiones físicas (diámetro superficial y el diámetro volumétrico) en un estado de solvatación.



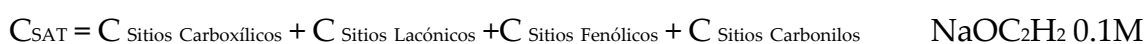
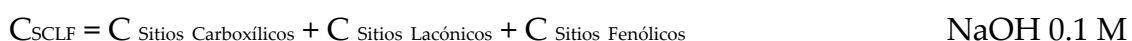
## 6.2.2 Caracterización de los carbones activados usados.

### 6.2.2.1 Determinación de área específica y distribución del tamaño de poros de los carbones activados.

El área específica y la distribución del tamaño de poros en los cuatro carbones activados que se utilizaron en los experimentos (F-400, FCA, madera y concha de coco) fueron determinados mediante un proceso de adsorción - desorción de N<sub>2</sub> a 77 K utilizando el analizador ASAP 2020 Micrometrics. Para determinar el área específica se utilizó la ecuación de BET (Brunauer-Emmet-Teller), además la distribución de tamaño de poros se obtuvo mediante cálculos de la teoría funcional de la densidad (DFT).

### 6.2.2.3 Determinación de grupos funcionales oxigenados en la superficie de los carbones activados (Titulaciones Boehm)

La titulación Boehm es una técnica utilizada para determinar los sitios activos de los carbones activados, este método se basa en titulaciones ácido-base en donde se utilizan cuatro tipos de soluciones que neutralizan cada uno de los sitios activos (Boehm, 1994), cuya concentración de estos se calcula como se muestra a continuación:



Para cada carbón activado la determinación de sitios activos se llevó a cabo de la siguiente manera: se pesaron 0.100 g de cada uno de los carbones y se les añadió 25 ml de la solución neutralizante, cada muestra se colocó en tubos falcón de 50

ml y se dejaron en agitación constante durante 5 días a 125 rpm. Posterior a los 5 días, las muestras se centrifugaron a 3200 rpm y se tomaron 20 ml del sobrenadante que fueron titulados con HCl 0.1M en la tituladora automática MT P70. La concentración de los sitios activos en cada carbón activado se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$C_{SA} = \frac{V_m (C_{in} - C_f)}{m} \times 100 \quad \text{ec. 4}$$

Donde  $C_{SA}$  es la concentración de sitios activos (meq /g),  $V_m$  es igual al volumen inicial de la solución neutralizante (L),  $C_{in}$  corresponde a la concentración inicial de la solución neutralizante (eq/L),  $C_f$  es la concentración final de la solución neutralizante (eq/L),  $m$  es igual a la masa del material adsorbente en gramos.

Para obtener la concentración final ( $C_f$ ) de la solución a neutralizar se utilizaron los datos de titulación y la ecuación siguiente:

$$C_f = \frac{(V_T)(C_T)}{V_m} \quad \text{ec. 5}$$

Donde  $V_T$  es el volumen utilizado de la solución titulante en ml,  $C_T$  corresponde a la concentración de la solución titulante (eq/L), y  $V_m$  es igual al volumen de la muestra de la solución neutralizante (ml).

#### **6.2.2.4 Distribución de carga superficial de los carbones activados**

Para la determinación de la distribución de carga superficial y el punto de carga cero (PCC) de los cuatro materiales adsorbentes, se realizó la siguiente metodología: se pesó 0.100g de cada CA en un vaso de 100 ml para la tituladora automática Mettler Toledo P70 (MT P70). Posteriormente se adicionaron 50 ml de una solución electrolítica de NaCl 0.1N y se llevaron a un proceso de agitación por un periodo aproximado de 12 horas, esto para alcanzar el equilibrio. Trascorrida las 12 horas se realizó un ajuste de pH a 3 con HCl 0.1M, seguido de un desplazamiento de CO<sub>2</sub> mediante una gasificación con N<sub>2</sub> durante 5 min.

Finalmente, se tituló con NaOH 0.1M y se realizó el análisis de datos y la distribución de pKa's con el software SAEIUS-pK-dist program © 1994 Jacek Jagiello

### 6.2.3 Evaluación de la capacidad de adsorción

Se llevó a cabo un estudio de adsorción de los compuestos inhibitorios en los materiales carbonosos en los siguientes escenarios:

- En el primero, se colocó en frascos de vidrio color ámbar una masa de 11.25 mg de cada uno de los CA con 15 ml de los inhibidores (5-hidroximetilfurfural, furfural, vainillina, siringaldehído y ácido acético) a una concentración inicial de 100 ppm. Cada experimento se llevó a cabo de manera separada y por triplicado en agua desionizada.
- En el segundo caso, se sustituyó el agua desionizada por una solución de glucosa a 20 g/L (concentración que en promedio se encuentra en los hidrolizados reales).
- En el tercer caso, se mezclaron los inhibidores en presencia de glucosa a las mismas concentraciones, y se contactaron con cada carbón activado. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Los tres experimentos se mantuvieron en agitación constante a 125 rpm a una temperatura de 25 °C en una incubadora orbital INO 650V-7 (ESEVE), y se ajustó el pH a 5 con HCl o NaOH 0.1M hasta alcanzara el equilibrio, para finalmente filtrar las muestras con filtros de nitrocelulosa de 0.22 µm y analizar los compuestos residuales en HPLC (Infinity 1200 Agilent Series).

Los resultados obtenidos de HPLC se utilizaron para calcular la capacidad de adsorción de los adsorbentes mediante un balance de masas representado por la ec. 1. Además, se evaluó la capacidad de remoción de azúcares totales en un hidrolizado modelo, con las mismas características antes mencionadas

(Concentración de glucosa 20 g/L, pH = 5, T = 25 °C). Las muestras fueron analizadas mediante una técnica colorimétrica para la determinación de azúcares según Dubois et al, 1956., en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 490 nm.

#### **6.2.4 Isotermas de Adsorción**

Las isotermas de adsorción se determinaron para dos tipos de carbón activado (F-400 y FCA), en mezcla y en presencia de glucosa, cuya metodología fue: poner en contacto diferentes concentraciones de los inhibidores (5-hidroximetilfurfural, furfural, vainillina, siringaldehído y ácido acético), desde 0.2 mmol/L hasta 1.6 mmol/L, con una masa fija (11.25 mg) de los dos materiales adsorbentes en frascos de vidrio color ámbar a 25 °C hasta alcanzar el equilibrio. Posteriormente los compuestos residuales fueron separados con filtros de nitrocelulosa de 0.22  $\mu\text{m}$  para poder ser analizados mediante HPLC (Infinity 1200 Angilent Series). Los valores obtenidos fueron ajustados a los modelos de Langmuir (ec. 2) y Freundlich (ec. 3) mediante el programa de STATISTICA 10.0 para determinar el modelo que mejor ajusta los datos experimentales.

#### **6.2.5 Cinéticas de Adsorción**

Para el estudio de la velocidad de remoción se preparó una mezcla a una concentración de 1.0 mmol/L de cada inhibidor (5-hidroximetilfurfural, furfural, vainillina, siringaldehído y ácido acético) y en presencia de 20 g/L de glucosa. Seguido de esto, se adicionaron 15 ml de la solución preparada a 13 frascos de vidrio de 20 ml con 11.25 mg del material adsorbente (F-400) en cada uno, se estableció una temperatura de 25 °C y con una agitación de 125 rpm en una incubadora orbital INO 650V-7 ESEVE. Las muestras se tomaron a diferentes

tiempos (5, 10, 20, 40, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, y 300 min), y se filtraron (0.22  $\mu\text{m}$ ) antes de analizarse en HPLC (Infinity 1200 Angilent Series).

### **6.2.6 Efecto del pH**

Para evaluar el efecto de pH en el proceso de adsorción, se prosiguió de la siguiente manera: se prepararon hidrolizados modelo (5) con los cinco inhibidores a una concentración de 1 mmol/L, en presencia de 20 g/L de glucosa. Se tomaron alícuotas de 15 ml y se pusieron en contacto con una masa predeterminada (11.25 mg) de carbón activado (F-400), se les ajustó el pH a 3, 4, 6, 7 y 8, y las muestras se colocaron en una incubadora orbital INO 650V-7 ESEVE a 125 rpm y a 25 °C hasta que se alcanzó el equilibrio. Se ajustó el pH con HCl o NaOH 0.1N según fuera necesario. Los experimentos fueron realizados por triplicado con su respectivo control, y las muestras filtradas (0.22  $\mu\text{m}$ ) se analizaron en HPLC (Infinity 1200 Angilent Series).

### **6.2.7 Capacidad de adsorción de los inhibidores con carbón activado en un hidrolizado real clarificado**

#### **6.2.7.1 Hidrolizado real**

Para obtener el hidrolizado real, el bagazo se trituró y lavó, posteriormente se puso a secar al sol por un periodo de una semana. Cuando está listo, se prepara una solución 5% w/v de bagazo de la siguiente manera: se colocan 20 g de bagazo de agave en frascos de vidrio schott de 200 ml y se le añade HCl al 2.7 %, se colocan en una estufa a 125°C por un periodo de 1 hora y 30 min. El hidrolizado se filtra y centrifuga a 3500 rpm/10 min, finalmente se ajusta a pH 5 para poder manejarlo y cuantificar azúcares totales.

### **6.2.7.2 Cuantificación de azúcares totales e inhibidores**

Para evaluar la remoción de azúcares totales, se llevaron a cabo experimentos de adsorción de la siguiente manera, a una masa determinada de CA F-400 (11.25 mg) se le añadieron 15 ml del hidrolizado real y se sometieron a agitación en una incubadora orbital INO 650V-7 ESEVE a 125 rpm y a 25 °C, después de alcanzar el equilibrio se toma el sobrenadante para el análisis. La capacidad de remoción de azúcares totales en el hidrolizado real, se llevó a cabo mediante una técnica colorimétrica según lo propone Dubois et al, 1956., en un espectrofotómetro UV/Vis a una longitud de onda de 490 nm.

La cuantificación de los inhibidores, furfural y 5-HMF se llevó a cabo mediante HPLC (Infinity 1200 Angilent Series), mientras que los fenoles, como la vainillina y el siringaldehído, se determinó mediante la técnica colorimétrica de fenoles totales (Singleton, Orthofer, & Lamuela-Raventós, 1999), la cual nos menciona que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo Folin-Ciocalteu a un pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible para una determinación espectrofotométrica a una longitud de onda de 765 nm.

### **6.2.8 Adsorción-desorción de un hidrolizado modelo y uno real.**

En un frasco de vidrio ámbar se colocó una masa de CA F-400 a la cual se le añadió una cantidad de una solución que contenía 1 mmol/L de cada inhibidor y 20 g/L de glucosa, además se colocó un control de la solución, y ambos frascos permanecieron en un incubadora INO 650V-7 ESEVE a 125 rpm y a 25 °C: Se les estuvo ajustando el pH a 5 hasta que se alcanzó el equilibrio. Posteriormente se retiró el sobrenadante y el CA fue sometido a un solvente (etanol) para poder recuperar los compuestos inhibitorios que fueron adsorbidos en el material carbonoso. Las soluciones fueron filtradas, a través de filtros con una tamaño de poro de 0.22  $\mu\text{m}$  y analizadas en HPLC (Infinity 1200 Angilent Series).

## 7. Resultados y Discusión

### 7.1 Determinación de área específica y distribución del tamaño de poros

La determinación del área específica y la distribución del tamaño de poros de los carbones activados se llevó a cabo mediante isothermas de adsorción-desorción de  $N_2$  a 77 K, en donde los datos de la isoterma fueron ajustados mediante la ecuación BET y la teoría funcional de la densidad electrónica (DFT).

La Figura 7 muestra las isothermas de adsorción-desorción de los cuatro tipos de carbones activados, las cuales son isothermas tipo II, indicando que los materiales tienen microporos, mesoporos y macroporos en su estructura (Lowell y Shields, 1991). Con base a las formas que toman las cuatro curvas se puede deducir que los cuatro materiales poseen una alta microporosidad especialmente la FCA. Además, la histéresis que se forma en la desorción del material de concha de coco y FCA es muy similar a la curva de adsorción, a diferencia del material bituminoso y de madera, sin embargo, no presentan diferencias muy significativas. Por otro lado la Figura 8 demuestra que el carbón activado F-400 y la FCA presentan un mayor volumen de supermicroporos que los carbones de madera y de concha de coco, lo cual indica que presentarían una mayor área disponible para el proceso de adsorción. Como se observa en la Tabla 5 el diámetro de las moléculas inhibitorias es de aproximadamente 1nm, lo que equivale a 10 Å, por lo cual se espera que el proceso de difusión a través de los poros no sea un paso limitante en el proceso de adsorción

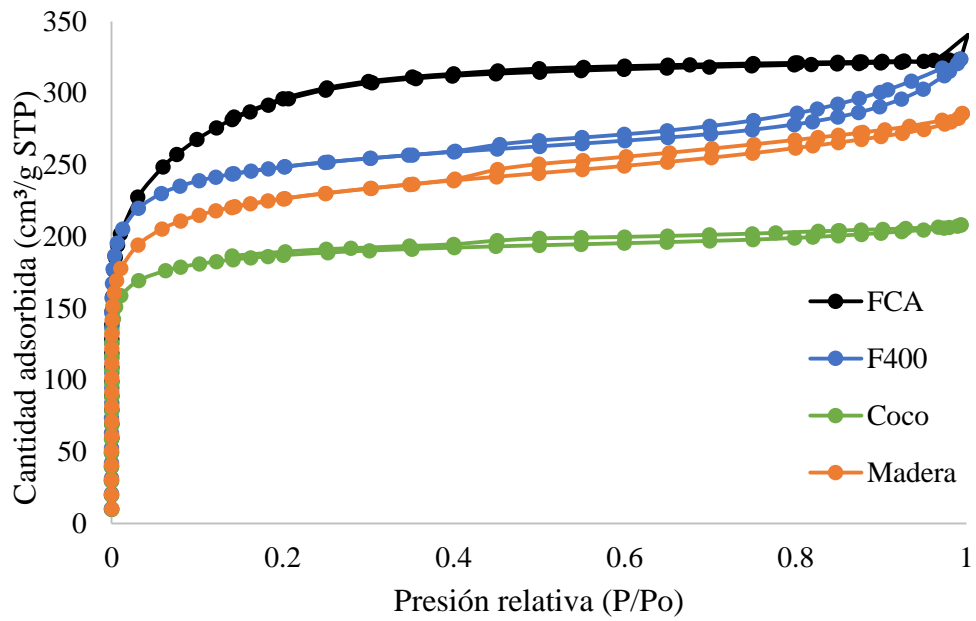


Figura 7. Isothermas de adsorción con  $N_2$  de los cuatro carbones activados.

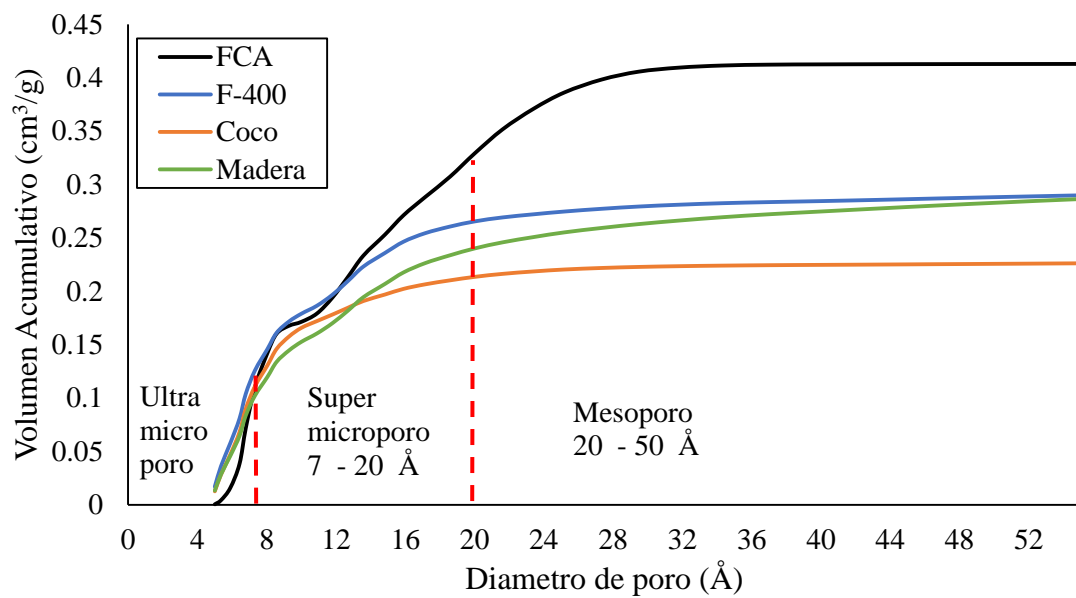


Figura 8. Distribución del tamaño de poros de los cuatro carbones activados.



La Figura 9 representa la distribución del tamaño de poros, en donde podemos observar la presencia de un pico muy pronunciado correspondiente a la FCA, lo cual indica la abundante presencia de ultramicroporos ( $< 7 \text{ \AA}$ ). El resto de los carbones activados presentan una menor cantidad de ultramicroporos, sin embargo, los cuatro carbones activados presentan una abundante presencia de supermicroporos (7-20  $\text{\AA}$ ), lo cual es favorable para que las moléculas inhibitorias difundan al interior del adsorbente.

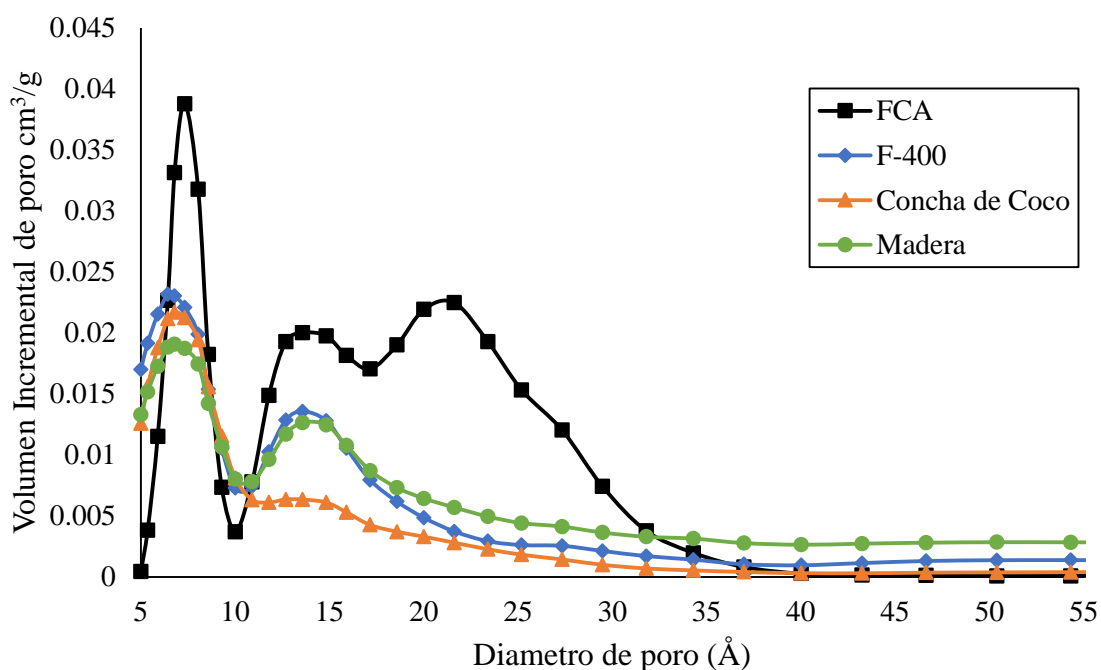


Figura 9. Volumen incremental contra distribución del tamaño de poro en los cuatro carbones activados.

Uno de los principales aspectos que se tomó en cuenta fue la distribución del tamaño de poro en los carbones activados. En la Tabla 4 se puede observar que el carbón activado que presenta mayor porcentaje de súper microporos es la FCA (52.8%), además, presenta la mayor área específica disponible (1065  $\text{m}^2/\text{g}$ ). El carbón activado de concha de coco tiene un 50.9 % de ultra microporos pero su

área específica es baja (592 m<sup>2</sup>/g), lo que representa menos área disponible para el proceso de adsorción. Sin embargo, en el caso del carbón activado F-400 a pesar de que no tiene una gran cantidad de súper microporos (36.2%), si tiene una considerable cantidad de ultra microporos, lo cual le confiere una alta área específica (939 m<sup>2</sup>/g) para llevar a cabo el proceso de adsorción. Por otro lado el carbón activado de madera posee bajos porcentajes de ultra y súper microporos, lo cual se ve reflejado en su poca área específica (Tabla 4).

Tabla 5. Área específica y distribución del volumen de poro en los cuatro carbones activados.

Muestra	m <sup>2</sup> /g	cm <sup>3</sup> /g Porcentaje			
	Área específica	Ultra micro < 7 Å	Súper micro 7-20 Å	Meso 20-50 Å	Macro > 50 Å
FCA	1065	0.1103	0.2188	0.0853	0.0003
	845.6*	26.6 %	52.8 %	20.6 %	0.1 %
F-400	939	0.1630	0.1394	0.0775	0.0056
	737.1*	42.3 %	36.2 %	20.1 %	1.5 %
Concha de coco	592	0.1309	0.1024	0.0235	0.0006
	536.9*	50.9 %	39.8 %	9.1 %	0.2 %
Madera	839	0.1307	0.1378	0.0821	0.0030
	637.6*	37 %	39 %	23.2 %	0.8 %

\* Área disponible correspondiente a los microporos

Aunado a esto, en la Tabla 5 podemos observar los diámetros volumétricos de las moléculas inhibidoras. Esta información es de utilidad para determinar si las moléculas problema son capaces de difundir en los ultra o súper microporos los cuales presentan un diámetro < 7 Å y 7 – 20 Å, respectivamente. El diámetro volumétrico de las moléculas inhibidoras no presentan una diferencia significativa respecto al de la glucosa (1.04 ± 0.03 nm), monómero utilizado en el hidrolizado modelo, por lo que este podría competir por sitios activos en el proceso de adsorción, ya que podría difundir de igual manera en el interior de los súper microporos. Relacionando la Tabla 5 y 6 podemos decir que la FCA y

F-400 son dos carbones con propiedades físicas adecuadas para que las moléculas de interés puedan adsorberse en los supermicroporos en grandes cantidades, debido a que ambos carbones poseen un área superficial mayor que la de los otros dos materiales, la cual radica en que la mayor parte de su superficie está compuesta de ultramicroporos y supermicroporos (ver Tabla 4).

Tabla 6. Diámetro volumétrico (DV) de las moléculas inhibidoras solvatadas y de los posibles carbohidratos en los hidrolizados.

<b>Moléculas</b>	<b>DV (nm)</b>
5-HMF	1.02
Furfural	1.01
Vainillina	1.03
Siringaldehído	1.04
Ácido Acético	1.01
Glucosa	1.04
Xilosa	1.03

## 7.2 Determinación de grupos funcionales de los carbones activados

Se llevó a cabo la caracterización de los cuatro materiales adsorbentes, mediante titulaciones Boehm. En la Tabla 6 podemos observar que los grupos carbonilos son lo que se encuentran en mayor concentración (0.53 a 1.98 meq/g), por lo que se esperaría que los cuatro materiales presenten un carácter más básico que ácido. También se puede observar que existe una presencia significativa de grupos fenólicos, aunque en menor proporción, los cuales podrían presentar interacciones con los compuestos inhibitorios.

Tabla 7. Grupos funcionales presentes en la superficie de los cuatro tipos de carbones activados.

Material	Carboxílicos	Lactónicos	Fenólicos	Carbonilos	Total meq/g
FCA	0.09	0.64	1.01	1.82	3.56
F-400	0.02	0.10	0.22	0.53	0.88
Concha de coco	0.04	0.05	0.19	1.28	1.56
Madera	0.01	0.02	0.12	1.98	2.14

### 7.3 Punto de carga cero (PCC)

La distribución de carga superficial reportada en la Figura 10 muestra los valores de puntos de carga cero (PCC) de los materiales, para el carbón activado de concha de coco fue de 9.2, para el material bituminoso (F-400) de 9.6, para el carbón activado de madera de 7, y 6.25 para la fibra de carbón activado, por lo cual es posible confirmar el carácter básico de los dos primeros carbones, mientras que los otros dos se encuentran alrededor de un pH neutro. Esto quiere decir que los 4 materiales tendrán una carga neta positiva en la superficie, debido a que los experimentos se llevaron a cabo a un pH 5. Esta condición facilita el proceso de adsorción de las moléculas inhibidoras, mediante interacciones de tipo  $\pi$ - $\pi$ , e incluso enlaces de tipo puente de hidrógeno, ya que como podemos observar en la Tabla 6 la mayoría de los carbones activados poseen una cantidad considerable de grupos funcionales oxigenados que pueden intervenir en la formación de puentes de hidrógeno.

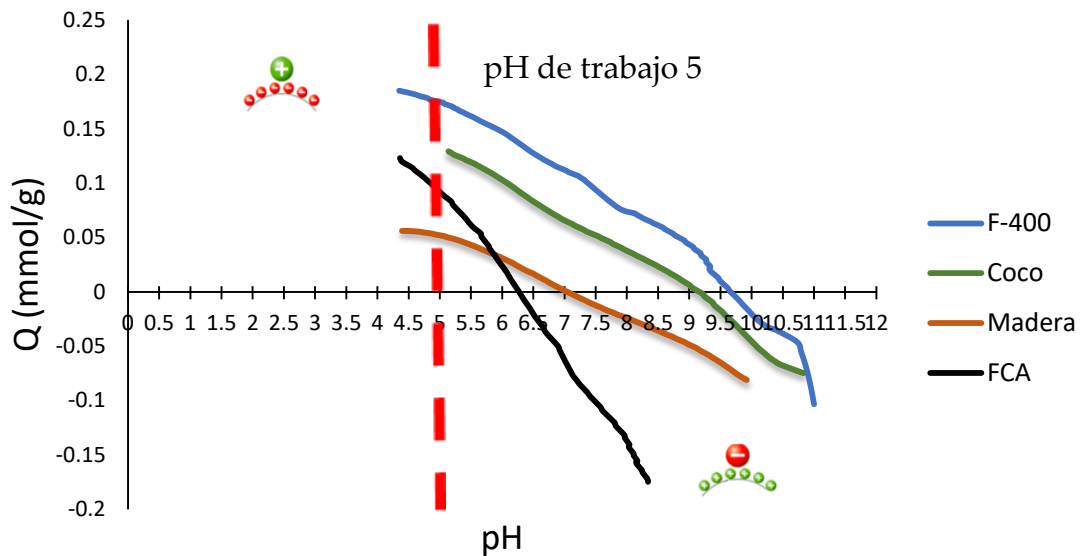


Figura 10. Distribución de carga de los cuatro carbones activados.

Cabe señalar que la concentración de grupos oxigenados reportada en la Tabla 6 coincide con la distribución de carga de los adsorbentes reportada en la Figura 10.

#### 7.4 Evaluación de la capacidad de adsorción.

Se llevaron a cabo experimentos de adsorción de los compuestos inhibitorios en cuatro tipos de carbones activados, en tres condiciones diferentes. En el primer caso (Figura 11), se realizaron experimentos con inhibidores individuales en agua desionizada. Podemos observar que todos los inhibidores presentan una buena afinidad por los cuatro tipos de CA, ya que se obtuvieron capacidades de adsorción que van de 40 a 130 mg/g. La FCA, presenta las mayores capacidades de adsorción (Anexo A, Tabla A.1), esto debido, a que presenta la mayor cantidad de súper microporos, los cuales tienen un diámetro que se asemejan al tamaño de diámetro volumétrico de las moléculas, y además es el que presento la mayor área específica, comparada con el resto de los adsorbentes (Tabla 4).

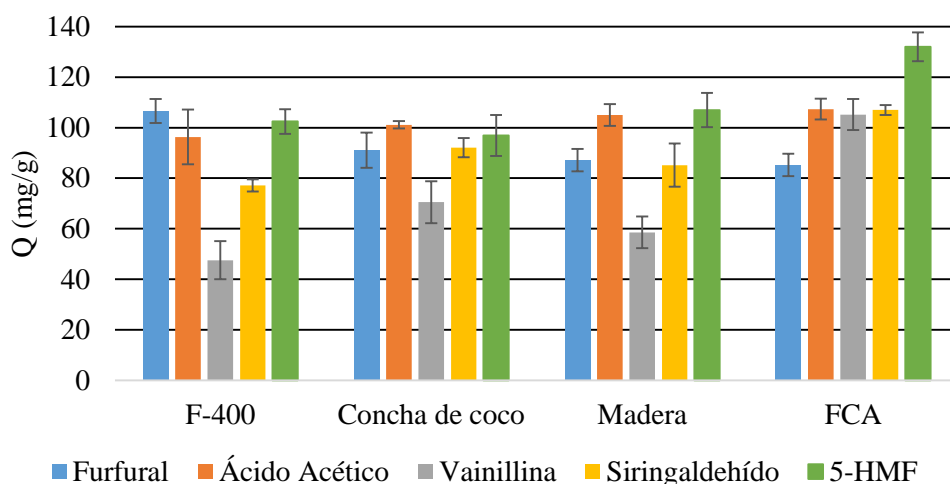


Figura 11. Capacidades de adsorción de los inhibidores individuales a una concentración inicial de 100 ppm en los cuatro tipos de carbones activados. T = 25 °C, pH = 5, en agua desionizada.

En el segundo caso, se llevaron a cabo los experimentos de adsorción de inhibidores individuales en una solución que contenía 20 g/L de glucosa, (Figura 12). Se observó que las capacidades de remoción disminuyeron en todos los caso. Por ejemplo, el furfural presentó la mayor reducción en capacidad de adsorción, de 85 mg/g a 17 mg/g. Estas reducciones podrían deberse a la presencia de la glucosa en la solución, ya que representa otro compuesto más que compite por los sitios activos disponibles para el proceso de adsorción. Los datos completos de las capacidades de adsorción de este caso se reportan en el anexo A (Tabla A.2). Por otro lado, la glucosa puede formar puentes de hidrógeno con el carbón activado, por lo que también podría estar ocupando sitios activos mediante estas interacciones. Además existe la posibilidad de que la glucosa interactione con los inhibidores. La Figura B.1 del espectro UV/Vis del 5-HMF mostro que no existe formación de nuevas especies ya que no se observa ninguna variación en las bandas de absorbancia, razón por la cual no se muestra una elevada perdida en la capacidad de adsorción en la Figura 12 comparada con la Figura 11. Como se observa en la Figura B.2 del anexo B la absorbancia del furfural no presenta un variación en las bandas cuando se encuentra en presencia de agua desionizada o

en 20g/L de glucosa, por lo que la gran pérdida en la capacidades de adsorción podría atribuirse al coeficiente octano/H<sub>2</sub>O que tiene (-0.09), lo cual le confiere un carácter un poco más polar, provocando que este más en la solución acuosa que en la parte hidrófoba del carbón activado. Los compuestos fenólicos como la vainillina presenta una variación en la mayoría de sus bandas en el espectro UV/Vis (anexo B, Figura B3) por lo que se presenta una perdida en su capacidad de adsorción, sin embargo no es tan grande debido a que su coeficiente de partición es de 1.37 (carácter hidrófobo) y tiende a ser más afín al carbón activado por otro lado el siringaldehído presenta una tendencia similar a la vainillina debido a que tiene un coeficiente de partición de 1.31 y tendrá un carácter más hidrófobo, de igual manera en el espectro UV/Vis de la Figura B.4 se observa una variación en las bandas de absorbancias lo cual se ve reflejado en la pérdida de capacidad de adsorción aunque no es muy marcada por lo mencionado anteriormente. El ácido acético como se reporta en la Figura B.5 tiende a interaccionar con la glucosa debido a que puede presentar interacciones de tipo puente de hidrógeno mediante el grupo hidroxilo que posee en su estructura, razón por la cual presenta una de las principales reducciones en la capacidad de adsorción.

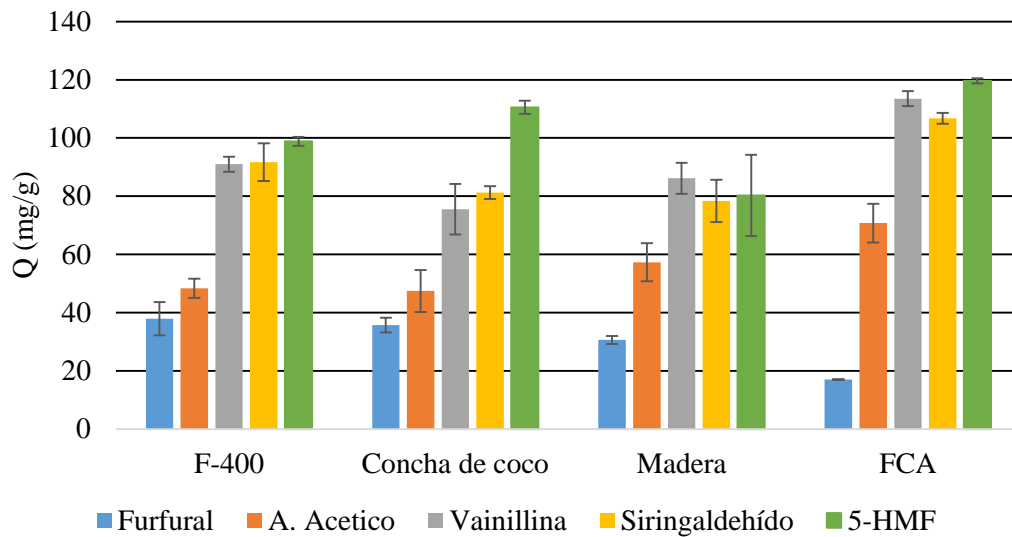


Figura 12. Capacidades de remoción de los inhibidores individuales a una concentración inicial de 100 ppm en los cuatro tipos de carbones activados. T = 25 °C, pH = 5, en 20 g/L de glucosa

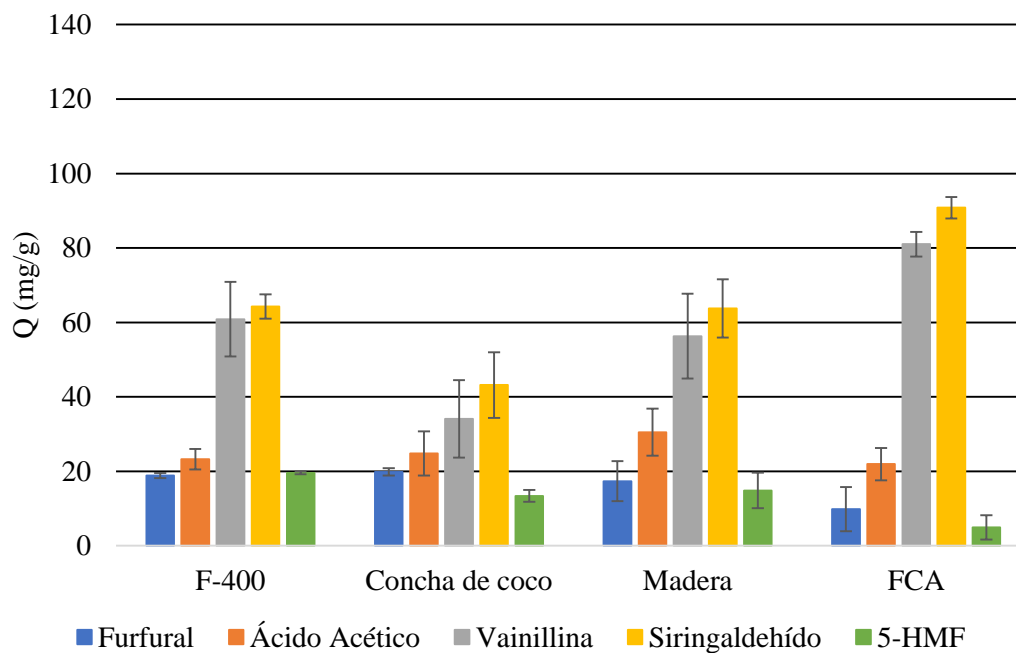


Figura 13. Capacidades de remoción de los inhibidores en mezcla a una concentración inicial de 100 ppm en los cuatro tipos de carbones activados. T = 25 °C, pH = 5, en 20 g/L de glucosa

Finalmente, se llevaron a cabo los experimentos de adsorción en mezcla con las mismas concentraciones iniciales de inhibidores y glucosa, 100 ppm y 20g/L



respectivamente. Como se observa en la Figura 13, las capacidades de adsorción disminuyeron considerablemente, principalmente la de los compuestos furánicos. El furfural y el 5-HMF fueron los más afectados, ya que presentaron remociones de 9.84 a 19.82 mg/g y de 4.93 a 19.58 mg/g, respectivamente. Esto se debe a que principalmente, como ya se mencionó, son compuestos hidrófilos principalmente el 5-HMF (Coef. Octanol/H<sub>2</sub>O = -0.09) y tienden a estar más en la solución de glucosa que tener alguna interacción con el material adsorbente que es hidrófobo. Por otra parte, los compuestos fenólicos a pesar de que presentan una reducción en su capacidad de adsorción, continúan removiéndose en elevadas concentraciones, entre 60.86 y 90.81 mg/g para vainillina y siringaldehído, respectivamente (Anexo A, Tabla A.3). Esto se debe a que los compuestos fenólicos presentan una hidrofobicidad mayor que los compuestos furánicos y el ácido acético. Aunado a esto, basándonos en la Figura 10 y al pH 5 de trabajo, los carbones se encuentran con una carga neta positiva, lo cual favorece el proceso de adsorción ya que los compuestos en cuestión tiene una densidad electrónica negativa debido al grupo aromático que poseen en su estructura, por lo que la adsorción en los materiales adsorbentes es mayor en comparación con los otros inhibidores. La reducción en las capacidades de adsorción de los inhibidores también se debe a la competencia entre todas las moléculas por ocupar los sitios activos en las superficie del carbón activado, en donde influye la hidrofobicidad de los compuestos, las interacciones que las moléculas tengan con el carbón activado, y las interacción que pueda ocurrir entre la glucosa y los compuestos inhibitorios.

Los furfurales a pesar de que son compuestos menos hidrófobos, presentan interacciones de tipo  $\pi$ - $\pi$  (Figura 14) con el carbón activado debido a la hibridación  $sp^2$  que poseen en su anillo.

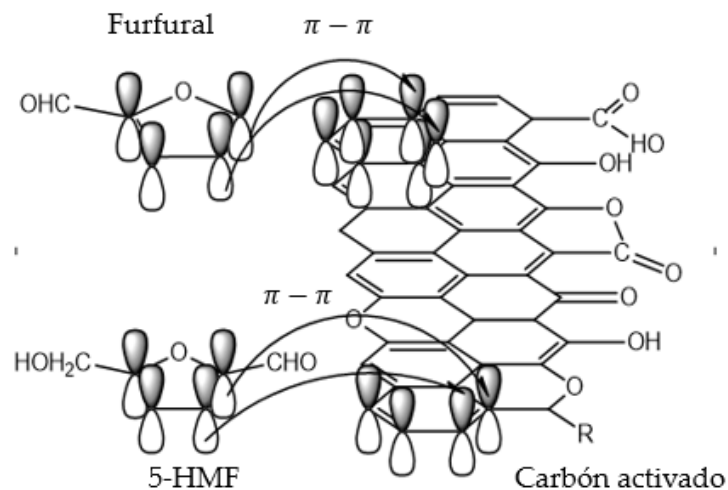


Figura 14. Interacciones entre los furfurales y el carbón activado, mediante interacciones de tipo  $\pi$ -  $\pi$ .

En el caso de los compuestos fenólicos, los más hidrófobos en la mezcla, pueden presentar una interacción de tipo  $\pi$ - $\pi$  con el carbón activado debido a los grupo aromático que presenta (Figura 15), además de interacciones de tipo puente de hidrógeno con el ácido acético debido a los grupos oxigenados que el carbón activado presenta en la superficie.

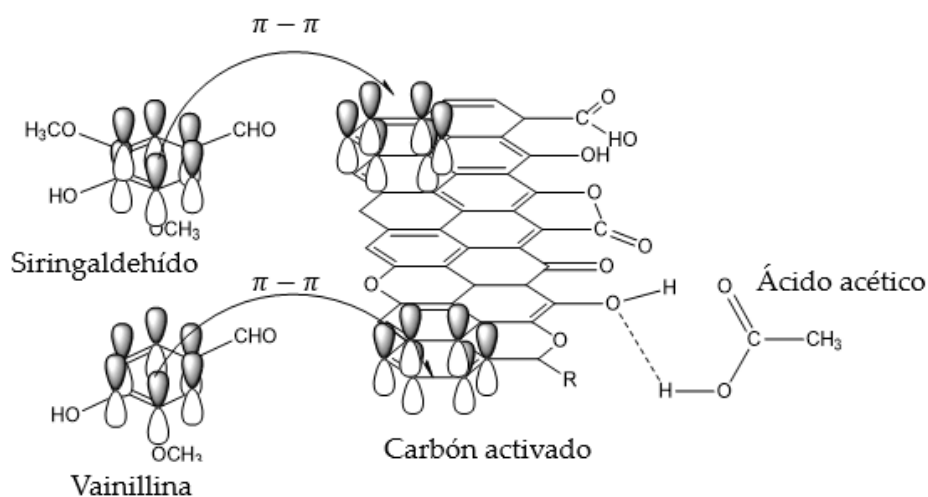


Figura 15. Interacciones entre el carbón activado, compuestos fenólicos y ácido acético.

Por otro lado, se llevó a cabo la evaluación de la capacidad de remoción de los azúcares totales de los diferentes carbones activados, esto para determinar si la glucosa se estaba removiendo en cantidades considerables debido a las altas concentraciones (20 g/L) que se colocaron en el hidrolizado modelo, teniendo en cuenta que los azúcares son los compuestos de utilidad para llevar a cabo la fermentación oscura para la producción del biohidrógeno. En la Figura 16 podemos observar que la capacidad de remoción máxima de la glucosa es muy baja, 1.97 mg/g, en comparación con la remoción total de los inhibidores que puede llegar a 210 mg/g. Es decir, la remoción de azúcares en el sistema es menor al 1%. Esto se puede atribuir a que la hidrofobicidad de los inhibidores principalmente los compuestos fenólicos es mayor debido a que tienen coeficientes de partición entre 1.31 y 1.37 otorgándoles este carácter, que por el contrario, la glucosa tiene un coeficiente de partición de -3.3 presentando un carácter más hidrofílico y evitando así la superficie del carbón activado que es más hidrófoba. La glucosa podría presentar interacciones tipo puente de hidrógeno con los carbones activados mientras que los compuestos furánicos y fenoles pueden además experimentar interacciones de tipo  $\pi$ - $\pi$ , lo cual favorecerá su remoción.

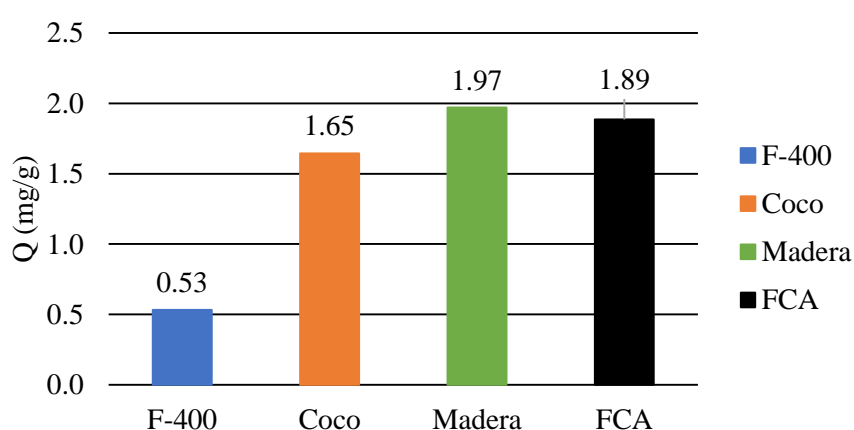
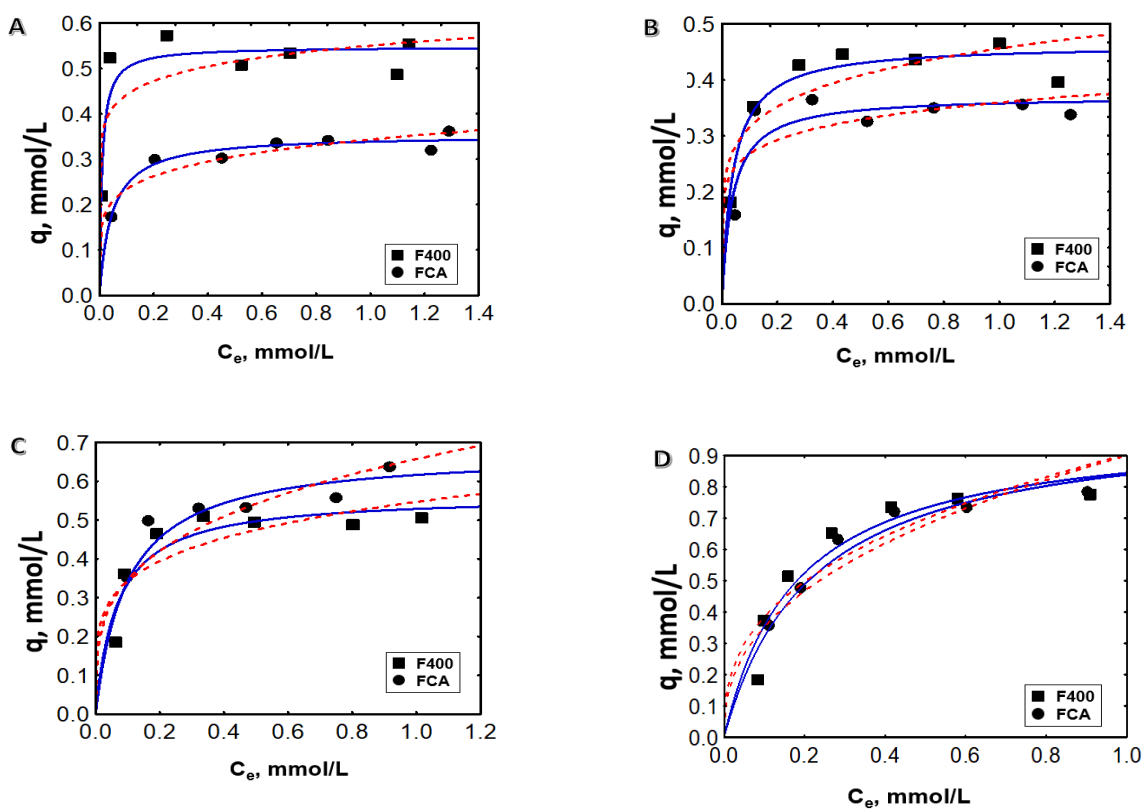


Figura 16. Capacidad de remoción de azúcares totales (glucosa), en un hidrolizado modelo con los cuatro tipos de carbón activado. T = 25 °C, pH = 5 y concentración inicial de 20g/L de glucosa.

Debido a las bajas remociones de azúcares, elevada área superficial, y contenido de supermicroporos, los carbones activados F-400 y FCA mostraron las mejores remociones de compuestos fenólicos, y además tienen las propiedades físicas adecuadas para usarse en sistemas en continuo. Por este motivo estos carbones activados fueron seleccionados para continuar con los siguientes estudios.

### 7.5 Isotermas de Adsorción

Se determinaron las isotermas de adsorción para los 5 inhibidores (Figura 17) y se ajustaron con los modelos matemáticos de Langmuir y Freundlich.



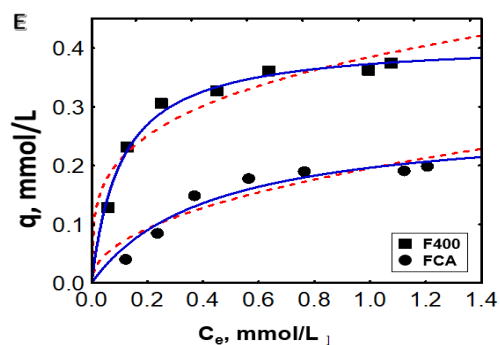


Figura 17. Isothermas de adsorción de 5-HMF (A), Furfural (B), Vainillina (C), Siringaldehído (D) y Ácido acético (E) sobre carbones activados F-400 y FCA en 20 g/L de glucosa. Los datos fueron ajustados con dos modelos matemáticos:

Langmuir (—) y Freundlich (---).

En todos los casos el modelo que mejor se ajustó a los datos experimentales fue el de Langmuir. Los parámetros y coeficientes de correlación se resumen en la Tabla 7. Lee y Park en 2016 demostraron que para los compuestos fenólicos y furanos, el modelo de Freundlich era el que mejor ajustaba a sus datos experimental con coeficientes de correlación de ( $R^2$ ) 0.96 a 0.98, y reportaron una mayor selectividad por parte de los compuesto fenólicos, sin embargo esto se presta a discusión ya que las concentraciones que utilizaron no fueron equimolares en la solución, unas se encuentran en mayor concentración que otras.

Tabla 8. Parámetros de las isothermas de adsorción de Langmuir y Freundlich para los inhibidores en los carbones activados F-400 y FCA.

Material Adsorbente	Inhibidor	Langmuir			Freundlich		
		$b^a$ (l/mmol)	$Q_{max}^*$ (mmol/g)	$R^2$	$K^b$	$n^c$	$R^2$
F-400	5-HMF	21.9	0.35	0.97	0.34	0.17	0.91
	Furfural	26.8	0.37	0.85	0.35	0.13	0.67
	Vainillina	10.1	0.68	0.95	0.65	0.29	0.9
	Siringaldehído	4.5	1.02	0.97	0.9	0.41	0.92
	Ácido Acético	2.3	0.28	0.96	0.19	0.43	0.91
FCA	5-HMF	106.3	0.54	0.90	0.55	0.09	0.69
	Furfural	25.3	0.46	0.96	0.46	0.16	0.82
	Vainillina	14.7	0.56	0.91	0.55	0.2	0.8
	Siringaldehído	5.57	0.99	0.95	0.9	0.37	0.89
	Ácido Acético	9.24	0.41	0.99	0.38	0.27	0.93

<sup>a</sup>: Constante de Langmuir, <sup>\*</sup> Capacidad máxima de adsorción, <sup>b</sup>: constante de adsorción de Freundlich, <sup>c</sup>: intensidad de adsorción de Freundlich,  $R^2$ : Coeficiente de correlación

En el modelo de Langmuir, el parámetro de  $Q_{max}$  suele ser interpretado como la total cobertura de la monocapa. A partir del análisis de las isothermas, se determinó que el siringaldehído obtuvo la mayor capacidad de adsorción: para el caso del CA F-400 se obtuvo un valor de 1 mmol/g, mientras que para la FCA el valor fue muy similar, aproximadamente 0.99 mmol/g, por lo que ambos carbones son aptos para remover este tipo de inhibidor. Otro inhibidor importante y que presentó buenas remociones fue la vainillina, un compuesto fenólico que al igual que el siringaldehído, presentó capacidades máximas muy aceptables ( $> 0.5$  mmol/g). Soleimani Majid en 2014 reportó isothermas de adsorción para compuestos fenólicos, furanos y ácido acético. Para todos los datos experimentales usó el ajuste matemático de Langmuir, en donde para los compuestos fenólicos reportó una  $q_{max}$  de 326 mg/g que comparada con los resultados que se obtuvieron en este estudio fue mayor; para el caso de los compuestos furánicos, la  $q_{max}$  que reportó de igual manera es muy elevada (211 mg/g) y finalmente reporta para el ácido acético 18.8 mg/g. Los resultados que Soleimani reportó son elevados, debido a dos factores: 1) utilizó concentraciones

iniciales muy elevadas (hasta 4000 mg/L), y 2) utilizó cantidades de carbón activado superiores a las de este estudio (0.5 g) en un volumen de 50 ml, por lo que las capacidades máximas de adsorción son muy elevadas comparadas con las de este estudio ya que se asemejan más a las de un hidrolizado real.

## 7.6 Cinéticas de adsorción

Mediante la determinación de cinéticas de adsorción se evaluaron las velocidades de adsorción, así como también el tiempo necesario para que las moléculas en cuestión (inhibidores) alcancen el tiempo de equilibrio (momento en el que el pH no presenta variaciones) en el hidrolizado modelo, todo en presencia del CA F-400, debido a que fue material adsorbente con mejores propiedades químicas y físicas para su posterior uso en columnas de lecho empacado. En teoría las moléculas inhibitoras podrían difundir rápidamente debido a su tamaño (~1nm), además, la nube electrónica de los compuestos fenólicos le confiere una carga muy negativa, por lo cual la cinética podría ser un poco más rápida que en el caso de los compuestos furánicos, justo como se observa en la Figura 18. En general podemos observar que la mayor cantidad de remoción se llevó a cabo en los primeros 30 min para la vainillina y siringaldehído respectivamente, con remociones de más 83 y 90% respectivamente, llegando a velocidades máximas de remoción de 0.0011 mmol/min para el siringaldehído y 0.0032 mmol/min para la vainillina. Los compuestos fenólicos poseen una densidad electrónica negativa más abundante que los otros inhibidores, y tomando en cuenta que el pH al que se trabaja es 5, la carga del carbón activado F-400 neta es positiva, aunado a esto como ya se mencionó son los compuestos más hidrófobos, por lo cual hace que estos inhibidores se adsorban más rápido y en mayor concentración. En el caso del 5-HMF y el furfural alcanza un 94.7 y 95.2% de remoción, ambos a los 30 min, con velocidades máximas de remoción de 0.0013 mmol/min para los dos inhibidores, aunque representan porcentajes mayores que los compuestos

fenólicos, como se observó en la isoterma, las capacidades son muy bajas, por lo que se adsorbe una mínima cantidad de estos inhibidores (Figura 18). Estas remociones son un poco más lentas debido a que los derivados de furanos son compuestos más hidrófilos que los compuesto fenólicos, por lo que su difusión será un poco más lenta. El compuesto que más rápido difunde en el carbón activado F-400 es el ácido acético, ya que en 20 minutos el material adsorbió más del 81% de la concentración del compuesto. Como se observa en la Figura 18 su caída de concentración es la más rápida, debido también a que la velocidad máxima de adsorción fue 0.0057 mmol/min, siendo la mayor para los cinco inhibidores, esto principalmente a que tiende a formar interacciones tipo puente de hidrógeno con todo los grupos oxigenados presentes en la superficie del carbón activado F-400.

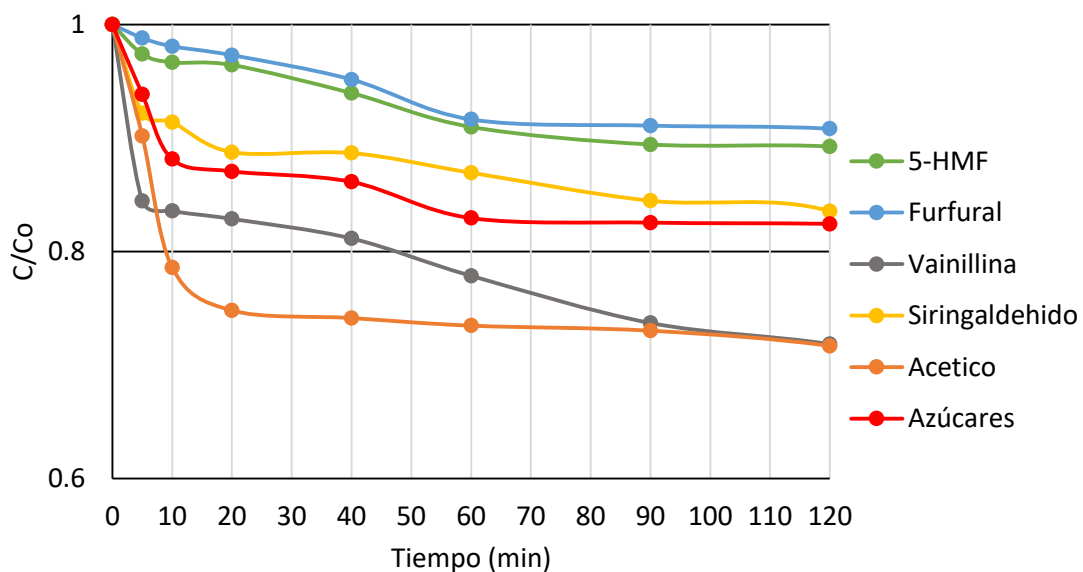


Figura 18. Velocidad de remoción de los cinco compuestos inhibitorios, a concentraciones equimolares (1 mmol/L) a una temperatura de 25 °C, pH = 5 y en 20 g/L de glucosa.

### 7.7 Efecto del pH

El proceso de adsorción de los inhibidores en el carbón activado es bastante sensible a los cambios en el pH. Si los solutos a eliminar son ácidos débiles (como los fenoles o ácidos carboxílicos), el pH del medio afecta su adsorción (Mussatto, 2004). Por ejemplo, los fenoles son ácidos débiles y, a un pH bajo, las moléculas



fenólicas neutras o no ionizadas son altamente adsorbidas, mientras que a un pH alto, los fenoles son aniones (iones fenolato) y se adsorben menos (Mussatto, 2004).

En este estudio se llevaron a cabo experimentos de adsorción entre pH 3 y 8. Con base a lo reportado en la literatura y los valores de los pKa de las moléculas inhibidoras, y en función de la distribución de carga del carbón activado F-400 (carga neta positiva), teóricamente se esperaba que las remociones variaran con el pH, ya que el ácido acético se encuentra disociado y cargado negativamente, lo cual promueve la atracción electrostática entre el carbón activado y la molécula inhibidora, ya que la molécula del ácido acético con un pKa de 4.75 generalmente se disocia a un pH por debajo de 5, por lo que el proceso de adsorción se favorece, como se observó a un pH = 4 que es donde se generó la mayor capacidad de remoción. (Figura 19).

En el caso de los compuestos furánicos su pKa es muy elevado, por lo que es de esperar que la variación de pH no influyera mucho en el proceso de adsorción, lo cual lo corrobora la figura 19. Por el contrario, los compuestos fenólicos (el pKa de la vainillina es 7.4 y el del siringaldehído 7.24) podría presentar alguna disociación a pH básico, lo cual se ve reflejado en una ligera disminución de la adsorción.

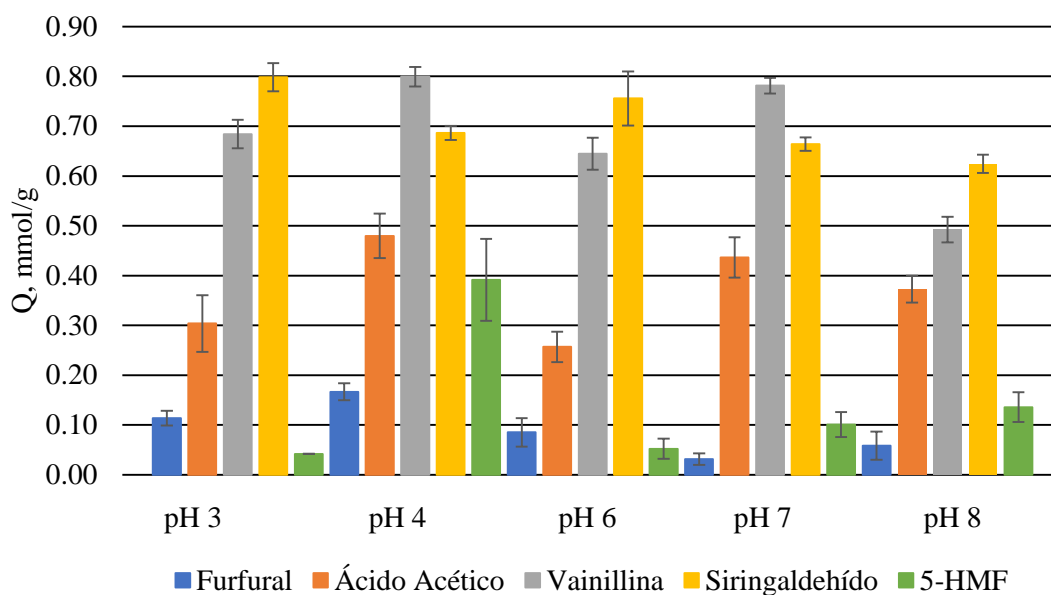


Figura 19. Efecto de pH en el proceso de adsorción de los compuestos inhibidores en un hidrolizado modelo a concentraciones equimolares de 1 mmol/L, a una temperatura de 25 °C y en 20g/L de glucosa.

Mussatto en 2004 mencionó que a un pH de 2 existe una eliminación importante de los productos de degradación de la lignina (en particular de los compuestos fenólicos). Este autor concluyó que el pH es una variable que influye fuertemente en los procesos de adsorción utilizando carbón activado. El Estudio de Mussatto hace hincapié en el efecto de pH, y como se ve en este estudio, si se observan algunos efectos, principalmente en el ácido acético y en los compuestos fenólicos en los extremos de los rangos de pH. Es importante mencionar que en su mayoría los hidrolizados ácidos generalmente tiene un pH cercano a 1, y estos se neutralizan o se les ajusta el pH dependiendo del proceso en el cual se procesarán. Por esta razón es importante mencionar que evaluar un efecto de pH en los experimentos es de gran importancia para optimizar los métodos utilizados.

## 7.9 Adsorción de inhibidores en un hidrolizado real.

Para llevar a cabo el estudio de remoción de compuestos que inhiben el proceso de fermentación oscura que realizan los microorganismos, se preparó un hidrolizado real de bagazo de *Agave tequilana* variedad azul en condiciones ácidas. La Tabla 8 reporta las concentraciones de los inhibidores, con excepción de la vainillina debido a que las concentraciones de los compuestos fenólicos por separado son bajas, con base a esto se cuantifica la remoción de fenoles totales en el hidrolizado real.

Tabla 9. Concentración de compuestos inhibidores y azúcares totales presentes en un hidrolizado real de bagazo de agave variedad azul, y su remoción con CA F-400.

CA	Compuestos	ppm inicial	ppm final	Q mg/g
F-400	Furfural	52.0	41.3	14.1
	5-HMF	42.4	33.4	6.0
	Acético	547.0	481.7	86.3
	Fenoles totales	153.3	93.6	79.3
	Azúcares totales <sup>a</sup>	15.35	8.94	1.28

<sup>a</sup> : Los azúcares totales se reportan en g/L

El ácido acético se presenta en mayor cantidad que los otros compuestos, lo cual promueve que se remueva más (86.3 mg/g) que los compuestos que inhiben la fermentación. Por otro lado los compuestos fenólicos se encontraron en concentraciones similares a las que se manejaron en los estudios con hidrolizado modelo, y la capacidad de remoción de estos es 79.5 mg/g (Figura 20), lo cual es muy similar a lo que se reportó con el hidrolizado modelo (sección 7.2). De igual manera, aunque los compuestos derivados de furanos se presentaron aproximadamente a la mitad de la concentración de lo que se usó en el

hidrolizado modelo, estos se removieron en la misma cantidad. Es importante resaltar que la concentración de azúcares en el hidrolizado real tratado es 8.94 g/L muy alta comparada con la concentración de los inhibidores (Figura 20), lo cual podría resultar en una elevada producción de hidrógeno.

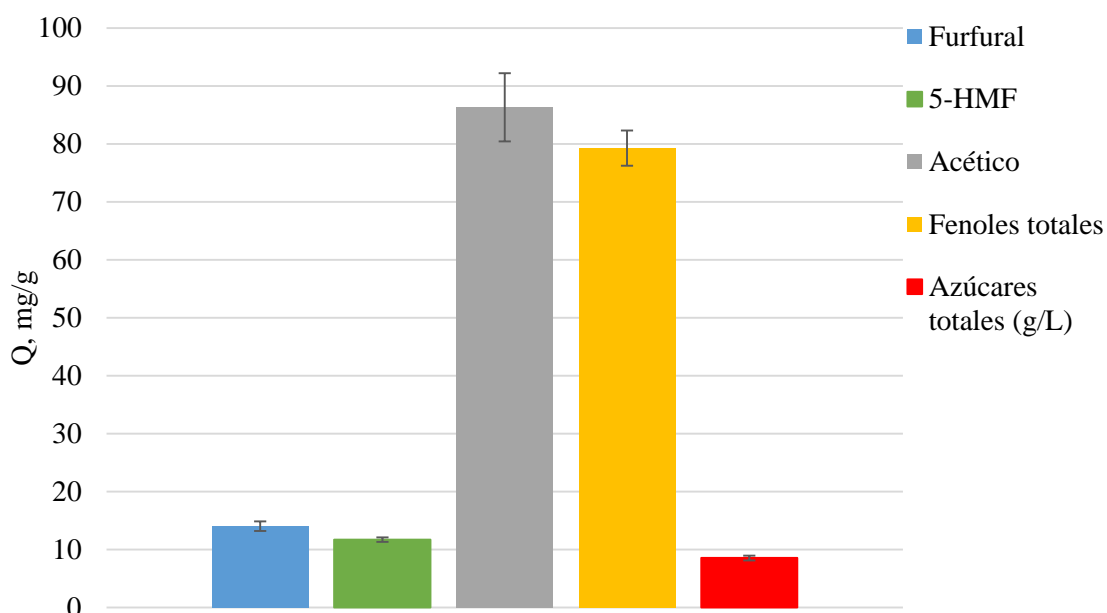


Figura 20. Capacidades de remoción de los compuestos presentes en un hidrolizado real con carbón activado F-400, a un pH = 5 y una T = 25 °C.

### 7.8 Adsorción-Desorción de un hidrolizado modelo y uno real

Se realizaron experimentos de adsorción-desorción para determinar la factibilidad de obtener productos de valor agregado, ya que como se ha mencionado algunos inhibidores poseen características que son de utilidad en algunas industrias. Como por ejemplo, la vainillina es el principal componente químico del extracto de vainilla. Hoy en día este compuesto todavía se fabrica a partir de residuos de lignina. La vainillina (4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído), es un compuesto aromático de olor agradable, que se produce naturalmente en los frijoles de vainilla y se usa ampliamente como un aditivo aromatizante para

bebidas, cocina y como un aditivo aromático para velas, incienso, fragancias, perfumes y ambientadores. (R. Kumar, Sharma, & Mishra, 2012b).

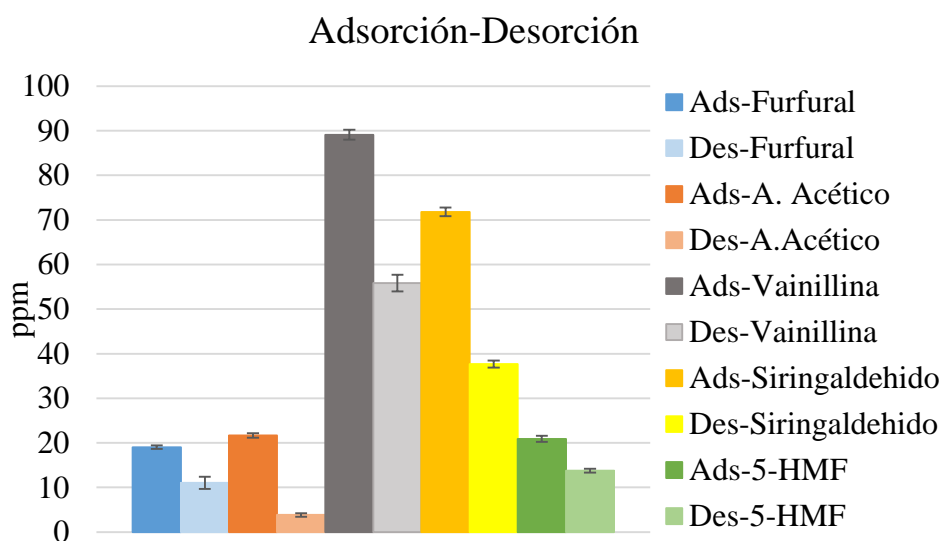


Figura 21. Adsorción-desorción de inhibidores en hidrolizado modelo, con carbón activado F-400 a pH = 5, T = 25°C, 20g/L de glucosa y concentración inicial de 100 ppm.

Debido a la escasez y el gasto del extracto de vainilla natural, ha existido un gran interés en la preparación sintética de su componente predominante, por este motivo es importante hacer un estudio sobre la remoción de este compuesto en los hidrolizados, y determinar cuánto se puede recuperar para reutilizarlo en las industrias de alimentos, aromatizantes etc.

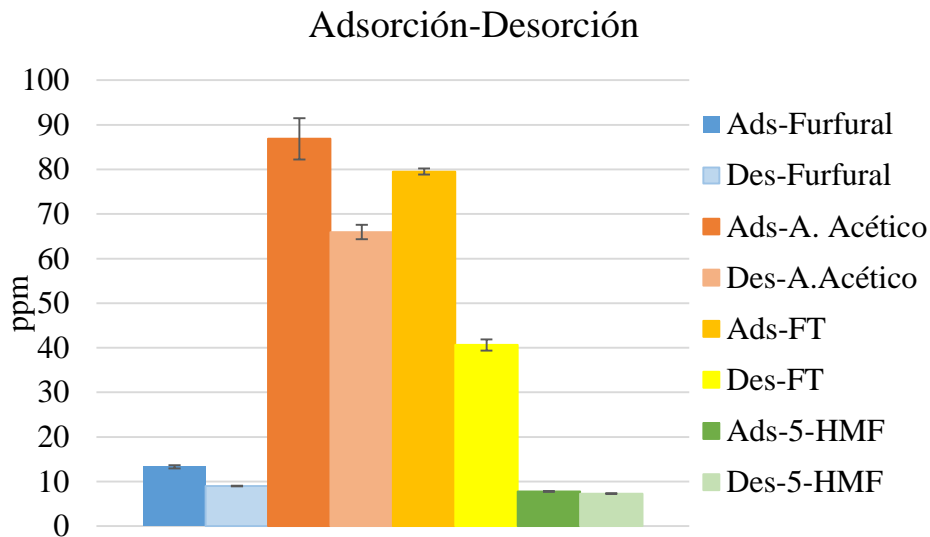


Figura 22. Adsorción-desorción de inhibidores en hidrolizado real, con carbón activado F-400 a pH = 5, T = 25°C, 20g/L de glucosa y concentración inicial de 100 ppm.

En la Figura 21 podemos observar que a una concentración de 100 ppm el adsorbente F-400 remueve 89.1 mg/g y en presencia de 20g/L de glucosa. Después de someter al F-400 saturado a un proceso de desorción con etanol al 50% y a una agitación de 125 rpm, se logró recuperar una cantidad de 55.8 mg/g, lo cual a una escala real podría representar cantidades considerables de este producto ya que presento los mejores rendimientos, por lo cual se le podría dar un valor agregado al tratamiento ácido de hidrolizados destinados a la producción de hidrógeno.

Por otro lado, también se llevaron a cabo experimentos de adsorción-desorción en un hidrolizado ácido real, para determinar la factibilidad del proceso reversible a la remoción. Como se observó en la figura 21, el ácido acético mostró los mejores rendimientos alcanzando un remoción de 86.6 mg/g lo cual se le atribuye principalmente a su alta concentración presente en el medio (547ppm). De dicha remoción se logró recuperar 65.9 mg/g, lo que representa un 75% de producto recuperado. De igual manera otros de los compuestos que indica tener

una factibilidad para recuperarse son los fenoles totales, ya que se adsorbió 79.5 mg/g en nuestro material, del cual se logró recuperar 40.6 mg/g de dicho compuesto, lo que representa el 50% de producto recuperado. Estos resultados son de gran interés ya que tanto el ácido acético como los compuestos fenólicos, son compuestos a los cuales se les puede dar un valor agregado en la industria y que son un contaminante en los hidrolizados ácidos de bagazo de agave.

## **8. Conclusiones**

Los compuestos fenólicos (vainillina y siringaldehído) presentan una excelente afinidad por el carbón activados F-400 ya que tiene capacidad de adsorción de 60.86 mg/g y 64.25 mg/g, respectivamente. Esto debió a la mayor hidrofobicidad en comparación con los otros inhibidores.

En lo que respecta a la remoción de los azúcares totales, todos los carbones activados presentaron capacidades muy pobres, especialmente el CA F-400 que adsorbió 0.53 mg/g. Por lo que el carbón activado F-400 es apto para remover compuestos fenólicos, y además, adsorbe una pequeña fracción de azúcares dejando la mayor cantidad de estos en el hidrolizado.

Los datos experimentales de adsorción se ajustaron mejor al modelo de Langmuir, así entonces el proceso de adsorción se lleva a cabo en un sistema de monocapa, además el F-400 mostró una mayor selectividad para los compuestos fenólicos, con capacidades máximas de adsorción de 0.68 mmol/g para la vainillina y 1.02 mmol/g para siringaldehído.

Las cinéticas de adsorción demuestran que se alcanza una eficiencia de remoción para compuestos fenólicos de más de 83% en los primeros 30 minutos, mientras que para los derivados de furanos se alcanzan eficiencias mayores al 93% en los primeros 30 minutos. El ácido acético presenta la mejor eficiencia ya que se remueve el 81% en los primero 20 min.

La vainillina se pudo recuperar en buenas cantidades ya que de 89.1 mg/g que se adsorbió en el F-400, se logró desorber 55.8 mg/g, quiere decir que se recupera más de un 50% lo cual podría permitir la recuperación de este compuesto. De igual manera en un hidrolizado ácido real, se logró recuperar más del 50% de compuestos fenólicos, lo que nos indica que también es posible obtener compuesto de interés para distintos usos industriales.

Los experimentos de adsorción realizados al hidrolizado ácido, son muy similares a los obtenidos en un hidrolizado modelo, ya que se lograron remover cantidades deseables de compuestos fenólicos (79.3 mg/g). En el caso de los derivados de furanos las remociones son bajas, como se esperaba debido a los estudios con hidrolizado modelo, sin embargo, para el ácido acético la remoción fue la más elevada, esto debido a que se encontraba en cantidades mucho más elevadas que los otros compuestos (547 mg/L) por lo que se logró remover 86.3 mg/g.

El carbón activado bituminoso F-400 es el material más indicado para llevar a cabo la remoción de compuestos que inhiben la fermentación oscura, el cual es el proceso necesario para la producción de biohidrógeno, debido a su elevada capacidad y cinética de adsorción, y baja remoción de azúcares, además de las excelentes velocidades de remoción que presentó en los experimentos de cinéticas de adsorción principalmente para los compuestos fenólicos.



## **9. Perspectivas.**

Mediante los resultados obtenidos en este estudio, se propone elaborar curvas de ruptura con un hidrolizado modelo y uno real, mediante experimentos en columnas empacadas con carbón F-400, ya que fue el material que presentó mejores propiedades (físicas y químicas) en todos los ámbitos.

Realizar experimentos en continuo, en columnas empacadas y adaptadas a los reactores productores de biohidrógeno, como método de análisis para verificar la eficiencia en la producción de biohidrógeno cuando se remueven los compuestos fenólicos y el ácido acético, evitando en gran medida la remoción de azúcares totales.

## 10. Bibliografía

- Amézquita Héctor J. (2015). Activated Carbon Fibers as Biological Supports and Redox Mediators in the Biotic and Abiotic Anaerobic Transformation of Nitroaromatic Compounds (Tesis Doctoral). Instituto potosino de Investigación científica y tecnológica, A.C., San Luis Potosí, S.L.P.
- Arreola-Vargas, J., Flores-Larios, A., González-Álvarez, V., Corona-González, R. I., & Méndez-Acosta, H. O. (2016). Single and two-stage anaerobic digestion for hydrogen and methane production from acid and enzymatic hydrolysates of Agave tequilana bagasse. *International Journal of Hydrogen Energy*, 41(2), 897–904.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2015.11.016>
- Bakker, R. R., Baets, P., & Eggink, G. (2014). By-products resulting from lignocellulose pretreatment and their inhibitory effect on fermentations for (bio)chemicals and fuels. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(23), 9579–9593.  
<https://doi.org/10.1007/s00253-014-6158-9>
- Bansal, R. C., & Goyal, M. (2005). Activated carbon adsorption. Boca Raton: Taylor & Francis.
- Berson, R. E., Young, J. S., Kamer, S. N., & Hanley, T. R. (2005). Detoxification of actual pretreated corn stover hydrolysate using activated carbon powder. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 124(1–3), 923–934.
- Boehm, H. P. (1994). Some aspects of the surface chemistry of carbon blacks and other carbons. *Carbon*, 32(5), 759–769.
- Crittenden, J. C., & Montgomery Watson Harza (Firm) (Eds.). (2012). *MWH's water treatment: principles and design* (3rd ed). Hoboken, N.J: John Wiley & Sons.
- Du, B., Sharma, L. N., Becker, C., Chen, S.-F., Mowery, R. A., van Walsum, G. P., & Chambliss, C. K. (2010). Effect of varying feedstock-pretreatment chemistry combinations on the formation and accumulation of potentially inhibitory degradation products in biomass

- hydrolysates. *Biotechnology and Bioengineering*, 107(3), 430–440.  
<https://doi.org/10.1002/bit.22829>
- Edwin C. van der Pol, Bakker, R. R., Baets, P., & Eggink, G. (2014). By-products resulting from lignocellulose pretreatment and their inhibitory effect on fermentations for (bio)chemicals and fuels. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(23), 9579–9593.  
<https://doi.org/10.1007/s00253-014-6158-9>
- Jönsson, L. J., Alriksson, B., & Nilvebrant, N.-O. (2013). Bioconversion of lignocellulose: inhibitors and detoxification. *Biotechnology for Biofuels*, 6(1), 16.
- Jönsson, L. J., & Martín, C. (2016). Pretreatment of lignocellulose: Formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effects. *Bioresource Technology*, 199, 103–112. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.009>
- Kim S, Thiessen PA, Bolton EE, Chen J, Fu G, Gindulyte A, Han L, He J, He S, Shoemaker BA, Wang J, Yu B, Zhang J, Bryant SH. (2015). PubChem Substance and Compound databases. Retrieved from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Klinke, H. B., Thomsen, A. B., & Ahring, B. K. (2004). Inhibition of ethanol-producing yeast and bacteria by degradation products produced during pre-treatment of biomass. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 66(1), 10–26. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1642-2>
- Kumar, G., Bakonyi, P., Periyasamy, S., Kim, S. H., Nemestóthy, N., & Bélafi-Bakó, K. (2015). Lignocellulose biohydrogen: Practical challenges and recent progress. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 44, 728–737. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.01.042>
- Kumar, R., Sharma, P. K., & Mishra, P. S. (2012a). A review on the vanillin derivatives showing various biological activities. *International Journal of PharmTech Research*, 4(1), 266–279.
- Lee, S. C., & Park, S. (2016). Removal of furan and phenolic compounds from simulated biomass hydrolysates by batch adsorption and continuous fixed-bed column

- adsorption methods. *Bioresource Technology*, 216, 661–668.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.007>
- Marsh, H., & Rodríguez-Reinoso, F. (2006). *Activated carbon* (1st ed). Amsterdam ; Boston: Elsevier.
- MICHEL DUBOIS, K. A. GILLES, J. K. HAMILTON, P. A. REBERS, and FRED SMITH. (1956).  
Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances, 350–356.
- Mussatto, S. (2004). Alternatives for detoxification of diluted-acid lignocellulosic hydrolyzates for use in fermentative processes: a review. *Bioresource Technology*, 93(1), 1–10.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.10.005>
- Palmqvist, E., & Hahn-Hägerdal, B. (2000). Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource Technology*, 74(1), 25–33.
- Ranjan, R., Thust, S., Gounaris, C. E., Woo, M., Floudas, C. A., Keitz, M. von, ... Tsapatsis, M. (2009). Adsorption of fermentation inhibitors from lignocellulosic biomass hydrolyzates for improved ethanol yield and value-added product recovery. *Microporous and Mesoporous Materials*, 122(1–3), 143–148.  
<https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2009.02.025>
- Rizelio, V. M., Gonzaga, L. V., da Silva Campelo Borges, G., Micke, G. A., Fett, R., & Costa, A. C. O. (2012). Development of a fast MECK method for determination of 5-HMF in honey samples. *Food Chemistry*, 133(4), 1640–1645.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.058>
- Royal Society of Chemistry. (2015). ChemSpider Search and share chemistry. Retrieved from <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.8333.html>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152–178). Elsevier.

- Soleimani, M., Tabil, L., & Niu, C. (2015). Adsorptive Isotherms and Removal of Microbial Inhibitors in a Bio-Based Hydrolysate for Xylitol Production. *Chemical Engineering Communications*, 202(6), 787–798. <https://doi.org/10.1080/00986445.2013.867258>
- Soto, M. L., Moure, A., Domínguez, H., & Parajó, J. C. (2011). Recovery, concentration and purification of phenolic compounds by adsorption: A review. *Journal of Food Engineering*, 105(1), 1–27. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.02.010>
- Trapero Quintana, Y. M. (2014a). Farmacocinética y toxicología del 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído (vainillina) en modelos in vivo (PhD Thesis). Centro de Biofísica Matemática. Universidad de Oriente.
- Trapero Quintana, Y. M. (2014b). Farmacocinética y toxicología del 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído (vainillina) en modelos in vivo (PhD Thesis). Centro de Biofísica Matemática. Universidad de Oriente.
- Yan, K., Wu, G., Lafleur, T., & Jarvis, C. (2014). Production, properties and catalytic hydrogenation of furfural to fuel additives and value-added chemicals. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 38, 663–676. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.07.003>

**Anexos A.**

**Tabla A.1 Capacidades de adsorción de cada carbón activado en presencia de cada inhibidor por separado con sus respectivas desviaciones estándar. T= 25°C y pH = 5**

<b>En agua desionizada</b>	<b>Capacidades de adsorción y desviación estándar</b>			
<b>Muestra</b>	<b>F-400</b>	<b>Concha De Coco</b>	<b>Madera</b>	<b>FCA</b>
<b>FURFURAL</b>	<b>106.54</b>	<b>91.04</b>	<b>87.10</b>	<b>85.20</b>
Desvesta	4.8	7.0	4.4	4.4
<b>ÁCIDO ACÉTICO</b>	<b>96.31</b>	<b>101.12</b>	<b>105.00</b>	<b>107.35</b>
Desvesta	10.8	1.4	4.3	4.1
<b>VAINILLINA</b>	<b>47.49</b>	<b>70.52</b>	<b>58.57</b>	<b>105.17</b>
Desvesta	7.5	8.3	6.3	6.1
<b>SIRINGALDEHÍDO</b>	<b>77.15</b>	<b>92.03</b>	<b>85.15</b>	<b>106.99</b>
Desvesta	2.4	3.8	8.5	1.9
<b>5-HMF</b>	<b>102.42</b>	<b>96.92</b>	<b>106.96</b>	<b>132.00</b>
Desvesta	4.9	8.1	6.8	5.7

**Tabla A.2 Capacidades de adsorción de cada carbón activado en presencia de cada inhibidor y glucosa (20g/L) con sus respectivas desviaciones estándar. T = 25°C y pH = 5**

<b>En glucosa (20g/L)</b>	<b>Capacidades de adsorción Y desviación estándar</b>			
<b>Muestra</b>	<b>F-400</b>	<b>Concha De Coco</b>	<b>Madera</b>	<b>FCA</b>
<b>FURFURAL</b>	<b>37.91</b>	<b>35.75</b>	<b>30.60</b>	<b>16.99</b>
Desvesta	5.7	2.5	1.3	0.1
<b>A. ACETICO</b>	<b>48.32</b>	<b>47.42</b>	<b>57.32</b>	<b>70.78</b>
Desvesta	3.3	7.2	6.6	6.6
<b>VAINILLINA</b>	<b>91.03</b>	<b>75.52</b>	<b>86.15</b>	<b>113.52</b>
Desvesta	2.6	8.7	5.3	2.6
<b>SIRINGALDEHÍDO</b>	<b>91.74</b>	<b>81.24</b>	<b>78.36</b>	<b>106.80</b>
Desvesta	6.5	2.2	7.3	1.9
<b>5-HMF</b>	<b>98.88</b>	<b>110.54</b>	<b>80.28</b>	<b>119.64</b>
Desvesta	1.6	2.3	14.0	0.8

Tabla A.3 Capacidades de adsorción de cada carbón activado en presencia de un hidrolizado modelo que contiene una mezcla de todos los inhibidores en glucosa (20g/L) con sus respectivas desviaciones estándar. T = 25°C y pH = 5

Hidrolizado Modelos	Capacidades de adsorción y desviación estándar			
	Muestra	F-400	Concha De Coco	Madera
<b>FURFURAL</b>	<b>18.86</b>	<b>19.82</b>	<b>17.32</b>	<b>9.84</b>
Desvesta	0.7	1.0	5.4	5.9
<b>ÁCIDO ACÉTICO</b>	<b>23.22</b>	<b>24.78</b>	<b>30.48</b>	<b>21.92</b>
Desvesta	2.8	5.9	6.3	4.4
<b>VAINILLINA</b>	<b>60.86</b>	<b>34.07</b>	<b>56.31</b>	<b>81.03</b>
Desvesta	10.0	10.4	11.4	3.3
<b>SIRINGALDEHÍDO</b>	<b>64.25</b>	<b>43.19</b>	<b>63.75</b>	<b>90.81</b>
Desvesta	3.3	8.8	7.8	2.9
<b>5-HMF</b>	<b>19.58</b>	<b>13.38</b>	<b>14.84</b>	<b>4.93</b>
Desvesta	0.4	1.6	4.8	3.3

## Anexo B.

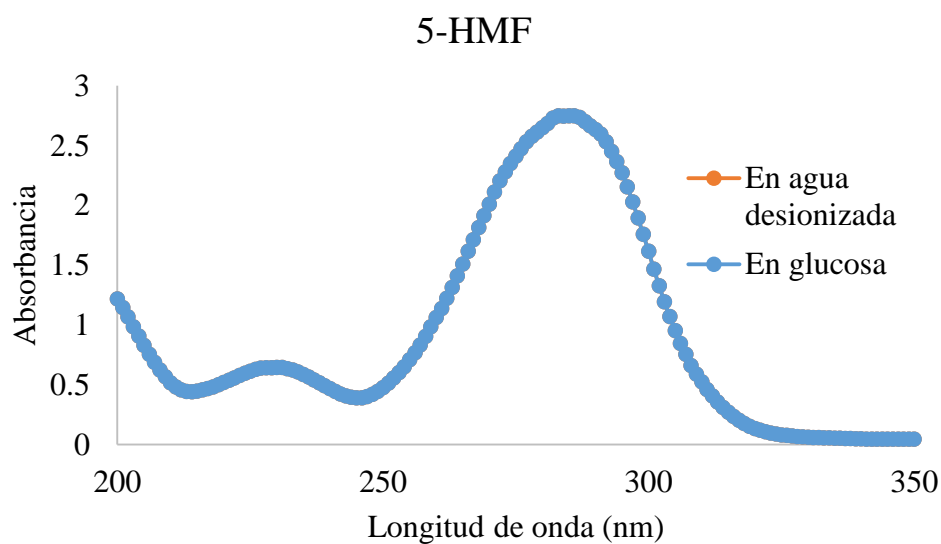


Figura B.1 Espectro UV/Vis del 5-HMF en presencia de agua desionizada y de glucosa.

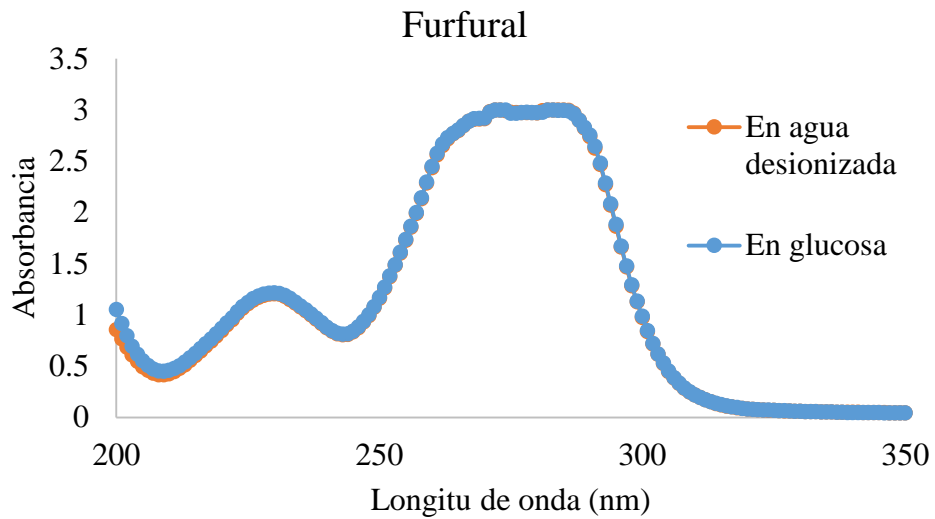


Figura B.2 Espectro UV/Vis del Furfural en presencia de agua desionizada y de glucosa.

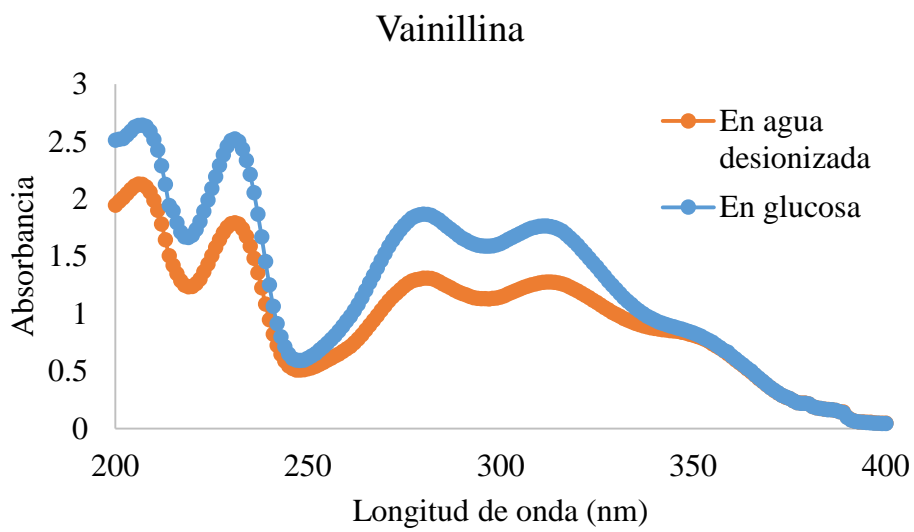


Figura B.3 Espectro UV/Vis del Vainillina en presencia de agua desionizada y de glucosa.



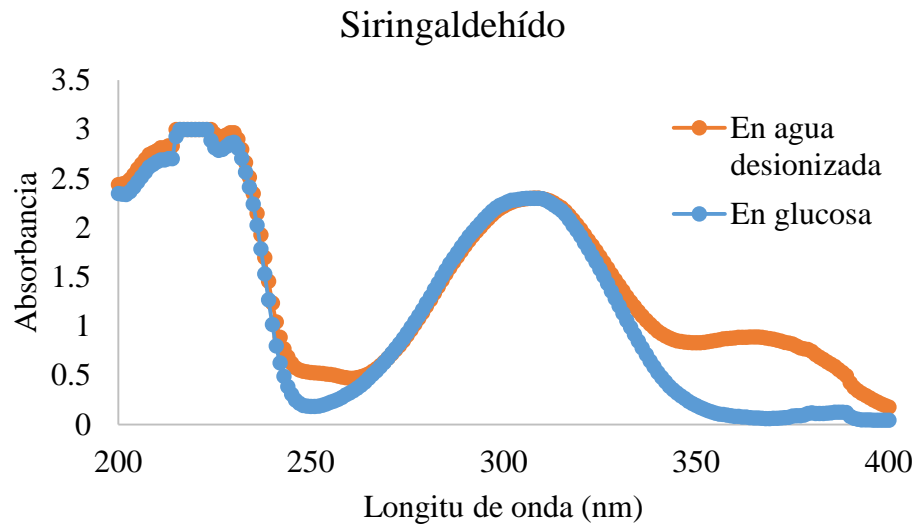


Figura B.4 Espectro UV/Vis del Siringaldehído en presencia de agua desionizada y de glucosa.