

Pirólisis rápida de algas: Obtención de productos de alto valor agregado

Tesis para optar por el grado de Doctora en Química



Lic. Roxana Verónica Piloni



Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Instituto de Investigaciones en Físico-Química de Córdoba, Argentina

-2019-

Pirólisis rápida de algas: Obtención de productos de alto valor agregado

Directora de Tesis:

Prof. Dra. E. Laura Moyano

Comisión Evaluadora de Tesis:

Prof. Dra. Marisa Martinelli

Prof. Dr. R. Carlos Urcelay

Prof. Dr. Ricardo Rojas y Delgado

Evaluador Externo:

Prof. Dr. Raúl Alberto Comelli

Resumen

Hoy en día, las algas son consideradas como el tipo de biomasa con mayor probabilidad de proporcionar cantidades suficientes de combustibles sin afectar el suministro de alimentos. Se han desarrollado varias tecnologías con el objetivo de obtener biocombustibles a partir de algas. En el presente trabajo, se investiga la pirólisis rápida de tres tipos diferentes de algas: *Pithophora sp.* (**Ph**), *Arthrospira platensis - Spirulina* (**Sp**) y *Botryococcus braunii* (**Bb**), con un enfoque en la calidad y el rendimiento del producto líquido como un posible biocombustible. La caracterización de las algas mostró un contenido elevado de lípidos para **Bb**, niveles más altos de proteínas para **Sp** y cantidades similares de proteínas y carbohidratos para **Ph**. Un reactor de lecho fijo conectado a un sistema de vacío y flujo de nitrógeno, se utilizó en los experimentos de pirólisis a 300, 400, 500 y 600 °C. A 500 °C, **Bb** produjo la cantidad máxima de bio-líquido (60 % de rendimiento), mientras que **Sp** y **Ph** proporcionaron la mayor cantidad a 600 °C, 40 % y 23 % de rendimiento, respectivamente.

El análisis mediante Cromatografía Gaseosa acoplada a Espectrometría de Masas de los líquidos derivados de **Ph**, consistió principalmente en productos oxigenados y nitrogenados, destacándose 2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-metanol, también conocido en inglés como solketal; y el bio-líquido de **Sp** presentó principalmente compuestos nitrogenados, siendo 2,2,6,6-tetrametil-4-piperidona (TMP) el producto de mayor relevancia. **Bb** mostró un alto contenido de compuestos de cadena larga, principalmente alcoholes, ácidos carboxílicos e hidrocarburos insaturados. Este resultado indicaría que los bio-líquidos de **Bb** pueden usarse como materia prima para la producción de combustible. Se optimizaron las condiciones de pirólisis de **Bb**, siendo posible trabajar con mayores cantidades de biomasa y menores tiempos de reacción. Se evaluó también la aplicación de catalizadores en la pirólisis rápida de **Bb**, sin obtener resultados alentadores. Se analizó la capacidad de producción de bio-líquido a partir de **Bb** por extracciones con solventes mediante calentamiento convencional y asistido por microondas, y se encontró que la pirólisis rápida ofreció mejores ventajas como metodología de producción de bio-líquidos.

En la segunda parte de la Tesis Doctoral, se evaluaron las posibles aplicaciones tanto de los bio-carbones como de los bio-líquidos obtenidos en la pirólisis rápida. En relación a la fracción líquida, se evaluaron la capacidad antifúngica y antioxidante del bio-líquido obtenido a partir de la pirólisis de **Sp**, encontrándose valores de actividad inferiores en comparación a bio-líquidos derivados de otros tipos de biomasa.

Acerca de las aplicaciones de los materiales sólidos de origen pirolítico, se evaluó la fitotoxicidad de extractos de agua de bio-carbones provenientes de la pirólisis de **Sp** sobre semillas de *Lactuca sativa*. Se encontró que los bio-carbones de **Sp** poseen una elevada fitotoxicidad, inhibiendo el crecimiento de *L. sativa* incluso a bajas concentraciones del extracto. Esto indicaría que estos bio-carbones no podrían ser utilizados como potenciales enmiendas de suelo.

Por otro lado, se evaluó la capacidad de bio-carbones de **Sp** para adsorber moléculas

de interés. Para los experimentos realizados con ácido láctico (AL), se obtuvieron valores de adsorción de tres órdenes de magnitud superiores a los reportados para otros materiales carbonosos y para resinas de intercambio. En cuanto a Albúmina Sérica Bovina (BSA), se evaluó el bio-carbón de **Sp** sin tratar y previamente tratado con KOH para aumentar su porosidad. Para ambos casos, se obtuvieron valores de adsorción mayores que los informados en bibliografía para materiales carbonosos obtenidos por tratamiento térmico de biomasa.

Por último, se evaluó la purificación de AL proveniente de un caldo de fermentación bacteriana utilizando bio-carbones provenientes de la pirólisis de **Sp**. Se evaluaron bio-carbones sin ningún tratamiento, con tratamiento térmico a 350 y 400 °C y tratado con KOH. Se encontró que los bio-carbones tratados con KOH y tratados térmicamente a 350 °C, permitieron recuperar excelentes porcentajes de AL, con excelentes valores de eliminación de proteínas.

Abstract

Today, algae are considered the type of biomass most likely to provide sufficient quantities of fuel without affecting the food supply. Several technologies have been developed with the aim of obtaining bio-fuels from algae. In the present work, the fast pyrolysis of three different types of algae is investigated: *Pithophora sp.* (**Ph**), *Arthrospira platensis - Spirulina* (**Sp**) and *Botryococcus braunii* (**Bb**), with a focus on the quality and performance of the liquid product as a possible bio-fuel. The characterization of the algae showed a high content of lipids for **Bb**, higher levels of proteins for **Sp** and similar amounts of proteins and carbohydrates for **Ph**. A fixed bed reactor connected to a vacuum pump and nitrogen flow system was used in the pyrolysis experiments at 300, 400, 500 and 600 °C. At 500 °C, **Bb** produced the maximum amount of bio-liquid (60 % yield), while **Sp** and **Ph** provided the highest amount at 600 °C, 40 % and 23 % yield, respectively.

The analysis by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry of the liquids derived from **Ph**, consisted mainly of oxygenated and nitrogen products, standing out 2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-methanol, also known as solketal; and the bio-liquid of **Sp** presented mainly nitrogen compounds, being 2,2,6,6-tetramethyl-4-piperidone (TMP) the most relevant product. **Bb** showed a high content of long chain compounds, mainly alcohols, carboxylic acids and unsaturated hydrocarbons. This result would indicate that **Bb** bio-liquids can be used as raw material for bio-fuel production. The pyrolysis conditions of **Bb** were optimized, being possible to work with greater amounts of biomass and shorter reaction times. The application of catalysts in the fast pyrolysis of **Bb** was also evaluated, without obtaining encouraging results. The production capacity of bio-liquid from **Bb** was analyzed by extractions with solvents by conventional heating and assisted by microwaves, and it was found that fast pyrolysis offered better advantages as a bio-liquid production methodology.

In the second part of the PhD Thesis, the possible applications of both bio-carbons and bio-liquids obtained in fast pyrolysis were evaluated. In relation to the liquid fraction, the antifungal and antioxidant capacity of the bio-liquid obtained from the pyrolysis of **Sp** was evaluated, with lower activity values being found in comparison to bio-liquids derived from other types of biomass.

About the applications of solid materials of pyrolytic origin, the phytotoxicity of water extracts of bio-carbons from the pyrolysis of **Sp** on seeds of *Lactuca sativa* was evaluated. It was found that the bio-carbons of **Sp** have a high phytotoxicity, inhibiting the growth of *L. sativa* even at low concentrations of the extract. This would indicate that these bio-carbons could not be used as potential soil amendments.

On the other hand, the capacity of bio-carbons of **Sp** to adsorb molecules of interest was evaluated. For the experiments carried out with lactic acid (AL), adsorption values of three orders of magnitude higher than those reported for other carbonaceous materials and for exchange resins were obtained. As for bovine serum albumin (BSA), the bio-carbon from

untreated **Sp** and previously treated with KOH was evaluated to increase its porosity. For both cases, higher adsorption values were obtained than those reported in the literature for carbonaceous materials obtained by thermal treatment of biomass.

Finally, the purification of AL from a bacterial fermentation broth was evaluated using bio-carbons from the pyrolysis of **Sp**. Bio-carbons were evaluated without any treatment, with thermal treatment at 350 and 400 °C and treated with KOH. It was found that bio-carbons treated with KOH and heat treated at 350 °C, allowed recovering excellent percentages of AL, with excellent protein removal values.

Índice general

Resumen	v
<i>Abstract</i>	vii
Índice general	ix
Lista de Figuras	xiii
Lista de Tablas	xvii
Lista de Símbolos	xxi
I. Introducción y objetivos	1
1. Matriz energética mundial: presente y futuro	3
1.1. Los combustibles fósiles, su producción y consumo mundial	3
1.2. Efectos adversos sobre el ambiente: contaminación y cambio climático	4
1.3. Bibliografía	8
2. Recursos renovables como alternativa sustentable	9
2.1. Clasificación de las energías renovables	9
2.1.1. Energía hidráulica	9
2.1.2. Energía eólica	10
2.1.3. Energía solar	11
2.1.4. Energía geotérmica	12
2.1.5. Energías oceánicas: las mareas y las olas	13
2.1.6. Energía proveniente de la biomasa	14
2.2. Biomasa: Clasificación y biocombustibles derivados	16
2.2.1. Primera generación: Biocombustibles derivados de cultivos alimenticios	17
2.2.2. Segunda generación: Biocombustibles a partir de cultivos no alimenticios y desechos de cultivos	17
2.2.3. Tercera generación: Biocombustibles provenientes de algas	18

ÍNDICE GENERAL

2.3. Las algas como potencial fuente de biocombustibles	18
2.4. Bibliografía	22
3. Metodologías de conversión de la biomasa	25
3.1. Procesos bioquímicos y fisicoquímicos	25
3.1.1. Procesos bioquímicos: Fermentación y Digestión Anaeróbica	25
3.1.2. Procesos fisicoquímicos: Prensado y Extracción con solventes	26
3.2. Procesos termoquímicos	27
3.2.1. Combustión directa	28
3.2.2. Carbonización	28
3.2.3. Gasificación	28
3.2.4. Licuefacción	29
3.2.5. Pirólisis	29
3.3. Pirólisis rápida: Generalidades, principales productos y sus posibles aplicaciones	31
3.4. Bibliografía	33
4. Objetivos generales y específicos	35
II. Estudio de algas como biomasa de partida en pirólisis rápida	37
5. Materiales y Metodología	39
5.1. Tipos de algas evaluadas	39
5.1.1. <i>Pithophora sp.</i> (Ph)	39
5.1.2. <i>Arthrospira platensis</i> - <i>Spirulina</i> (Sp)	40
5.1.3. <i>Botryococcus braunii</i> (Bb)	41
5.2. Caracterización del material de partida	41
5.2.1. Análisis elemental	41
5.2.2. Análisis proximal: humedad, cenizas, lípidos, proteínas e hidratos de carbono	42
5.3. Metodologías utilizadas en el tratamiento de biomasa	42
5.3.1. Pirólisis rápida	42
5.3.2. Pirólisis rápida catalítica	43
5.3.2.1. Catalizador mesoporoso a partir de precursores zeolíticos	43
5.3.2.2. Catalizador de estructura Pirocloro	45
5.3.3. Extracción con solventes	47
5.3.3.1. Calentamiento convencional	47
5.3.3.2. Calentamiento asistido por microondas (MO)	48
5.4. Análisis de los bio-líquidos mediante CG-EM	49
5.5. Bibliografía	50

6. Resultados y Discusiones	53
6.1. Estudios sobre <i>Pithophora sp.</i> (Ph)	53
6.1.1. Caracterización de la biomasa	53
6.1.2. Pirólisis rápida y análisis de productos	54
6.1.3. Conclusiones parciales	56
6.2. Estudios sobre <i>Arthrospira platensis</i> - Spirulina (Sp)	57
6.2.1. Caracterización de la biomasa	57
6.2.2. Pirólisis rápida y análisis de productos	57
6.2.3. Conclusiones parciales	59
6.3. Estudios sobre <i>Botryococcus braunii</i> (Bb)	60
6.3.1. Caracterización de la biomasa	60
6.3.2. Pirólisis rápida y análisis de productos	60
6.3.3. Caracterización del bio-líquido de Bb	63
6.3.4. Pirólisis rápida catalítica	65
6.3.5. Extracción con solventes	65
6.3.5.1. Calentamiento convencional	66
6.3.5.2. Calentamiento asistido por irradiación de microondas (MO)	68
6.3.6. Conclusiones parciales	69
6.4. Bibliografía	71

III. Estudios y aplicaciones de los productos obtenidos de la pirólisis de algas **75**

7. Materiales y Metodología	77
7.1. Estudios realizados sobre la fracción líquida o bio-líquido proveniente de pirólisis de algas	77
7.1.1. Mejoramiento del bio-líquido empleando diversas metodologías, catalíticas y no catalíticas	77
7.1.2. Medición de propiedades antifúngicas y antioxidantes	78
7.1.2.1. Actividad antifúngica	79
7.1.2.2. Actividad antioxidante	80
7.2. Estudios realizados sobre la fracción sólida o bio-carbón proveniente de la pirólisis de algas	81
7.2.1. Evaluación de fitotoxicidad para aplicación como enmienda de suelos agrícolas	82
7.2.2. Ensayos como material de adsorción y purificación de moléculas de interés	84
7.2.2.1. Adsorción de Ácido láctico (AL)	84
7.2.2.2. Adsorción de Albúmina de suero bovino (BSA)	86

ÍNDICE GENERAL

7.2.2.3. Purificación de AL proveniente de caldo de fermentación microbiana	88
7.3. Bibliografía	91
8. Resultados y Discusiones	99
8.1. Fracción líquida o bio-líquido	99
8.1.1. Mejoramiento del bio-líquido proveniente de la pirólisis de Bb para su potencial aplicación como biocombustible	99
8.1.1.1. Conclusiones parciales	100
8.1.2. Estudio de propiedades antifúngicas y antioxidantes del los bio-líquidos derivados de pirólisis	100
8.1.2.1. Conclusiones parciales	103
8.2. Fracción sólida o bio-carbón proveniente de pirólisis rápida	103
8.2.1. Aplicación agronómica de bio-carbones derivados de pirólisis de biomasa	103
8.2.1.1. Conclusiones parciales	106
8.2.2. Estudio del bio-carbón de Sp como material de adsorción y purificación de moléculas de interés	107
8.2.2.1. Adsorción de AL	107
8.2.2.2. Adsorción de BSA	108
8.2.2.3. Purificación de AL proveniente de caldo de fermentación microbiana	111
8.2.2.4. Conclusiones parciales	115
8.3. Bibliografía	117
IV. Epílogo	121
9. Conclusiones y proyecciones	123
9.1. Conclusiones generales	123
9.2. Proyecciones	126
9.3. Bibliografía	128
V. Apéndice	129
A. Cromatogramas y tablas de productos de bio-líquidos de pirólisis	131
B. Curvas de calibración de experimentos de adsorción y purificación	167

Lista de Figuras

1.1. Consumo mundial de energía primaria desde 1992 hasta la actualidad, en millones de toneladas de petróleo equivalente. Imagen adaptada de [3]	4
1.2. Distribución mundial de reservas probadas de petróleo: 1997; 2007 y 2017. Total expresado en miles de millones de barriles. Imagen adaptada de [3] . .	5
1.3. Efectos de la contaminación generada por el uso de combustibles fósiles. Imágenes tomadas de National Geographic (https://www.nationalgeographic.org/)	6
2.1. Esquema de las principales energías renovables.	10
2.2. Captura y liberación de energía solar por la Tierra. Imagen modificada de [3]	12
2.3. Funcionamiento de una central de energía mareomotriz. Imagen tomada de [1]	13
2.4. Procesos de conversión de biomasa: Clasificación y principales productos. .	15
2.5. Clasificación de la biomasa según su origen. Adaptado de [12]	16
2.6. Cultivo de algas mediante estanques abiertos y fotobiorreactores.	20
3.1. Metodologías de prensado y fermentación.	27
5.1. <i>Pithophora sp.</i> (Ph).	39
5.2. <i>Spirulina</i> (Sp)	40
5.3. <i>Botryococcus braunii</i> (Bb)	41
5.4. Esquema del equipo empleado en pirólisis rápida.	42
5.5. a) Patrones de XRD de muestras sintetizadas con diferentes tiempos de tratamiento hidrotermal del gel a 100 °C; b) Espectros FT-IR del catalizador mesoporoso luego de la desorción de piridina a diferentes temperaturas. . . .	44
5.6. Imágenes SEM de la morfología de los catalizadores mesoporosos con dominios zeolíticos.	45
5.7. Estructura del catalizador Pirocloro	46
5.8. Diagramas de XRD del precursor KSbTeO_6 (a), y después del cambio iónico de K^+ por H_3O^+ (b), refinados por el método Rietveld en el grupo espacial cúbico $\text{Fd}\bar{3}m$	46
5.9. Desorción de NH_3 a temperatura programada sobre $(\text{H}_3\text{O})\text{SbTeO}_6$	47
6.1. Cromatograma del bio-líquido de pirólisis de Ph obtenido a 600 °C	55

LISTA DE FIGURAS

6.2. Estructuras de los compuestos más relevantes encontrados en los bio-líquidos de Ph	55
6.3. Cromatograma del bio-líquido de Sp recuperado a 600 °C	58
6.4. Estructuras y porcentajes relativos de los compuestos más relevantes encontrados en los bio-líquidos de Sp	59
6.5. Cromatograma del bio-líquido de Bb recuperado a 500 °C	61
6.6. Estructuras de los compuestos más relevantes encontrados en los bio-líquidos de Bb	61
6.7. Efecto del tiempo en el rendimiento de productos en la pirólisis de Bb	62
6.8. Efecto de la masa pirolizada de Bb en el rendimiento de productos.	63
6.9. Cromatogramas obtenidos de los bio-líquidos de pirólisis no catalítica y catalítica de Bb	66
6.10. Cromatogramas de los líquidos obtenidos mediante extracción con hexano y acetato de etilo de Bb	67
7.1. Esquemas de las reacciones no catalíticas y catalíticas en sistema estático: a) Abierto, y b) Cerrado	78
7.2. Método DPPH aplicado a los bio-líquidos de pirólisis.	81
7.3. Industrias lácteas en Argentina.	85
8.1. Cromatogramas obtenidos en el proceso de mejoramiento del bio-líquido obtenido en la pirólisis de Bb	100
8.2. Efectos de las sustancias extraíbles con agua de BC-Sp sobre la germinación y el crecimiento de raíz y tallo de <i>L. sativa</i>	104
8.3. Efectos de las sustancias extraíbles con agua de BC-CM sobre la germinación y el crecimiento de raíz y tallo de <i>L. sativa</i>	105
8.4. Efectos de las sustancias extraíbles con agua de BC-CG sobre la germinación y el crecimiento de raíz y tallo de <i>L. sativa</i>	106
8.5. Isoterma de adsorción de AL sobre BC-Sp	107
8.6. Imágenes SEM de: a) BC-Sp y b) BC-KOH	108
8.7. Isotermas de adsorción de BSA en bio-carbones de Sp : a) BC-Sp a pH = 7,4; b) BC-Sp a pH = 4,5 y c) BC-KOH a pH = 7,4.	109
8.8. Imágenes SEM de los bio-carbones evaluados: a) BC-Sp , b) BC-KOH , c) BC-350 y d) BC-400	114
8.9. Espectros IR de los bio-carbones evaluados.	115
A.1. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Ph a 300 °C.	131
A.2. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Ph a 400 °C.	132

A.3. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Ph a 500 °C.	132
A.4. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Ph a 600 °C.	133
A.5. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Sp a 300 °C.	133
A.6. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Sp a 400 °C.	134
A.7. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Sp a 500 °C.	135
A.8. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Sp a 600 °C.	136
A.9. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Bb a 300 °C.	137
A.10. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Bb a 400 °C.	138
A.11. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Bb a 500 °C.	139
A.12. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Bb a 600 °C.	140
A.13. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Bb a 500 °C durante 10 minutos.	142
A.14. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Bb a 500 °C durante 30 minutos.	144
A.15. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Bb a 500 °C con 1 g de biomasa.	146
A.16. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Bb a 500 °C con 3 g de biomasa.	148
A.17. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Bb a 500 °C con 5 g de biomasa.	151
A.18. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Bb a 300 °C con el catalizador tipo mesoporoso	153
A.19. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Bb a 400 °C con el catalizador tipo mesoporoso	154
A.20. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Bb a 500 °C con el catalizador tipo mesoporoso	155
A.21. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Bb a 300 °C con el catalizador tipo pirocloro	156
A.22. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Bb a 400 °C con el catalizador tipo pirocloro	158

LISTA DE FIGURAS

A.23. Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de Bb a 500 °C con el catalizador tipo pirocloro	159
A.24. Perfil cromatográfico del líquido obtenido en la extracción con solventes de Bb . Condiciones: Hexano - 10 mL - 5 min	161
A.25. Perfil cromatográfico del líquido obtenido en la extracción con solventes de Bb . Condiciones: Hexano - 20 mL - 5 min	162
A.26. Perfil cromatográfico del líquido obtenido en la extracción con solventes de Bb . Condiciones: Hexano - 10 mL - 10 min	162
A.27. Perfil cromatográfico del líquido obtenido en la extracción con solventes de Bb . Condiciones: Hexano - 10 mL - 15 min	163
A.28. Perfil cromatográfico del líquido obtenido en la extracción con solventes de Bb . Condiciones: Acetato de etilo - 10 mL - 10 min	164
A.29. Perfil cromatográfico del líquido obtenido en la pirólisis rápida de CG a 350 °C	164
A.30. Perfil cromatográfico del líquido obtenido en la pirólisis rápida de PK a 350 °C	165
B.1. Curva de calibración de AL	167
B.2. Espectro de RMN del AL utilizado en los experimentos de adsorción.	168
B.3. Curva de calibración de BSA a pH=7,4 para BC-Sp	169
B.4. Curva de calibración de BSA a pH=4,5 para BC-Sp	169
B.5. Curva de calibración de BSA a pH=7,4 para BC-KOH	169

Lista de Tablas

3.1. Tipos de pirólisis según condiciones de reacción y rendimientos	30
6.1. Resultados de la caracterización de Ph	53
6.2. Porcentajes relativos de los productos de pirólisis de Ph a distintas temperaturas	54
6.3. Porcentajes de los compuestos relevantes de Ph	56
6.4. Resultados de la caracterización de Sp	57
6.5. Porcentajes relativos de los productos de pirólisis de Sp a diferentes tempe- raturas	57
6.6. Porcentajes de los compuestos relevantes de Sp	58
6.7. Resultados de la caracterización de Bb	60
6.8. Porcentajes relativos de los productos de pirólisis de Bb	60
6.9. Análisis elemental e índice HHV de los bio-líquidos (BL) de Bb	64
6.10. Efecto de catalizadores en la producción del bio-líquido en la pirólisis de Bb	65
6.11. Condiciones experimentales y resultados obtenidos en la extracción con sol- ventes de Bb	67
6.12. Condiciones experimentales y resultados obtenidos en la extracción con sol- ventes asistida por MO de Bb	68
6.13. Cuadro comparativo de las metodologías de tratamiento de biomasa estudiadas	69
7.1. Experimentos de adsorción de AL sobre BC-Sp	86
7.2. Experimentos de adsorción de BSA sobre bio-carbones derivados de Sp	87
8.1. Inhibición del crecimiento de especies de hongos por los bio-líquidos obtenidos de la pirólisis rápida de Spirulina (Sp), pulpa de papel Kraft (PK), cáscara de girasol (CG) y cáscara de maní (CM)	101
8.2. Actividad antioxidante de bio-líquidos de pirólisis y Trolox en el ensayo DPPH.	102
8.3. Análisis elemental de los bio-carbones provenientes de la pirólisis de Sp , CG y CM	104
8.4. Parámetros de las isothermas de Langmuir y Freundlich correspondiente a la adsorción de AL.	108
8.5. Parámetros de las isothermas de Langmuir y Freundlich de la adsorción de BSA.	110
8.6. Caracterización del caldo de fermentación bacteriana	111

LISTA DE TABLAS

8.7. Valores obtenidos aplicando el tratamiento de purificación por filtrado al vacío con BC-Sp y BC-CAC	112
8.8. Purificación de caldo de fermentación mediante agitación	113
8.9. Asignación de picos de los Espectros IR	116
A.1. Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de Ph a 300 °C.	131
A.2. Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de Ph a 400 °C	132
A.3. Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de Ph a 500 °C	132
A.4. Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de Ph a 600 °C	133
A.5. Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de Sp a 300 °C	134
A.6. Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de Sp a 400 °C	134
A.7. Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de Sp a 500 °C	135
A.8. Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de Sp a 600 °C	136
A.9. Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de Bb a 300 °C	137
A.10. Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de Bb a 400 °C	138
A.11. Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de Bb a 500 °C	139
A.12. Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de Bb a 600 °C	140
A.13. Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de Bb a 500 °C durante 10 minutos	142
A.14. Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de Bb a 500 °C durante 30 minutos	144
A.15. Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de Bb a 500 °C con 1 g de biomasa	146
A.16. Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de Bb a 500 °C con 3 g de biomasa	148
A.17. Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de Bb a 500 °C con 5 g de biomasa	151

A.18.Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida catalítica de Bb a 300 °C con el catalizador tipo mesoporoso	153
A.19.Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida catalítica de Bb a 400 °C con el catalizador tipo mesoporoso	154
A.20.Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida catalítica de Bb a 500 °C con el catalizador tipo zeolítico	155
A.21.Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida catalítica de Bb a 300 °C con el catalizador tipo pirocloro	156
A.22.Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida catalítica de Bb a 400 °C con el catalizador tipo pirocloro	158
A.23.Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida catalítica de Bb a 500 °C con el catalizador tipo pirocloro	159
A.24.Principales productos obtenidos en la extracción con solventes de Bb . Condiciones: Hexano - 10 mL - 5 min	161
A.25.Principales productos obtenidos en la extracción con solventes de Bb . Condiciones: Hexano - 20 mL - 5 min	162
A.26.Principales productos obtenidos en la extracción con solventes de Bb . Condiciones: Hexano - 10 mL - 10 min	163
A.27.Principales productos obtenidos en la extracción con solventes de Bb . Condiciones: Hexano - 10 mL - 15 min	163
A.28.Principales productos obtenidos en la extracción con solventes de Bb . Condiciones: Acetato de etilo - 10 mL - 10 min	164
A.29.Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de CG a 350 °C	165
A.30.Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de PK a 350 °C	165

Lista de símbolos

Abreviaturas

Abreviatura	Significado
AL	Ácido Láctico
ANOVA	<i>Analysis of variance</i> (Análisis de la varianza)
AOAC	<i>Association of Official Agricultural Chemists</i>
Bb	<i>Botriococcus braunii</i>
BC	Bio-carbón
BL	Bio-líquido
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i> (Albúmina de suero bovino)
CG	Cáscara de girasol
CG-EM	Cromatografía Gaseosa acoplada a Espectrometría de Masas
CM	Cáscara de maní
COV	Compuestos orgánicos volátiles
DA	Digestión anaeróbica
DE	Desviación Estándar
DGCs	<i>Discontinuous gas exchange</i>
DME	Dimetil éter
DMSO	Dimetil sulfóxido
DPPH	2,2-Difenil-1-picrilhidracilo
DTS	Azufre total disuelto
EMAG	Éster metílico de ácido graso
ERAL	Eficiencia de recuperación de AL
ERP	Eficiencia de remoción de proteínas
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
FAP	Ftalato ácido de potasio
FT-IR	<i>Fourier-Transform Infrared Spectroscopy</i> (Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier)
GEI	Gases de Efecto Invernadero
HAP	Hidrocarburos aromáticos policíclicos
HHV	<i>High Heating Value</i> (Poder calorífico)

LISTA DE TABLAS

HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Presión
IC ₅₀	Concentración inhibitoria media
IEA	<i>International Bioenergy Agency</i>
IPCC	<i>Intergovernmental Panel on Climate Change</i> (Panel Intergubernamental sobre el Cambio Climático)
IR	Infrarrojo
LED	<i>Light-Emitting Diode</i> (Diodo emisor de luz)
LFT	Líquidos refinados Fischer-Tropsch
MO	Microondas
PDA	<i>Potato Dextrose Agar</i> (Agar de dextrosa y papa)
Ph	<i>Phitophora sp.</i>
pI	Punto isoeléctrico
PK	Pulpa de papel Kraft
PLA	<i>Polylactic Acid</i> (Ácido poliláctico)
REML	<i>Restricted Maximum Likelihood</i>
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de protón
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i> (Especies reactivas de oxígeno)
rpm	Revoluciones por minuto
RSE	Reonancia de Spin Electrónico
SEM	<i>Scanning Electron Microscopy</i> (Microscopía Electrónica de Barrido)
Sp	<i>Arthrospira platensis - Spirulina</i>
TMP	2,2,6,6-tetrametil-4-piperidona
TPD	<i>Temperature-Programmed Desorption</i> (Desorción a temperatura programada)
tr	Tiempo de retención
UV	Ultravioleta
XRD	<i>X-Ray Diffraction</i> (Difracción de Rayos X)

Parte I.

Introducción y objetivos

Capítulo 1

Matriz energética mundial: presente y futuro

1.1. Los combustibles fósiles, su producción y consumo mundial

La energía es un componente indispensable de la sociedad. Nuestra sociedad moderna depende de la energía para prácticamente todo, desde aplicaciones domésticas, iluminación, transporte, comunicación, calentamiento o enfriamiento, hasta procesos industriales para el suministro de productos básicos para nuestras necesidades diarias. En el último siglo, los combustibles fósiles han sido el soporte del crecimiento de la sociedad[1].

Una fuente de energía que, en comparación con la escala de tiempo humana, no se reemplaza o se reemplaza muy lentamente por procesos naturales, se llama fuente de energía no renovable. Los combustibles fósiles, el petróleo, el gas natural y el carbón son los principales ejemplos de recursos energéticos no renovables, en los cuales la tasa de su producción es extremadamente lenta[2].

- **Petróleo:** se acumula en forma fluida entre las capas de la corteza terrestre. Se recupera perforando el suelo y extrayendo el líquido. Luego, se refina y se usa para generar electricidad, plásticos, saborizantes artificiales para alimentos, combustible para calefacción, gasolina, diesel, combustible para aviones y propano, entre otros.
- **Gas natural:** Los gases naturales se congregan debajo de la corteza terrestre y, como el petróleo, deben perforarse y bombearse. El metano y el etano son los más frecuentes y se usan generalmente para calefacción y transporte.
- **Carbón:** es uno de los principales combustibles fósiles, es creado por materia orgánica compactada similar a la roca sólida y se obtiene por la minería.

1. Matriz energética mundial: presente y futuro

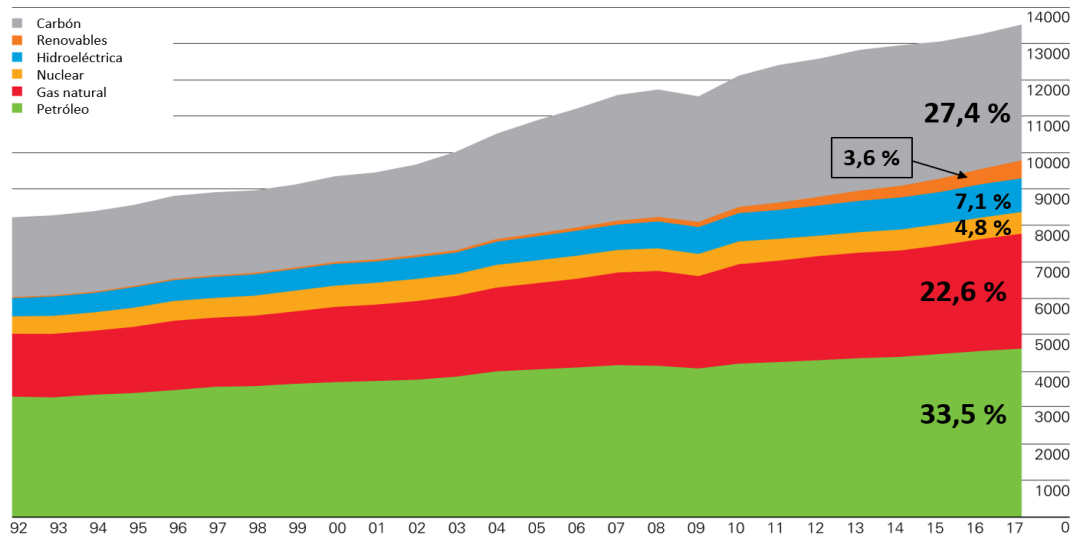


Figura 1.1.: Consumo mundial de energía primaria desde 1992 hasta la actualidad, en millones de toneladas de petróleo equivalente. Imagen adaptada de [3]

La creciente industrialización y motorización del mundo ha llevado a un fuerte aumento de la demanda de combustibles fósiles derivados principalmente del petróleo. Hoy en día, los combustibles fósiles ocupan más del 80% de la energía primaria consumida en el mundo (Figura 1.1), de los cuales sólo el 58% es consumido por el sector del transporte[3, 4]. Estos combustibles actualmente se consumen sin reemplazo, creando un mercado volátil con precios cada vez más altos. Esto causó el agotamiento gradual de los reservorios de petróleo accesibles del mundo y, las empresas no logran encontrar nuevas reservas de petróleo suficientes para satisfacer las necesidades futuras. Este fenómeno, conocido como *Peak-Oil*, fue propuesto por Hubbert en 1949, basado en la velocidad de producción y consumo de combustibles fósiles y en el crecimiento poblacional. Actualmente, la mayoría de los productores de petróleo están invirtiendo en proyectos más costosos, que necesitan perforar en lugares remotos y más profundos para obtener petróleo[5, 6].

Además, las reservas mundiales de petróleo se distribuyen de manera extremadamente irregular. Solo algunas áreas tienen características geológicas excepcionales que permitieron la formación y la acumulación de cantidades significativas de estos derivados. Así, Medio Oriente concentra alrededor del 48% de las reservas mundiales (Figura 1.2).

1.2. Efectos adversos sobre el ambiente: contaminación y cambio climático

Cuando se produce la transformación de combustibles fósiles en energía, los productos de desecho gaseosos (CO_2 , agua y gases tóxicos) son expulsados irreversiblemente a la

1.2. Efectos adversos sobre el ambiente: contaminación y cambio climático

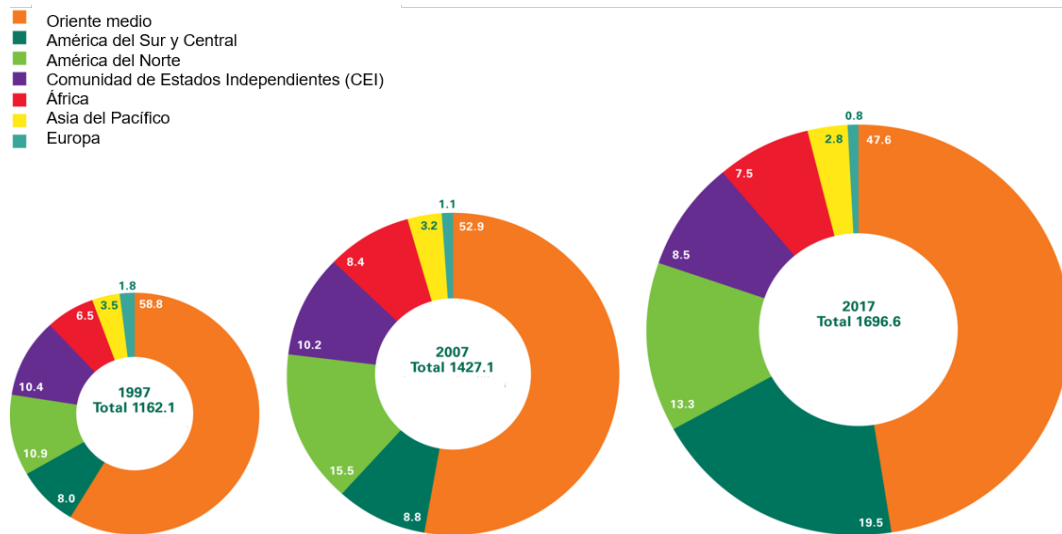


Figura 1.2.: Distribución mundial de reservas probadas de petróleo: 1997; 2007 y 2017. Total expresado en miles de millones de barriles. Imagen adaptada de [3]

atmósfera. Si los combustibles fósiles estuvieran compuestos 100% de carbono e hidrógeno puros y todos los procesos de combustión operaran con una eficiencia del 100%, no habría gases tóxicos. Estos gases tóxicos que se generan por su uso contaminan el aire, generando dos fenómenos atmosféricos particulares: el smog y la lluvia ácida.

El smog se produce por la reacción de productos de combustión incompleta con otras sustancias naturales y artificiales en la atmósfera. A las altas temperaturas generadas por el proceso de combustión, el O_2 y el N_2 atmosféricos reaccionan para formar óxidos de nitrógeno (NO_x), que son venenosos y contribuyen a las reacciones químicas que generan smog. Algunos de los productos de combustión de las impurezas del combustible como el dióxido de azufre (SO_2), y los productos de la combustión incompleta de hidrocarburos, tales como ácidos orgánicos, alquenos, etileno, etano, etc.; también están involucrados en la producción de smog. Irrita los ojos, daña los pulmones, puede ser un factor sinérgico en las enfermedades pulmonares y cardiovasculares, retrasa el crecimiento o mata las plantas y daña o tiñe edificios, puentes y monumentos[7].

El SO_2 y los NO_x producidos por la combustión de hidrocarburos reaccionan con el oxígeno y el agua en el aire para producir ácido sulfúrico y nítrico. Estos ácidos se disuelven y hacen que la lluvia sea ácida. La lluvia ácida cae sobre las plantas causando daños directos. Cuando cae en suelos con una baja capacidad para neutralizar el ácido, se escurre en arroyos y lagos que matan a las plantas y animales. La lluvia ácida que fluye sobre y a través del suelo disuelve metales como el aluminio y el zinc, sumándose a los efectos tóxicos del drenaje de lluvia ácida[7].

Los derrames de hidrocarburos también son ejemplos de contaminación proveniente de la manipulación de estos combustibles. Los derrames son liberaciones de hidrocarburos líqui-

1. Matriz energética mundial: presente y futuro

dos del petróleo en el océano, en zonas costeras, cursos de agua dulce y sobre la superficie de la tierra, debido a actividades humanas. Incluyen las liberaciones desde petroleros, plataformas marinas, plataformas de perforación y pozos; derrames de productos refinados de petróleo (como gasolina y diesel) y sus derivados; combustibles más pesados como el combustible búnker; y los derrames de cualquier residuo blanco aceitoso o aceite de desecho también. Los derrames pueden ocurrir por muchas razones a lo largo de los procesos de exploración, extracción y transporte, como sobrepresión, falla mecánica, corrosión de la tubería, colisión del barco, entre otros. El impacto ecológico de estos derrames es enorme, afectando directamente la vida de los seres vivos del ecosistema en todos sus niveles, además de contaminar cursos de agua y extensiones de tierra que, debido al grado de contaminación, no pueden ser aprovechados[8].



Figura 1.3.: Efectos de la contaminación generada por el uso de combustibles fósiles. Imágenes tomadas de National Geographic (<https://www.nationalgeographic.org/>)

Los cambios climáticos se producen como resultado de la variabilidad intrínseca de los sistemas climáticos y de la acción de factores externos, ya sean naturales o antropogénicos. Las emisiones de gases de efecto invernadero tienden a elevar la temperatura del planeta en exceso. El informe del 4 ° Panel Intergubernamental sobre el Cambio Climático (IPCC por sus siglas en inglés) reconoce que el calentamiento global es el resultado neto de las actividades humanas[9]. Uno de los gases de efecto invernadero más importantes es el CO_2 que, como ya mencionamos anteriormente, se genera como producto de cualquier combustión de materia orgánica. En los últimos 200 años, los niveles de CO_2 en la atmósfera aumentaron de aproximadamente 280 partes por millón (ppm) a aproximadamente 400 ppm. Este aumento

1.2. Efectos adversos sobre el ambiente: contaminación y cambio climático

es causado principalmente por el uso insostenible de los combustibles fósiles y los cambios en el uso de la tierra. La variación esperada con respecto al clima incluye cambios en la intensidad y en la distribución de las precipitaciones, la elevación del nivel de los océanos y un aumento creciente en la frecuencia e intensidad de los fenómenos climáticos extremos[10, 11].

1.3. Bibliografía

- [1] S. K. Khanal, R. Y. Surampalli, T. C. Zhang, B. P. Lamsal, R. D. Tyagi, and C. M. Kao. *Bioenergy and Biofuel from Biowastes and Biomass*. American Society of Civil Engineers, 2010.
- [2] Vikas Khare, Cheshta Khare, Savita Nema, and Prashant Baredar. Chapter 1 - Introduction to Energy Sources. In Vikas Khare, Cheshta Khare, Savita Nema, and Prashant Baredar, editors, *Tidal Energy Systems*, pages 1–39. Elsevier, 2019.
- [3] BP Statistical Review of World Energy - June 2018. Technical report, BP p.l.c, London, UK, 2018.
- [4] P. S. Nigam and A. Singh. Production of liquid biofuels from renewable resources. *Progress in Energy and Combustion Science*, 37(1):52–68, 2011.
- [5] K. Jacobson, K. C. Maheria, and A. Kumar Dalai. Bio-oil valorization: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 23:91–106, 2013.
- [6] M. K. Hubbert. Energy from Fossil Fuels. *Science*, 109(2823):103–109, 1949.
- [7] L. O Williams. Chapter 1 - Fossil fuels. In Laurence O Williams, editor, *An End to Global Warming*, pages 1–31. Pergamon, Oxford, 2002.
- [8] B. Zhang, E. J. Matchinski, B. Chen, X. Ye, L. Jing, and K. Lee. *Marine Oil Spills—Oil Pollution, Sources and Effects*. Elsevier Ltd., second edition, 2019.
- [9] Working Group I Contribution. Climate Change 2007 - The Physical Science Basis. Technical report, Intergovernmental Panel on Climate Change, 2007.
- [10] J. C. Escobar, E. S. Lora, O. J. Venturini, E. E. Yáñez, E. F. Castillo, and O. Almazan. Biofuels: Environment, technology and food security. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 13(6-7):1275–1287, 2009.
- [11] B. F. Towler. *The Future of Energy*. Academic Press, first edition, 2014.

Capítulo 2

Recursos renovables como alternativa sustentable

2.1. Clasificación de las energías renovables

Existe una creciente concientización a nivel mundial en lo que se refiere a la problemática energética, debido fundamentalmente a:

- La gran dependencia energética del exterior de los países industrializados,
- El agotamiento y encarecimiento de los recursos energéticos fósiles,
- Los recientes descubrimientos sobre el origen antropogénico del cambio climático.

En este contexto, cobran importancia las energías provenientes de fuentes renovables. Las energías renovables son aquellas que se producen de forma continua y son inagotables a escala humana; se renuevan continuamente, a diferencia de los combustibles fósiles, que existen en cantidades finitas, agotables en un plazo más o menos determinado. Las principales formas de energías renovables que existen son: la hidráulica, eólica, solar, geotérmica, las energías oceánicas y la biomasa (Figura 2.1)[1].

2.1.1. Energía hidráulica

La energía hidráulica es la que resulta de la potencia del agua que se mueve o cae rápidamente. El uso de la energía hidráulica fue registrado hace 2000 años por los griegos que utilizaban ruedas hidráulicas para convertir la fuerza del agua en trabajo mecánico en la molienda de trigo[2].

En la actualidad, la energía hidráulica se utiliza fundamentalmente para producir electricidad en las denominadas centrales hidroeléctricas. El agua, retenida en un embalse o presa, se deja caer por una tubería, a cuya salida se coloca una turbina, el eje de la cual

2. Recursos renovables como alternativa sustentable

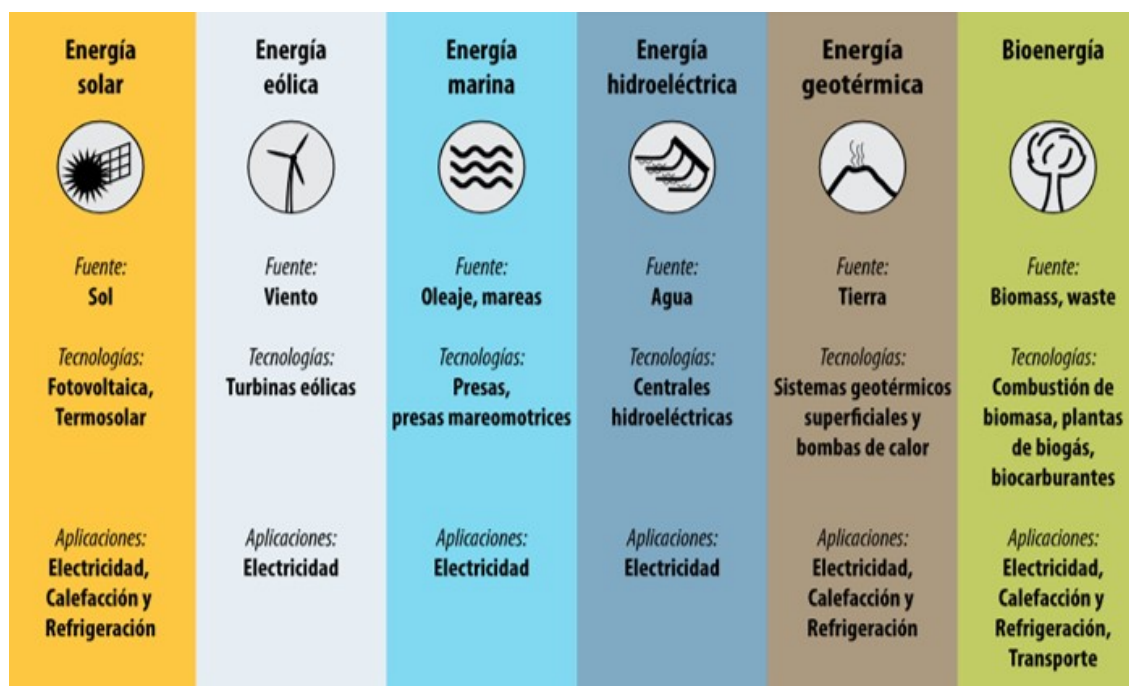


Figura 2.1.: Esquema de las principales energías renovables.

comienza a girar al caer al agua; este giro pone en marcha el generador eléctrico obteniéndose así la electricidad. Una de las grandes ventajas de la producción de electricidad con energía hidráulica es que puede ser constante y previsible, al contrario que la gran mayoría de las renovables y, por lo tanto, se puede utilizar para satisfacer la demanda eléctrica base[1].

Con el desarrollo de grandes plantas de generación hidroeléctrica, su uso se expandió enormemente y ahora se ha convertido en la quinta fuente de energía principal. Si bien, dentro de este *ranking*, es claramente la fuente de electricidad más limpia y barata, solo se puede desarrollar donde las represas son posibles, limitando su uso[3].

2.1.2. Energía eólica

Los sistemas de conversión de energía eólica convierten la energía cinética del viento en electricidad u otras formas de energía. La generación de energía eólica ha tenido una maravillosa expansión en la última década, y ha sido reconocida como un medio de producción de energía eléctrica respetuoso con el medio ambiente y económicamente dinámico[4].

La energía eólica es un derivado de la energía solar. El viento es causado por la diferencia en la presión debido al calor del sol. La radiación solar calienta tanto la tierra como las masas de agua en la Tierra. Sin embargo, el calentamiento no es uniforme y tampoco a la misma velocidad. La superficie de la tierra se vuelve más cálida durante el día y se vuelve más fría en las noches. Como consecuencia de esto, el aire sobre la superficie de la tierra se calienta y se enfría a velocidades variables. El diferencial de presión así producido hace que el aire se

mueva como viento produciendo energía cinética, la cual es convertida en energía mediante turbinas eólicas[5]

La energía eólica es la de más rápido crecimiento de las nuevas tecnologías renovables. La mayoría de los aerogeneradores están instalados en tierra, pero hay una pequeña pero creciente capacidad en alta mar. Los parques eólicos, que comprenden matrices de aerogeneradores, pueden cubrir un área grande, pero normalmente están diseñados para que la tierra debajo de ellos aún pueda ser utilizada para la agricultura[6].

El principal inconveniente de la energía eólica es su intermitencia, ya que su potencia depende de la existencia del viento y varía según la velocidad del viento. Otra desventaja es la gran distancia entre los parques eólicos y las redes eléctricas, que requiere la construcción de nuevas líneas eléctricas de alto voltaje. Sin embargo, la energía eólica es una fuente de energía libre y renovable, y su capacidad aumenta enormemente año tras año[2].

2.1.3. Energía solar

La energía solar puede definirse como la energía electromagnética que se libera del sol. La cantidad de energía solar que llega a la Tierra es muy pequeña en comparación con la inmensa cantidad de energía que se crea dentro del sol[2]. La energía del sol se desplaza a través del espacio en forma de radiación electromagnética, llegando una parte de esta energía a la atmósfera. De esta energía que llega a la atmósfera, una parte es absorbida por la atmósfera y por el suelo, y otra parte es reflejada directamente al espacio (Figura 2.2). Es por esto por lo que menos de la mitad de la radiación solar llega efectivamente a la superficie terrestre, siendo esta parte la que podemos utilizar con fines energéticos en nuestro planeta[1].

La energía solar se puede utilizar de dos maneras: energía solar fotovoltaica y energía solar térmica. El principio básico de funcionamiento de un sistema solar térmico es sencillo: la radiación solar se capta mediante un captador solar, también denominado colector solar, y el calor se transfiere a un fluido (generalmente agua o aire). El fluido calentado se puede usar directamente o indirectamente mediante un intercambiador de calor (por ejemplo, en el caso de la calefacción de una habitación). En cambio, la energía solar fotovoltaica utiliza la radiación solar para producir electricidad para uso doméstico, comercial e industrial. La energía solar se puede transformar directamente en electricidad mediante células fotovoltaicas conectadas entre sí formando un panel o módulo fotovoltaico. Este proceso se basa en la aplicación del efecto fotovoltaico, que se produce al incidir la luz sobre materiales semiconductores; de esta manera se genera un flujo de electrones en el interior del material que puede ser aprovechado para obtener energía eléctrica[1].

Las plantas de energía solar a escala de servicios públicos son físicamente intrusivas, ya que necesitan recolectar energía solar en un área grande. Sin embargo, los paneles solares también pueden instalarse en los techos de las viviendas y edificios donde tienen poco impacto ambiental y rara vez son intrusivos. Por otro lado, la energía solar es intermitente y no está

2. Recursos renovables como alternativa sustentable

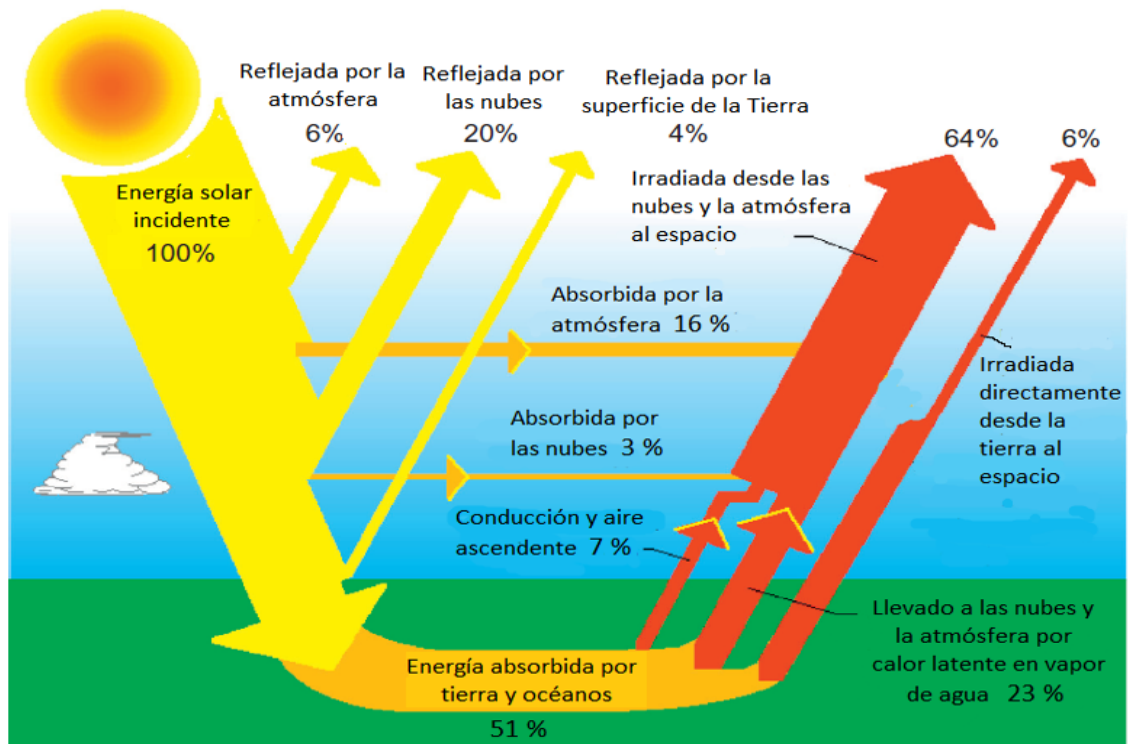


Figura 2.2.: Captura y liberación de energía solar por la Tierra. Imagen modificada de [3]

disponible las 24 h del día, por lo cual se requiere de dispositivos para almacenar la energía producida para su utilización de acuerdo a la demanda[6, 7].

2.1.4. Energía geotérmica

La energía geotérmica es la energía que proviene del calor desde el interior de la Tierra. La mayoría de las fuentes de energía utilizadas en la Tierra, provienen directa o indirectamente de la acción del sol. La energía geotérmica es diferente; se origina en procesos que ocurren dentro de la Tierra. Esta energía se puede recuperar como vapor o agua caliente y luego se puede utilizar para calentar edificios o generar electricidad. La energía geotérmica se puede clasificar como una fuente de energía renovable porque la energía se produce continuamente dentro de la Tierra debido a la descomposición radiactiva de elementos como el uranio, el radio, el torio y el potasio. Esto produce temperaturas suficientemente altas como para mantener gran parte del núcleo interior de la Tierra en un estado fundido[3].

La energía geotérmica está disponible principalmente en áreas cercanas al Anillo de Fuego, donde se encuentran las placas tectónicas de la Tierra. A diferencia de otras energías renovables, la geotérmica es más valiosa ya que tiene una alta densidad energética y está disponible continuamente. Pero a diferencia de los combustibles fósiles como el petróleo, el gas y el carbón, no se puede exportar o transportar a grandes distancias. Debe utilizarse *in*

situ para utilizar su calor directamente o para producir electricidad[8].

2.1.5. Energías oceánicas: las mareas y las olas

Los océanos componen aproximadamente el 70 % de la superficie terrestre. Cualquier energía que pueda obtenerse de océanos o ubicaciones marinas se llama energía oceánica. La energía del océano está relacionada con dos fenómenos principales: la rotación de la tierra, que genera el viento en la superficie del océano que conduce a la formación de las olas; y la fuerza gravitacional de la luna que afecta a las mareas[2].

La energía proveniente de las mareas, también llamada mareomotriz, utiliza la diferencia entre las mareas para generar electricidad. Para un aprovechamiento rentable es necesario que la diferencia entre marea alta y baja sea, al menos, de 5 metros. Se obtiene en una central eléctrica con una barrera que atrapa el agua de las mareas y la utiliza para impulsar turbinas (Figura 2.3) [6, 1].

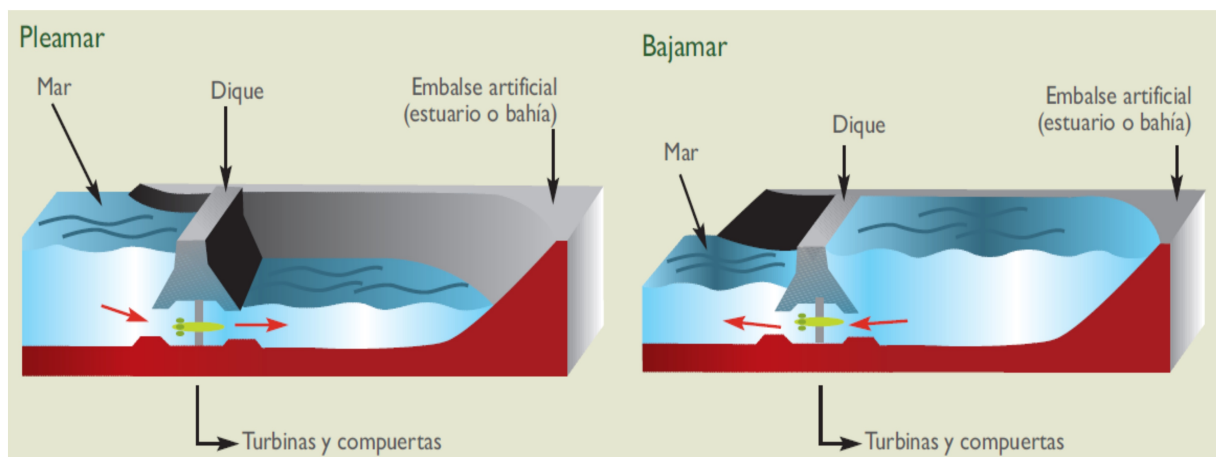


Figura 2.3.: Funcionamiento de una central de energía mareomotriz. Imagen tomada de [1]

El oleaje es otra fuente de energía oceánica que alberga un gran potencial generador de energía. El viento soplando sobre la superficie del mar puede producir olas de más de 20 metros de altura. La energía cinética contenida en el movimiento de las olas puede transformarse en electricidad de distintas formas. Desafortunadamente, así como el viento y el sol, la energía obtenida de las olas es intermitente, ya que depende de la presencia de vientos. Además, sólo puede ser aprovechada en regiones donde el oleaje sea considerablemente fuerte, con instalaciones adecuadas capaces de soportar éste, e incluso oleajes en climas muy duros[4].

2.1.6. Energía proveniente de la biomasa

Biomasa se define como todo material orgánico no fosilizado y biodegradable que proviene de plantas, animales y microorganismos. Esto también incluye productos, subproductos, residuos y desechos de la agricultura, silvicultura e industrias relacionadas, así como las fracciones orgánicas de desechos industriales y municipales. La biomasa también incluye gases y líquidos recuperados de la descomposición de material orgánico[9].

Una ventaja muy importante de la biomasa, que las demás energías renovables no poseen, es la posibilidad de ser transformada en biocombustible. Un biocombustible se define como un combustible líquido, sólido o gaseoso producido por la conversión de biomasa, como el bio-etanol de la caña de azúcar o el maíz, el carbón vegetal o las astillas de madera, y el biogás de la descomposición anaeróbica de desechos[10].

La biomasa se puede convertir en formas útiles de energía usando diversos procesos, como se muestra en la Figura 2.4. Los factores que influyen en la elección del proceso de conversión son: el tipo y la cantidad de biomasa, la forma deseada de la energía; es decir requisitos de uso final, estándares ambientales, condiciones económicas y factores específicos del proyecto. En muchas situaciones, es la forma en que se requiere la energía lo que determina la ruta del proceso, seguida de los tipos y cantidades disponibles de biomasa[11].

El uso de la biomasa tiene una serie de ventajas ambientales y económicas:

- Balance neutro de emisiones de CO₂ (principal gas responsable del efecto invernadero). La combustión de biomasa produce CO₂, pero una cantidad análoga a la que fue captada previamente por las plantas durante su fase de crecimiento, por lo que su combustión no supone un incremento neto de este gas en la atmósfera.
- La biomasa no contiene nada o casi nada de azufre, y por esto su combustión no contribuye a la lluvia ácida.
- Gran parte de la biomasa procede de residuos que hay que eliminar, y de ahí que su aprovechamiento haga desaparecer un problema medioambiental a la vez que convierte un residuo en un recurso.
- Favorece la sustitución parcial de los combustibles importados por otros producidos localmente.

El uso de la biomasa como fuente de energía puede desempeñar un papel fundamental para ayudar al mundo a reducir el impacto ambiental producido por la quema de combustibles fósiles para producir energía, e intentar resolver en parte, el inconveniente del agotamiento de las reservas de estos combustibles limitados[1].

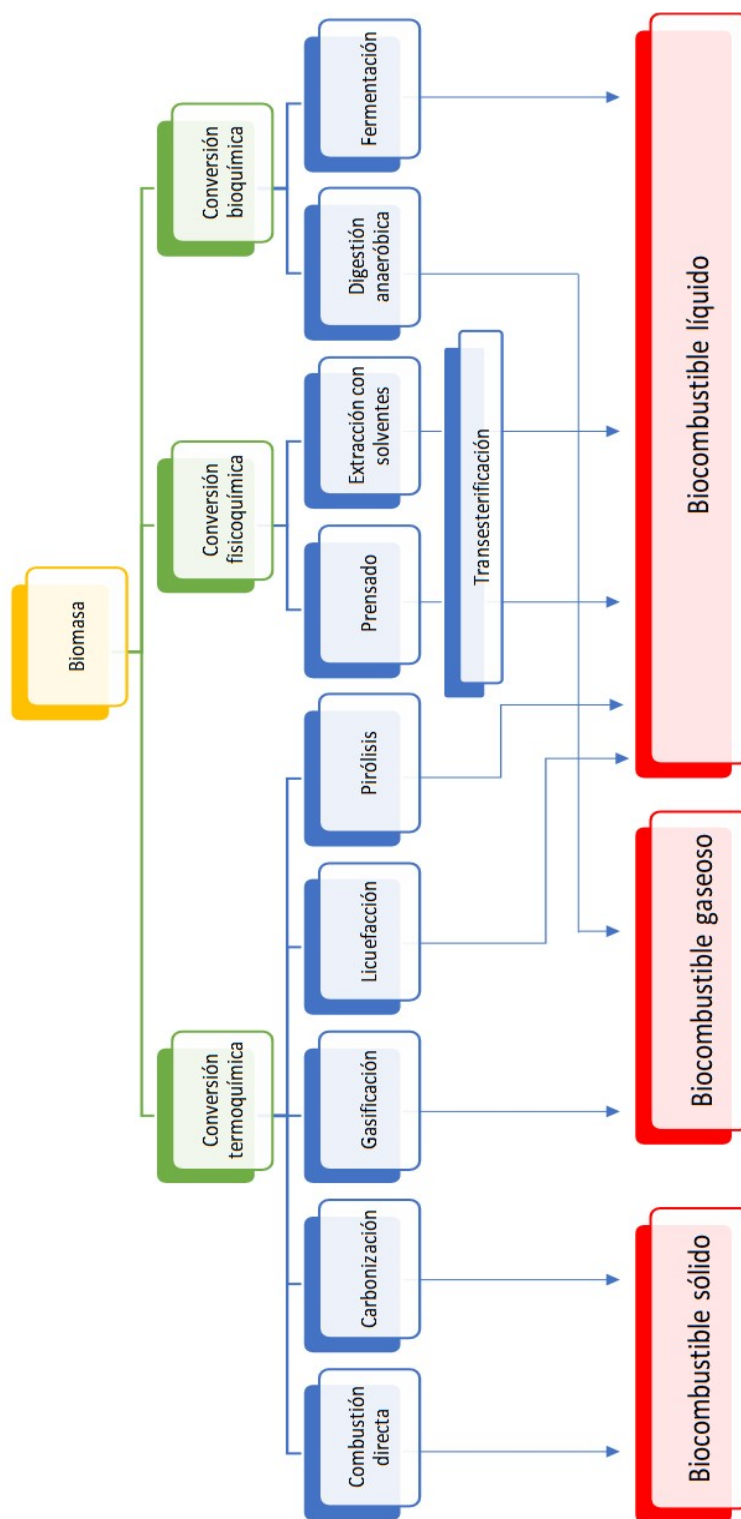


Figura 2.4.: Procesos de conversión de biomasa: Clasificación y principales productos.

2.2. Biomasa: Clasificación y biocombustibles derivados

Como ya se mencionó anteriormente, existen diversos tipos de biomasa que, de acuerdo a sus origen, se pueden clasificar en cuatro grandes grupos: biomasa natural, biomasa seca, biomasa residual húmeda y cultivos energéticos (Figura 2.5).



Figura 2.5.: Clasificación de la biomasa según su origen. Adaptado de [12]

En general, la biomasa natural, y en algunos casos también la biomasa seca, permiten obtener los llamados biocombustibles primarios. Los biocombustibles primarios son biomasa natural y no procesada, como leña, aserrín de madera y *pellets*, y son principalmente aquellos en los que el material orgánico se utiliza esencialmente en su forma química natural y no modificada. Los combustibles primarios se queman directamente, generalmente para satisfacer las necesidades de producción de combustible para cocinar, calefaccionar o generar electricidad para aplicaciones industriales de pequeña y gran escala. Los combustibles secundarios son combustibles primarios modificados, que se han procesado y producido en forma de sólidos (por ejemplo, carbón vegetal), o líquidos (por ejemplo, bioetanol, biodiésel y biocombustible), o gases (por ejemplo, biogas, gas de síntesis e hidrógeno). Los combustibles secundarios se pueden obtener a partir de cualquiera de las biomásas mencionadas, y se pueden usar para múltiples rangos de aplicaciones, incluidos el transporte y los procesos industriales de alta temperatura[13].

Los biocombustibles líquidos han adquirido mayor relevancia y se están investigando

principalmente para reemplazar los combustibles líquidos convencionales (diésel y nafta). Una clasificación popularizada para los biocombustibles líquidos, cuya distinción principal está en la materia prima utilizada, incluye los biocombustibles de “primera generación”, de “segunda generación” y de “tercera generación”[13], detallados a continuación.

2.2.1. Primera generación: Biocombustibles derivados de cultivos alimenticios

Los biocombustibles líquidos de primera generación son líquidos que generalmente se producen a partir de azúcares, granos o semillas, y requieren un proceso relativamente simple para obtener el producto combustible terminado. El biocombustible de primera generación más conocido es el bioetanol, producido por la fermentación del azúcar y el almidón extraídos de cultivos. La caña de azúcar, la remolacha azucarera y el sorgo azucarado son ejemplos de materia prima rica en azúcares; mientras que el trigo, la cebada y el maíz son ejemplos de cultivos ricos en almidón[13, 14].

El biodiésel producido a partir de aceites vegetales de plantas oleaginosas por procesos de transesterificación, es otro biocombustible estudiado dentro de esta clasificación. La transesterificación puede utilizar catalizadores (alcalinos, ácidos o enzimáticos) y etanol o metanol para producir ácidos grasos (biodiésel) y glicerina como subproducto. Los cultivos ideales para la producción de este biocombustible son soja, colza, girasol, cardo, entre otras[13, 14].

Los combustibles de primera generación se producen en cantidades comerciales significativas en varios países, ya que durante la última década se ha implementado el “corte obligatorio” de nafta con bioetanol y de diésel con biodiésel, en distintas proporciones[15]. Sin embargo, su viabilidad de producción es cuestionable debido al conflicto con el suministro de alimentos. La rápida expansión de la producción mundial de biocombustibles a partir de cereales, azúcar y cultivos oleaginosos ha elevado el costo de ciertos cultivos y alimentos. Estas limitaciones favorecen la búsqueda de biomasa no comestible para la producción de biocombustibles alternativos[13].

2.2.2. Segunda generación: Biocombustibles a partir de cultivos no alimenticios y desechos de cultivos

La producción de biocombustibles de segunda generación utiliza generalmente materiales lignocelulósicos, como desechos de cultivos, gramíneas, biomasa forestal y residuos de aserraderos, como materia prima para la producción de biocombustibles líquidos. El material es pretratado, ya sea mediante procesos termoquímicos o bioquímicos en condiciones suaves, para su posterior transformación bioquímica[16].

Los biocombustibles de segunda generación pueden clasificarse adicionalmente en tér-

2. Recursos renovables como alternativa sustentable

minos del proceso o método utilizado para convertir la biomasa en combustible, es decir, bioquímico o termoquímico. Pocos biocombustibles de segunda generación, como el etanol y el butanol, se producen a través del proceso bioquímico, mientras que todos los otros combustibles de segunda generación se producen termoquímicamente. Muchos combustibles termoquímicos de segunda generación se producen actualmente a partir de combustibles fósiles. Estos combustibles termoquímicos incluyen metanol, líquidos refinados Fischer-Tropsch (LFT) y dimetil éter (DME). Los combustibles sin refinar (por ejemplo, los aceites de pirólisis) también se producen termoquímicamente, pero requieren una refinación adicional antes de que puedan ser utilizados en los motores[13].

La utilización de la biomasa total en la producción de biocombustibles de segunda generación proporciona una mejor eficiencia en el uso del suelo en comparación con los biocombustibles de primera generación. Además, el menor costo de los materiales de alimentación y el uso de biomasa no alimenticia favorecen la promoción de los biocombustibles de segunda generación[14].

2.2.3. Tercera generación: Biocombustibles provenientes de algas

La principal fuente de biomasa de esta generación son las microalgas. Actualmente, se considera como un recurso de energía renovable alternativa viable para la producción de biocombustibles, que ha logrado superar las desventajas de los biocombustibles de primera y segunda generación. Las microalgas pueden ser transformadas mediante las mismas tecnologías planteadas para los biocombustibles de segunda generación, permitiendo así proporcionar varios tipos de biocombustibles renovables, como gas de síntesis, combustibles sólidos, biodiesel y biohidrógeno [17, 18].

La selección de la tecnología de conversión correcta, es un paso clave para garantizar que la producción de biocombustibles sea económicamente viable y ambientalmente sostenible. Actualmente, la conversión termoquímica de la biomasa microalgal proporciona ventajas significativas en términos de simplicidad, menor tiempo de conversión y mayor productividad, respecto a la conversión bioquímica[19].

2.3. Las algas como potencial fuente de biocombustibles

Las microalgas son organismos unicelulares, microscópicos y fotosintéticos que se encuentran típicamente en los sistemas de agua dulce o marina. Estos organismos consumen tres componentes principales: la luz solar, el dióxido de carbono y el agua para producir cantidades significativas de lípidos, proteínas, carbohidratos y otros compuestos bioactivos en un corto período de tiempo. La biomasa de algas generalmente consiste en 9,5–42 % de lípidos, 17–57 % de carbohidratos y 20–50 % de proteínas (en peso seco) dependiendo de

2.3. Las algas como potencial fuente de biocombustibles

la especie; incluso algunas especies tienen un contenido de lípidos de hasta 80%. Existen numerosas ventajas de la biomasa proveniente de microalgas como materia prima para la producción de biocombustibles en comparación con la biomasa existente, como *Jatropha*, granos, caña de azúcar, semillas oleaginosas y maíz[19]. Éstos incluyen:

- Las microalgas son capaces de fijar altos niveles de CO₂ del medio ambiente. Pueden utilizar las emisiones de CO₂ de las centrales eléctricas y otras fuentes industriales para su crecimiento en un proceso de secuestro de CO₂[18, 20].
- Las microalgas pueden crecer en diferentes tipos de ambientes. No requieren recursos agrícolas tradicionales, ya que pueden cultivarse sin tierra y en agua de mar, dulce o en aguas residuales. También requieren menos volúmenes de agua para el cultivo en comparación con los cultivos terrestres[20].
- El mecanismo de fotosíntesis en microalgas es similar a otras plantas. Sin embargo, las microalgas poseen una mayor eficiencia energética, y pueden convertir más energía solar (aproximadamente del 4 al 7,5 %) durante el metabolismo celular, en comparación con el 0,5 % de los cultivos terrestres[21].
- Las microalgas tienen una alta tasa de crecimiento dentro de un período de tiempo corto en comparación con los cultivos terrestres, y podrían cosecharse durante todo el año. Se duplican en masa al convertir el dióxido de carbono y la luz solar en energía en 24 horas o menos[18].

Para su aplicación en la industria de los biocombustibles, es necesario cultivar las microalgas en grandes cantidades. Existen diferentes metodologías que se pueden implementar para cultivar las microalgas. Dos sistemas de cultivo ampliamente utilizados son los cultivos suspendidos, incluidos estanques abiertos, y reactores cerrados o fotobiorreactores (Figura 2.6). En sistemas abiertos de cultivo, las microalgas pueden moverse libremente en el medio de crecimiento, cuya superficie está en contacto directo con la atmósfera. En comparación con otras estrategias, los sistemas abiertos son más baratos y aseguran una producción masiva de microalgas. Están diseñados como estanques o en forma de canales, en los que el medio de crecimiento se mueve constantemente mediante dispositivos mecánicos (en general, ruedas de paletas). La radiación solar golpea la superficie del agua y una fracción de ésta penetra en el cultivo, lo que conduce a una correlación negativa entre la concentración de microalgas y la penetración de la luz. Es decir, mientras mayor cantidad de microalgas haya por volumen, menor será la capacidad de penetración de la luz solar. Esto último, y la facilidad con la que se pueden contaminar los estanques con otros microorganismos que pueden competir con las algas cultivadas, producen una disminución en la productividad. Los estanques deben mantenerse altamente alcalinos para evitar la contaminación, lo cual limita su explotación a solo unas pocas especies[10, 17, 22].

2. Recursos renovables como alternativa sustentable



Figura 2.6.: Cultivo de algas mediante estanques abiertos y fotobiorreactores.

Los fotobiorreactores son sistemas de cultivo de algas cerrados que fueron diseñados para superar las limitaciones de los sistemas de estanques abiertos. Tienen una mayor eficiencia y productividad de la biomasa, tiempos de cosecha más cortos, altos índices superficie/volumen, menores riesgos de contaminación y se pueden utilizar para cultivar una mayor variedad de especies de algas que en los sistemas abiertos. Sin embargo, su construcción es mucho más costosa[22]. Al igual que en los sistemas abiertos, las microalgas pueden moverse libremente en el medio de crecimiento, pero en este caso, el medio de crecimiento está dentro de un recipiente transparente de plástico o vidrio cerrado, especialmente diseñado para facilitar la penetración de la luz. La iluminación artificial también es posible, particularmente con tecnología LED (Diodo emisor de luz). Se han diseñado reactores de diferentes maneras, con diferentes formas y disposiciones, como paneles planos verticales o inclinados, tubulares dispuestos horizontal o verticalmente, etc. En el caso de los reactores de morfología tubular, tienen generalmente un diámetro limitado que es necesario para garantizar una alta productividad de biomasa del fotobiorreactor, porque la luz no penetra demasiado profundo en el caldo de cultivo denso. El caldo de microalgas se hace circular desde un depósito hasta el fotobiorreactor utilizando un dispositivo de burbujeo de aire sin partes móviles, lo que evita el daño a las células causado por el bombeo mecánico y elimina el exceso de oxígeno, lo que de otro modo inhibiría la fotosíntesis[10, 18, 22].

El inmenso potencial de las microalgas para producir combustibles de transporte ambientalmente sostenibles es la principal motivación detrás de su desarrollo. Sin embargo, el informe IEA (International Bioenergy Agency)-Bioenergy del año 2017[23] concluyó que, la producción de bio-energía a partir de microalgas es técnicamente posible pero no económicamente viable en las circunstancias actuales, es decir, si la bioenergía es el único producto perseguido.

2.3. Las algas como potencial fuente de biocombustibles

Las últimas tendencias de investigación se centran en las biorrefinerías de microalgas; de esta manera, los productos de alto valor agregado harían económicamente viable la bio-energía de microalgas[10]. De hecho, se puede extraer una amplia gama de productos químicos finos de dicha biomasa, dependiendo de la especie utilizada[24]. Estos podrían tener un valor agregado, lo suficientemente alto como para contribuir significativamente a la viabilidad económica del biocombustible. Tales productos biológicos incluyen azúcares para la producción de bioetanol y biometano, ambos a través de la fermentación de biomasa; productos de valor intermedio, por ejemplo, proteínas para la alimentación animal; y productos de alto valor, tales como principios activos con propiedades antimicrobianas, antioxidantes, antitumorales y antiinflamatorias, para fines farmacéuticos. La biomasa remanente puede ser transformada en bio-carbón, que tiene un valor como potenciador del suelo por el carbono secuestrado[25].

2.4. Bibliografía

- [1] J. C. Schallenberg Rodríguez, G. Piernavieja Izquierdo, C. Hernández Rodríguez, P. Unamunzaga Falcón, R. García Déniz, M. DíazTorres, D. Cabrera Pérez, G. Martel Rodríguez, J. Pardilla Fariña, and V. Subiela Ortin. *Energías renovables y eficiencia energética*. Instituto Tecnológico de Canarias, S.A., Canarias, first edition, 2008.
- [2] I. Dincer and M. F. Ezzat. *Renewable Energy Production*, volume 3-5. Elsevier, 2018.
- [3] B. F. Towler. *The Future of Energy*. Academic Press, first edition, jun 2014.
- [4] V. Khare, C. Khare, S. Nema, and P. Baredar. *Introduction to Energy Sources*. 2019.
- [5] P. S. R. Murty. Chapter 24 - Renewable Energy Sources. In P. S. R. Murty, editor, *Electrical Power Systems*, pages 783–800. Butterworth-Heinemann, Boston, 2017.
- [6] P. Breeze. Chapter 6 - Renewable Energy and the Environment. In P. Breeze, editor, *Electricity Generation and the Environment*, pages 57–70. Academic Press, 2017.
- [7] B. Viswanathan. Chapter 7 - Solar Energy: Fundamentals. In B. Viswanathan, editor, *Energy Sources*, pages 139–147. Elsevier, Amsterdam, 2017.
- [8] T. A. F. Soelaiman. 7 - Geothermal energy. In M. H Rashid, editor, *Electric Renewable Energy Systems*, pages 114–139. Academic Press, Boston, 2016.
- [9] UNFCCC. Clarifications on definition of biomass and consideration of changes in carbon pools due to a CDM project activity (Annex 8). page 20, 2005.
- [10] J. Sánchez, M. D. Curt, N. Robert, and J. Fernández. Chapter Two - Biomass Resources. In C. Lago, N. Caldés, and Y. Lechón, editors, *The Role of Bioenergy in the Bioeconomy*, pages 25–111. Academic Press, 2019.
- [11] P. McKendry. Energy production from biomass (Part 2): Conversion technologies. *Bio-resource Technology*, 83(1):47–54, 2002.
- [12] A. C. Monroy Suárez. *Evaluación de la producción de metabolitos en el proceso de ensilaje a partir de bagazo de caña de azúcar (Saccharum officinarum)*. PhD thesis, Universidad de Antioquia, 2016.
- [13] P. S. Nigam and A. Singh. Production of liquid biofuels from renewable resources. *Progress in Energy and Combustion Science*, 37(1):52–68, 2011.
- [14] J. C. Escobar, E. S. Lora, O. J. Venturini, E. E. Yáñez, E. F. Castillo, and O. Almazan. Biofuels: Environment, technology and food security. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 13(6-7):1275–1287, 2009.

- [15] S. D. Romano. Biocombustibles líquidos en la Argentina. In *Energía: Investigaciones en América del Sur*, chapter 1, pages 21–33. Editorial de la Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, 2017.
- [16] S. K. Khanal, R. Y. Surampalli, T. C. Zhang, B. P. Lamsal, R. D. Tyagi, and C. M. Kao. *Bioenergy and Biofuel from Biowastes and Biomass*. American Society of Civil Engineers, 2010.
- [17] F. Alam, S. Mobin, and H. Chowdhury. Third Generation Biofuel from Algae. *Procedia Engineering*, 105:763–768, 2015.
- [18] Y. Chisti. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25(3):294–306, 2007.
- [19] A. Raheem, W. A. K. G. Wan Azlina, Y. H. Taufiq Yap, M. K. Danquah, and R. Harun. Thermochemical conversion of microalgal biomass for biofuel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 49:990–999, 2015.
- [20] T. M. Mata, A. A. Martins, and N. S. Caetano. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1):217–232, 2010.
- [21] A. L. Ahmad, N. H. M. Yasin, C. J. C. Derek, and J. K. Lim. Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(1):584–593, 2011.
- [22] A. Bahadar and M. Bilal Khan. Progress in energy from microalgae: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 27:128–148, 2013.
- [23] L. M. Laurens. State of Technology Review - Algae Bioenergy: An IEA Bioenergy Inter-Task Strategic Project. Technical report, IEA Bioenergy, Golden, Colorado, USA, 2017.
- [24] R. Raja, S. Hemaiswarya, N. A. Kumar, S. Sridhar, and R. Rengasamy. A Perspective on the Biotechnological Potential of Microalgae. *Critical Reviews in Microbiology*, 34(2):77–88, 2008.
- [25] A. C. Guedes, H. M. Amaro, I. Sousa-Pinto, and F. X. Malcata. Chapter 16 - Algal spent biomass—A pool of applications. In Ashok Pandey, Jo-Shu Chang, Carlos Ricardo Soccol, Duu-Jong Lee, and Yusuf Chisti, editors, *Biofuels from Algae (Second Edition)*, Biomass, Biofuels, Biochemicals, pages 397–433. Elsevier, second edition, 2019.

Capítulo 3

Metodologías de conversión de la biomasa

Debido a que la biomasa es la única fuente de energía renovable que contiene carbono, la conversión de biomasa en biocombustibles y productos químicos ha sido considerada e investigada durante mucho tiempo[1, 2, 3]. La biomasa, basada en sus propiedades físicas y químicas, puede convertirse en combustibles y productos químicos mediante diversas tecnologías de conversión. Estas tecnologías se pueden aplicar bajo ciertas condiciones de temperatura y presión, y utilizando diferentes parámetros de diseño del reactor[4]. Varios factores afectan la elección del proceso de conversión: el tipo, la cantidad y las características de la biomasa, la forma deseada de la energía, los estándares ambientales, la política, las condiciones económicas y los factores específicos del proyecto[5]. En la mayoría de las situaciones, es la forma en que se requiere la energía y las materias primas que están disponibles, lo que determina la ruta de proceso adecuada[6]. La conversión de la biomasa en energía puede llevarse a cabo mediante procesos bioquímicos, fisicoquímicos o termoquímicos.

3.1. Procesos bioquímicos y fisicoquímicos

3.1.1. Procesos bioquímicos: Fermentación y Digestión Anaeróbica

Varias enzimas y microorganismos descomponen y convierten los compuestos orgánicos presentes en la biomasa en alcoholes, biogas, biocombustibles, alimentos y otros productos químicos. Las reacciones químicas en los procesos bioquímicos ocurren a temperaturas relativamente bajas (25-55 °C), así como a tasas de conversión más bajas en comparación con otros procesos de transformación de biomasa. Como resultado, los procesos bioquímicos son procesos naturales no contaminantes que requieren poca energía y unos pocos compuestos químicos. Sin embargo, se requieren sistemas de control de procesos adecuados (temperatura, pH, nutrientes, etc.) para maximizar el producto requerido y reducir las reacciones

3. Metodologías de conversión de la biomasa

secundarias[7, 2].

Los procesos bioquímicos incluyen la digestión anaeróbica (DA) y la fermentación. La DA es la conversión anaeróbica de material orgánico (no lingocelulósico) por bacterias en compuestos estables y comercialmente útiles, principalmente metano y CO₂[8, 5]. Es una tecnología eficiente y sostenible para la reducción de desechos y tiene las ventajas de un bajo rendimiento de residuo, producción neta de energía, fertilizantes de alto valor agregado y reducción de emisiones de Gases de Efecto Invernadero (GEI). En las últimas décadas, la tecnología de DA se ha utilizado con éxito para el tratamiento de estiércol y aguas residuales industriales, desechos orgánicos con alto contenido de humedad, es decir superior al 80–90 %[5, 9].

Por otro lado, la fermentación es otro proceso biológico anaeróbico donde los azúcares simples de la biomasa son convertidos en etanol y CO₂ por la acción de un conjunto diferente de microorganismos, generalmente levaduras[6]. La fermentación se utiliza comercialmente a gran escala en varios países para producir etanol a partir de cultivos de azúcar (por ejemplo, caña de azúcar, remolacha azucarera) y cultivos de almidón (por ejemplo, maíz, trigo). El etanol se destila y se deshidrata para obtener una mayor concentración de alcohol, logrando así la pureza requerida (Figura 3.1). El residuo sólido del proceso de fermentación se puede usar como alimento para el ganado, y en el caso de la caña de azúcar, el bagazo se puede usar como combustible para calderas o para la posterior gaseificación[5, 10].

3.1.2. Procesos fisicoquímicos: Prensado y Extracción con solventes

Dentro de los procesos fisicoquímicos, se pueden destacar las extracciones, ya sea mecánica o mediada por solventes. Estos procesos proporcionan un líquido que, en general, experimenta una etapa adicional conocida como esterificación, que convierte el aceite en éster metílico de ácido graso (EMAG), más conocido como biodiésel (Figura 3.1)[6].

La extracción mecánica o prensado, es un proceso de conversión utilizado para producir aceite a partir de semillas de diversos cultivos de biomasa, como colza oleaginosa, algodón, maní y linaza[5, 6]. La tecnología para producir estos aceites combustibles es similar a la de la producción de aceite vegetal como alimento o forraje. Estos cultivos solo pueden producirse en ciertas regiones y requieren esfuerzos agrícolas relativamente altos; por lo tanto, el potencial para su uso está localizado[2]. La extracción mecánica utiliza prensas de pistón o tornillo, y es adecuada para producir cantidades relativamente pequeñas de aceite, ya que su rendimiento es relativamente bajo[11].

En cambio, la extracción con solventes se utiliza comúnmente para la producción de aceites a gran escala, siempre y cuando el residuo sólido resultante no se utilice como fuente secundaria de nutrientes. Este método asegura una extracción prácticamente total del aceite existente en la materia prima. El hexano es el disolvente más utilizado, debido a su disponibilidad, hidrofobicidad, bajo punto de ebullición y calor de evaporación[11].

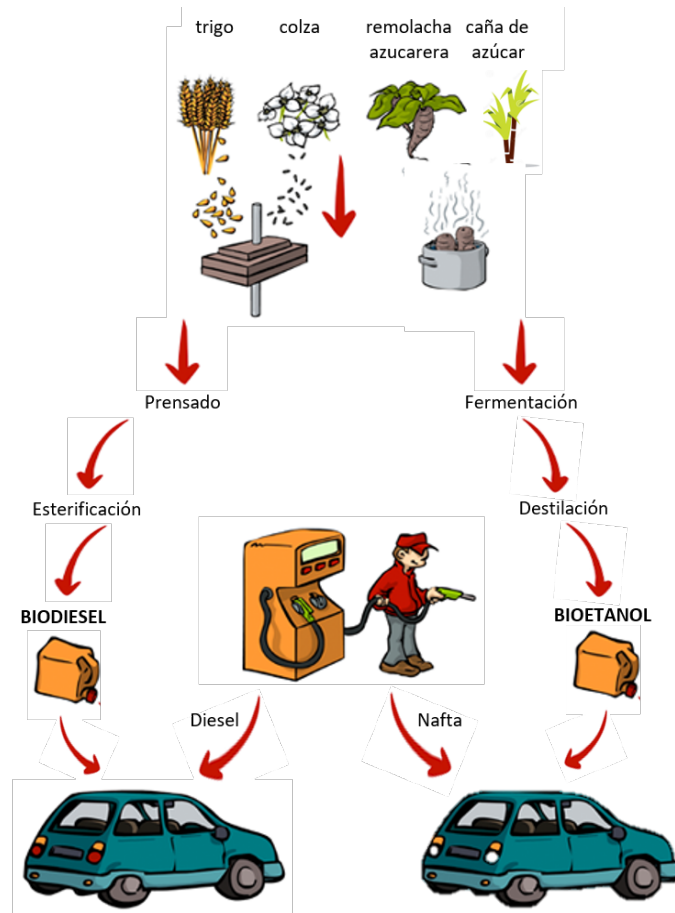


Figura 3.1.: Metodologías de prensado y fermentación.

3.2. Procesos termoquímicos

Un proceso se conoce como termoquímico cuando el calor se utiliza para convertir químicamente la biomasa en energía y otros subproductos químicos. Dentro de los procesos termoquímicos se pueden mencionar los siguientes:

- Combustión directa
- Carbonización
- Gasificación
- Licuefacción
- Pirólisis

Cada proceso supone diferentes condiciones de reacción (temperatura, presión, velocidad de calentamiento, tiempo de residencia, velocidad de flujo de gas, etc.) que producen productos específicos[10].

3. Metodologías de conversión de la biomasa

3.2.1. Combustión directa

La combustión es la conversión del combustible sólido en energía térmica, mediante la oxidación completa de la materia orgánica presente en la fuente de combustible sólido original. La biomasa se ha quemado por calor desde tiempos prehistóricos y sigue siendo la fuente de energía renovable más utilizada en el mundo[12]. Durante la combustión de la biomasa, el calor se genera debido a la reacción de oxidación, donde el carbono, el hidrógeno, el oxígeno, el azufre y el nitrógeno contenido en la biomasa reaccionan con el oxígeno del aire[13]. Este calor liberado durante la oxidación de material orgánico, junto con CO_2 y H_2O principalmente, se puede usar directamente en la planta de conversión (por ejemplo, para cocinar o calefaccionar) o se puede transportar por medio de un portador de calor (es decir, agua caliente o vapor) al lugar de consumo[2]. La combustión de biomasa depende esencialmente del tamaño de las partículas y las propiedades de la materia prima, la temperatura y la atmósfera de combustión. Las altas emisiones de NO_x , CO_2 y partículas, además del manejo de cenizas, hacen que la combustión sea un desafío ambiental[6].

3.2.2. Carbonización

Los procesos de carbonización de la biomasa son una de las varias tecnologías relacionadas con la producción de fuentes de energía renovables y la reducción efectiva de la producción de gases de efecto invernadero. La carbonización se realiza para obtener carbón vegetal mediante el calentamiento de la biomasa sólida en ausencia de oxígeno[13]. El rasgo característico por el cual la carbonización difiere de otras técnicas de conversión termoquímica, es que el tiempo de calentamiento es significativamente más largo[14]. La biomasa carente de oxígeno se descompone en una variedad de sustancias, la principal de las cuales es el carbón vegetal, un sólido poroso negro que consiste principalmente en carbono elemental. El carbón vegetal producido es un sólido sin toxicidad, es estable y no se descompone fácilmente en la naturaleza. El mismo se puede obtener a partir de muchas formas de biomasa, incluidos residuos agrícolas y residuos de madera[15].

3.2.3. Gasificación

Tanto la madera como el carbón, se han gasificado para producir combustible gaseoso para muchas aplicaciones en todo el mundo. Desde mediados del siglo XVII hasta principios del siglo XX, los gases de síntesis producidos a partir del proceso de gasificación proporcionaron calefacción y alumbrado a las ciudades primitivas. No fue hasta el descubrimiento y la implementación de gas natural, fácilmente disponible y a bajo costo, que el uso de este proceso no fue sostenible comercialmente y se redujo significativamente su utilización. La gasificación es un proceso termoquímico que se da por la oxidación parcial a altas temperaturas (800-900 °C) de material orgánico sólido en un gas combustible conocido como gas de

síntesis, generalmente compuesto por H_2 , CO , CO_2 y CH_4 [5, 12]. El gas de síntesis se puede usar para producir calor, energía y productos químicos. Existe la posibilidad de producir calor a través de la combustión en una caldera, la electricidad a través de la combustión en motores alternativos o turbinas de gas, o convertirse en un biocombustible líquido, o sustituir el gas natural para la inyección en las redes de gas[6].

3.2.4. Licuefacción

La licuefacción hidrotermal es una técnica para obtener biocombustible relativamente puro a partir de biomasa en presencia de un disolvente (generalmente agua) a temperatura moderada a alta (250-550 °C) y presión (5-25 MPa). Este método permite aprovechar la biomasa con cualquier porcentaje de humedad, dando como resultado una alta conversión de la misma y productos relativamente puros. La biomasa, como las gramíneas, las plantas tropicales y acuáticas, puede licuarse adecuadamente mediante este proceso. A diferencia de los productos peligrosos de la combustión, como amoníaco y NO_x , por nombrar algunos, la licuefacción es una tecnología respetuosa con el medio ambiente, convirtiendo los heteroátomos presentes en la biomasa en subproductos inocuos[14]. Los principales productos de la licuefacción hidrotermal incluyen una fase oleosa con alto índice de calentamiento (30–37 $MJ\ kg^{-1}$), sustancias orgánicas acuosas, una fase gaseosa rica en CO_2 y carbón. La fase oleosa (bio-crudo), a diferencia de otros líquidos obtenidos por métodos termoquímicos, contiene menos oxígeno, además de nitrógeno, carbono e hidrógeno, es menos miscible en agua y tiene un mayor valor calorífico[16].

3.2.5. Pirólisis

Históricamente, los antiguos egipcios utilizaban una forma de pirólisis para producir alquitrán para tapar las juntas de barcos y agentes de embalsamamiento. La pirólisis también se había utilizado durante los últimos de años como tecnología de producción de carbón vegetal. No fue hasta la década de 1980 que se descubrió la pirólisis rápida como una vía para producir productos similares al petróleo a partir de biomasa[12]. Esta técnica se ha vuelto de gran interés debido a la flexibilidad en el funcionamiento, la versatilidad de la tecnología y la adaptabilidad a una amplia variedad de materias primas y productos. Generalmente, el calor se proporciona externamente y los constituyentes de la biomasa se craquean térmicamente a gases y vapores que, posteriormente suelen sufrir reacciones secundarias, dando así un amplio espectro de productos[6].

La pirólisis consiste en la descomposición térmica de materia orgánica en ausencia de oxígeno. Esta técnica da como resultado tres productos: una fracción sólida o bio-carbón, gases condensable en un bio-líquido y un gas no condensable. Dependiendo de las condiciones de reacción, tales como la temperatura, tiempo de residencia de los vapores, flujo de gas inerte, etc.; se pueden favorecer uno u otro producto (Tabla 3.1). En general, bajas tem-

3. Metodologías de conversión de la biomasa

peraturas y tiempos de residencia del vapor más largos favorecen la producción de carbón vegetal, elevada temperatura y tiempos de residencia más largo aumentan la conversión de biomasa a gas, y temperatura moderada y tiempos de residencia cortos son óptimos para producir líquidos. La pirólisis rápida para la producción de líquidos es actualmente de particular interés[6, 17].

La pirólisis lenta maximiza la producción de carbón. Las velocidades de calentamiento lento a temperaturas entre 400 y 600 °C son parámetros operativos comunes de los reactores de pirólisis lenta. Por lo general, se observan rendimientos líquidos de 30 a 50 % en peso y rendimientos de carbón de 25 a 35 % en peso[18]. El descubrimiento de la pirólisis rápida cambió el enfoque hacia la maximización del rendimiento del producto líquido (bio-líquido) para crear combustibles para el transporte. La pirólisis rápida se logra mediante el calentamiento rápido a temperaturas moderadas (500–900 °C) y el enfriamiento inmediato de los productos para evitar la formación de gases. En estas condiciones, una distribución típica de productos es 60-75 % de bio-líquido, 15-25 % de carbón y 10-20 % de gases no condensables, dependiendo de la materia prima. La pirólisis ultrarápida también apunta a maximizar el rendimiento del líquido, pero a un rango de temperatura de operación más alto (700–1000 °C). Además, la pirólisis ultrarápida difiere ligeramente de la pirólisis rápida en que los vapores producidos durante el proceso se eliminan del entorno de reacción en segundos a milisegundos después de la formación[12].

Tabla 3.1.: Tipos de pirólisis según condiciones de reacción y rendimientos

Tipo de pirólisis	Condiciones	Rendimiento (% P/P)		
		Líquido	Gas	Sólido
Pirólisis lenta (Slow pyrolysis)	Presión atmosférica, temperaturas moderadas (350-750 °C), tiempos de residencia largos	30-50	15-30	30-60
Pirólisis rápida (Fast pyrolysis)	Presión atmosférica, tamaño de partículas pequeño (<3 mm), tiempos de residencia cortos (0,5-2 s), temperaturas moderadas (350-750 °C)	65-75	13-25	12-19
Pirólisis ultrarápida (Flash pyrolysis)	Presión atmosférica, tamaño de partículas muy pequeño (<0,5 mm), tiempos de residencia muy cortos (<0,5 s), temperaturas altas (400-1000 °C)	60-70	10-15	15-25

3.3. Pirólisis rápida: Generalidades, principales productos y sus posibles aplicaciones

En la pirólisis rápida, la biomasa se descompone muy rápidamente para generar principalmente vapores y aerosoles condensables, algo de carbón y gas. Después del enfriamiento y la condensación, se forma un líquido homogéneo de color marrón oscuro que tiene un valor de calentamiento de alrededor de la mitad del combustible convencional. Se pueden lograr rendimientos de hasta el 75 % en peso de biomasa seca. Las características esenciales de un proceso de pirólisis rápida para producir líquidos son:[6]

- Pequeños tamaños de partículas de menos de 5 mm y altas velocidades de calentamiento para generar una elevada transferencia térmica, ya que la biomasa generalmente tiene una conductividad térmica baja.
- El contenido de humedad debe ser inferior al 10 % en peso, ya que toda el agua pasa a formar parte de la fase líquida junto con el agua pirolítica.
- Temperatura de reacción de pirólisis cuidadosamente controlada para maximizar el rendimiento de la fracción líquida.
- Tiempos de residencia de vapor cortos de típicamente menos de 2 segundos para minimizar las reacciones secundarias.
- Enfriamiento rápido de los vapores de pirólisis para dar el producto líquido y frenar la degradación de los vapores.

Como ya se mencionó previamente, los principales productos obtenidos en la pirólisis rápida son el bio-líquido, el sólido o bio-carbón y gases no condensables. Estos últimos, después del enfriamiento se pueden usar directamente como combustible gaseoso o procesado para productos químicos[9].

El sólido o bio-carbón tiene propiedades físicas y químicas fundamentalmente diferentes dependiendo de la tecnología utilizada para su producción. Comúnmente, se quema para el calentamiento del proceso de pirólisis o en la generación de vapor o electricidad, debido a que posee valores de calentamiento de 15 a 30 MJ kg⁻¹. Las cenizas residuales de la combustión pueden usarse para la producción de cemento u otros fines. Este bio-carbón también se puede utilizar como portador de energía, como adsorbente y para otras aplicaciones, como la mejora de las propiedades del suelo[14, 18].

El bio-líquido de pirólisis típicamente es un líquido de color marrón oscuro que fluye libremente, y está compuesto por una mezcla muy compleja de hidrocarburos oxigenados con una proporción apreciable de agua, tanto de la humedad original como del producto de reacción. Es miscible con solventes polares como el metanol, acetona, etc., pero es totalmente inmiscible con combustibles derivados del petróleo. Esto se debe al alto contenido de oxígeno

3. Metodologías de conversión de la biomasa

que posee, de alrededor del 35-40 % en peso[6]. La aplicación del líquido de pirólisis como combustible directamente en motores o turbinas es difícil debido a sus propiedades indeseables, que incluyen acidez, alto contenido de oxígeno, alta viscosidad, alto contenido de agua e inestabilidad durante el almacenamiento. Con el fin de mejorar las propiedades indeseables, la mejora del bio-líquido se ha investigado durante muchos años[19, 20, 21, 22], lo que incluye métodos físicos y químicos para que el mismo sea adecuado para su refinación posterior. La mejora física cubre el filtrado para eliminar partículas, y el mezclado del líquido con aditivos y solventes para mejorar su miscibilidad y reducir la viscosidad. Los métodos químicos incluyen hidrodeoxigenación e hidrocraqueo de biocombustible, para eliminar los átomos de oxígeno mediante hidrógeno y reducir los pesos moleculares. Sin embargo, el combustible por sí solo no puede soportar económicamente una refinería de pirólisis, y los productos químicos de mayor valor son cruciales para mantener esta metodología rentable. Existen cientos de compuestos químicos en el bio-líquido, que pueden extraerse del mismo a través de técnicas de separación, y otros pueden producirse combinando todo o partes del líquido con otros compuestos[9].

3.4. Bibliografía

- [1] C. L. Williams, A. Dahiya, and P. Porter. Chapter 1 - Introduction to Bioenergy. In A. Dahiya, editor, *Bioenergy*, pages 5–36. Academic Press, Boston, 2015.
- [2] M. Kaltschmitt, D. Thrän, and K. R. Smith. Renewable Energy from Biomass. In R. A. Meyers, editor, *Encyclopedia of Physical Science and Technology*, pages 203–228. Academic Press, New York, third edition, 2003.
- [3] P. McKendry. Energy production from biomass (Part 1): Overview of biomass. *Biore-source Technol*, 83(1):37–46, 2002.
- [4] S. Guran. Chapter 8 - Sustainable Waste-to-Energy Technologies: Gasification and Pyrolysis. In T. A. Trabold and C. W. Babbitt, editors, *Sustainable Food Waste-To-energy Systems*, pages 141–158. Academic Press, 2018.
- [5] P. McKendry. Energy production from biomass (part 2): Conversion technologies. *Bio-resource Technology*, 83(1):47–54, 2002.
- [6] P. Adams, A. Bridgwater, A. Lea-Langton, A. Ross, and I. Watson. *Biomass Conversion Technologies. Report to NNFCC*. Elsevier Inc., 2017.
- [7] Y. Demirel. 1.22 Biofuels. In I. Dincer, editor, *Comprehensive Energy Systems*, pages 875–908. Elsevier, Oxford, 2018.
- [8] The Andersons Centre. A detailed economic assessment of anaerobic digestion technology and its suitability to UK farming and waste systems. Technical report, THE ANDERSONS CENTRE, Leicestershire, 2010.
- [9] C. C. Xu, B. Liao, S. Pang, L. Nazari, N. Mahmood, M. S. H. K. Tushar, A. Dutta, and M. B. Ray. Biomass Energy. *Comprehensive Energy Systems*, 1-5:770–794, 2018.
- [10] S. A. Ashter. 5 - Biomass conversion approaches. In Syed Ali Ashter, editor, *Technology and Applications of Polymers Derived from Biomass*, *Plastics Design Library*, pages 75–110. William Andrew Publishing, 2018.
- [11] F. D. Irimie, C. Paizs, M. I. Tosa, and L. C. Bencze. Biodiesel, a green fuel obtained through enzymatic catalysis. In V. Popa and I. Volf, editors, *Biomass as a renewable raw material to obtain bioproducts of high-tech value*, chapter Six, pages 191–234. Elsevier B.V., first edition, 2018.
- [12] S. Gent, M. Twedt, C. Gerometta, and E. Almberg. Introduction to Thermochemical Conversion Processes. *Theoretical and Applied Aspects of Biomass Torrefaction*, pages 1–16, 2017.

3. Metodologías de conversión de la biomasa

- [13] A. Pandey, C. Larroche, S. C. Ricke, C. G. Dussap, and E. Gnansounou, editors. *Bio-fuels. Alternative Feedstocks and Conversion Processes*. Academic Press, first edition, 2011.
- [14] A. Pandey, T. Bhaskar, M. Stocker, and R. K. Sukumaran, editors. *Recent Advances in Thermo-chemical Conversion of Biomass*. Elsevier B.V., first edition, 2015.
- [15] N. L. Panwar, Richa Kothari, and V. V. Tyagi. Thermo chemical conversion of biomass - Eco friendly energy routes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(4):1801–1816, 2012.
- [16] P. Basu. Chapter 9 - Hydrothermal Conversion of Biomass. In P. Basu, editor, *Biomass Gasification, Pyrolysis and Torrefaction (Third Edition)*, pages 331–371. Academic Press, third edition, 2018.
- [17] A. Bridgwater. Biomass fast pyrolysis. *Thermal Science*, 8(2):21–50, 2004.
- [18] B. Pecha and M. Garcia-Perez. Chapter 26 - Pyrolysis of Lignocellulosic Biomass: Oil, Char, and Gas. In A. Dahiya, editor, *Bioenergy*, pages 413–442. Academic Press, Boston, 2015.
- [19] P. M. Mortensen, J. D. Grunwaldt, P. A. Jensen, K. G. Knudsen, and A. D. Jensen. A review of catalytic upgrading of bio-oil to engine fuels. *Applied Catalysis A: General*, 407(1-2):1–19, 2011.
- [20] S. Xiu and A. Shahbazi. Bio-oil production and upgrading research: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(7):4406–4414, 2012.
- [21] A. Alcalá and A. V. Bridgwater. Upgrading fast pyrolysis liquids: Blends of biodiesel and pyrolysis oil. *Fuel*, 109:417–426, 2013.
- [22] A. R. K. Gollakota, M. Reddy, M. D. Subramanyam, and N. Kishore. A review on the upgradation techniques of pyrolysis oil. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 58:1543–1568, 2016.

Capítulo 4

Objetivos generales y específicos

Como objetivos generales de esta Tesis, se planteó la aplicación de la técnica de pirólisis rápida al tratamiento de distintas especies de algas para obtener dos tipos de productos: un bio-líquido, que pueda evaluarse como biocombustible y/o como fuente de compuestos químicos de interés; y un bio-carbón, que pueda ser utilizado como material capaz de purificar, ya sea por adsorción o por filtración, moléculas de interés biológico y/o químico. De esta manera, se pretendió aprovechar eficientemente una fuente de biomasa de accesible producción, mediante una tecnología que pueda, en un futuro, ser escalada y resultar en un proceso beneficioso a nivel regional.

Para llevar a cabo estos objetivos, se realizará la evaluación de diferentes especies de algas, entre ellas *Spirulina* (*Arthrospira platensis*), “Cola de caballo” (*Pithophora sp.*) y *Botryococcus braunii*, en la producción y composición de bio-líquido y bio-carbón mediante pirólisis rápida. Se estudiarán de manera sistemática diferentes condiciones de pirólisis (temperatura, tiempo, cantidad de biomasa, entre otras) y su efecto en la composición de los productos. A modo comparativo, se evaluará también la producción y composición de bio-líquidos obtenidos mediante extracción con solventes, utilizando calentamiento convencional y calentamiento asistido por microondas.

Para el aprovechamiento de la fracción líquida de los distintos pirolizados, se procederá en primer lugar al análisis del bio-líquido con el objetivo de evaluar sus propiedades como posible biocombustible, o para identificar compuestos orgánicos de interés en química fina. De encontrar una especie de alga capaz de generar un bio-líquido con propiedades de biocombustibles, se optimizará dicho líquido mediante dos posibles vías: la aplicación de catalizadores sólidos y termoestables (pirocloro y mesoporoso con dominios zeolíticos) en las reacciones de pirólisis rápida para mejorar la producción y las propiedades del mismo; o el mejoramiento del bio-líquido ya generado mediante transformaciones químicas sencillas, con y sin catalizador. Por otro lado, aquellos bio-líquidos que no sean viables como precursores de biocombustibles, serán evaluados para su aplicación como antifúngicos y/o antioxidantes.

Por último, con el objeto de aprovechar el bio-carbón, se caracterizarán mediante diversas técnicas (Microscopía SEM, análisis elemental, Espectroscopía FT-IR, entre otras) y

4. *Objetivos generales y específicos*

se evaluarán para su aplicación como enmienda de suelos agrícolas y como materiales de adsorción de moléculas de interés biológico y/o químico, con el fin de purificar dichas moléculas para su posterior aprovechamiento. Para su aplicación como enmienda, se realizarán extractos acuosos de los bio-carbones y se evaluará su fitotoxicidad utilizando semillas de *Lactuca sativa* como modelo. Para el estudio de éstos materiales para purificación, se evaluarán diferentes analitos y condiciones de adsorción (pH, concentración de analito), como así también diversas metodologías (impregnación con ácidos o bases, activaciones térmicas) para optimizar la morfología y propiedades estructurales del carbón obtenido.

Parte II.

Estudio de algas como biomasa de
partida en pirólisis rápida

Capítulo 5

Materiales y Metodología

5.1. Tipos de algas evaluadas

5.1.1. *Pithophora sp.* (Ph)



Figura 5.1.: *Pithophora sp.* (Ph).

Pithophora sp. (Figura 5.1) es un alga macroscópica que consiste en filamentos libremente ramificados, de células cilíndricas, a menudo de paredes gruesas. Se la puede encontrar tanto en ríos, como lagos y estanques, donde forman estepas flotantes densas a poca profundidad. Es similar a *Cladophora* en que su prolífico crecimiento conduce a problemas de manejo del curso de agua[1]. Este problema se puede ver acrecentado por el elevado grado de eutrofización de los cursos de agua, producto de la contaminación antropogénica.

En este contexto, se planteó encontrar una potencial aplicación al alga y/o a sus derivados. Es por ello que se decidió estudiar el efecto de la pirólisis rápida, y las propiedades de los productos obtenidos. Cabe destacar, que no se han reportado antecedentes de estudios de pirólisis rápida de esta especie. **Ph** fue recolectada de los cursos de agua de las sierras

5. Materiales y Metodología

de Córdoba, posteriormente fue lavada con agua corriente y secada al aire a temperatura ambiente.

5.1.2. *Arthrospira platensis* - *Spirulina* (Sp)



Figura 5.2.: *Spirulina* (Sp)

Es una cianobacteria planctónica que forma una población masiva en cuerpos de agua tropicales y subtropicales caracterizados por altos niveles de carbonato y bicarbonato y pH alto (hasta 11). La continua designación actual de *Spirulina* para las especies del género *Arthrospira* tiene un significado más tradicional, práctico y tecnológico que uno taxonómico (Figura 5.2). La fama de esta cianobacteria es el resultado de su importancia económica, siendo ampliamente utilizada en la industria de alimentos y química fina[2].

En los últimos 20 años, estudios científicos de los extractos del alga (acuosos o mediante solventes orgánicos), han podido identificar nuevas e interesantes propiedades de la misma, como por ejemplo actividad antimicrobiana[3], efectos inmunopromotores[4] y en la prevención o inhibición el cáncer en humanos y animales[5]. Además, se han evaluado diversas metodologías tanto para la obtención de biocombustibles o biogás a partir de **Sp**, como así también para la obtención de compuestos químicos de interés[6, 7, 8, 9, 10].

Por otro lado, el estudio sobre las posibles aplicaciones de los bio-carbones provenientes de tratamientos térmicos de la biomasa, también ha tomado un fuerte impulso en las últimas décadas. Las posibles aplicaciones encontradas son muy variadas y, dependiendo del uso, permiten reemplazar materiales que suelen ser costosos o incorporarlos como nuevos materiales para un dado fin[11, 12, 13, 14].

Siguiendo la línea de estos últimos estudios, se decidió realizar la pirólisis rápida de **Sp** utilizando el reactor disponible en el grupo de investigación, con el propósito de evaluar posibles aplicaciones, tanto la fracción líquida como la sólida. Para realizar los estudios correspondientes, **Sp** fue adquirida comercialmente en polvo en estado seco, y utilizada directamente en los estudios correspondientes, sin ningún tipo de tratamiento adicional.

5.1.3. *Botryococcus braunii* (Bb)



Figura 5.3.: *Botryococcus braunii* (Bb)

Botryococcus braunii (Figura 5.3) es una microalga planctónica verde, piriforme que forma colonias flotantes de morfología indefinida. Las mismas están compuestas de células incrustadas radialmente en una envoltura formada por una mucosa resistente. Se pueden encontrar en lagos oligotróficos templados o tropicales y estuarios, diseminados en el agua dulce en embalses, estanques, etc.[15, 16].

Bb se caracteriza por su inusualmente elevado contenido de lípidos, pudiendo llegar hasta un 75 % del peso seco de la célula[17]. Debido a esta propiedad, hace ya varios años fue propuesto su cultivo para la producción de hidrocarburos líquidos con potencialidad como combustibles[18].

Teniendo esto en cuenta, se propuso realizar la pirólisis rápida de esta alga y evaluar si el bio-líquido recuperado posee propiedades de biocombustible. Para ello, **Bb** fue recolectada en la región pampeana de la provincia de Córdoba, donde se registró un crecimiento importante de esta alga. La misma fue lavada con agua corriente y secada al aire a temperatura ambiente.

5.2. Caracterización del material de partida

5.2.1. Análisis elemental

Se llevó a cabo el análisis elemental de todas las biomásas de algas estudiadas. Para ello, se utilizó un analizador elemental CHNS Elemental Analyzer 2400 Serie II Perkin Elmer. Este tipo de equipamiento permite determinar el contenido de carbono, hidrógeno, nitrógeno y azufre de materiales orgánicos. Está basado en la clásica metodología Pregl-Dumas, donde la muestra es combustionada a altas temperaturas en una atmósfera con exceso de oxígeno y

5. Materiales y Metodología

reducida a los gases más simples, CO_2 , H_2O , N_2 y SO_2 , que son medidos de forma automática mediante un detector de conductividad térmica[19].

5.2.2. Análisis proximal: humedad, cenizas, lípidos, proteínas e hidratos de carbono

Para completar la caracterización de las algas, se realizó un análisis proximal de las mismas mediante técnicas oficiales de análisis de la AOAC para determinación de cenizas (923.03 (32.1.05)), lípidos (920.39) y proteínas (991.20), y de la FAO para hidratos de carbono (Food Nut. Paper 77, página 12). Estos estudios fueron realizados por el CEQUIMAP (Centro de Química Aplicada) de la Facultad de Ciencias Químicas, UNC.

5.3. Metodologías utilizadas en el tratamiento de biomasa

5.3.1. Pirólisis rápida

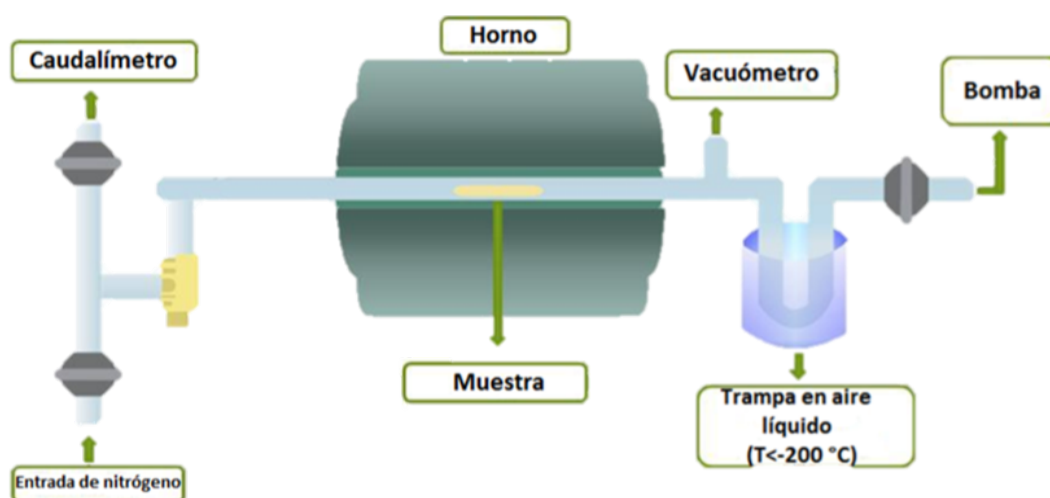


Figura 5.4.: Esquema del equipo empleado en pirólisis rápida.

El equipo de pirólisis rápida utilizado se encuentra representado en la Figura 5.4. La muestra se coloca en forma granulada en una cápsula de porcelana y se introduce en el reactor tubular de cuarzo, por medio de un brazo de hierro móvil. La introducción de la cápsula a la zona de pirólisis se realiza una vez logradas todas las condiciones de reacción como presión, temperatura y caudal de gas transportador. En el extremo opuesto al ingreso de la muestra, el reactor está conectado a una bomba de vacío. Por otro lado, una vez que

los productos primarios emergen de la zona de pirólisis, éstos son atrapados a temperaturas criogénicas (-200 a -170 °C), evitando la formación de reacciones secundarias indeseables. El flujo de gas transportador en el sistema, generalmente nitrógeno ultraseco gaseoso, ayuda a la transferencia de los productos formados a altas temperaturas hacia la zona de condensación favoreciendo los procesos unimoleculares.

Se llevaron a cabo las reacciones de pirólisis rápida pesando aproximadamente 0,2 g de alga y colocándola en una cápsula de cerámica dentro del reactor tubular. Se utilizó un flujo de N₂ de 0,2 mL s⁻¹ y un vacío de 50-100 mTorr. Se evaluaron temperaturas de reacción igual a 300, 400, 500 y 600 °C. Una vez alcanzadas las condiciones deseadas, se introdujo la muestra dentro del reactor y se dejó reaccionar por 20 minutos. Una vez finalizada la reacción, la presión del sistema fue compensada y el reactor se dejó enfriar. La trampa en U fue retirada del aire líquido para permitir que llegue a temperatura ambiente, y posteriormente fue lavada con un solvente adecuado, en general acetona o hexano, para recuperar el bio-líquido de pirólisis. Luego, el solvente fue evaporado al vacío en un rota-evaporador y el bio-líquido fue pesado. El producto sólido se extrajo de la cápsula de cerámica y también se pesó. De esta manera, se determinaron las cantidades de fracción líquida y sólida por peso directo, calculando la fracción gaseosa por diferencia de las primeras.

5.3.2. Pirólisis rápida catalítica

La metodología utilizada fue similar a la descrita en la Sección 5.3.1, pero en este caso se incorporaron diversos catalizadores para mejorar la conversión y la selectividad de la reacción. En bibliografía se han reportado mejoramientos de bio-líquidos obtenidos en pirólisis mediante el uso de catalizadores donde, además de eliminar el contenido de oxígeno, generan una mayor producción de hidrocarburos aromáticos e hidrocarburos de menor tamaño, lo cual mejora sustancialmente la calidad del bio-líquido[10, 20, 21].

Teniendo en cuenta estos resultados, se probaron dos catalizadores de estructuras bien diferentes: un catalizador mesoporoso y otro de tipo pirocloro. Ambos catalizadores son de naturaleza ácida, aunque estructuralmente son bien diferentes. La síntesis y caracterización de estos catalizadores fueron llevadas a cabo por las Dras. Eliana Vaschetto y Griselda Eimer, y por el Ing. Sergio Mayer y el Dr. Horacio Falcón (CITeQ-UTN), respectivamente.

5.3.2.1. Catalizador mesoporoso a partir de precursores zeolíticos

Los materiales porosos han sido intensamente estudiados con el objetivo de ser aplicados como catalizadores o como soporte de éstos. Según la IUPAC, los materiales porosos se dividen en tres clases: microporosos (tamaño de poro < 2 nm), mesoporosos (2-50 nm) y macroporosos (> 50 nm)[22], siendo los dos primeros los más ampliamente utilizados en catálisis, sobre todo a nivel industrial. Los materiales mesoporosos tienen áreas superficiales relativamente altas, volúmenes de poro importantes dentro de una pequeña cantidad de material y canales uniformes en el rango nanométrico. Sin embargo, su acidez y estabilidad

5. Materiales y Metodología

hidrotermal son relativamente bajas al comparar estos materiales con estructuras microporosas, mientras que estas últimas poseen aplicaciones restringidas debido a sus poros pequeños, donde moléculas grandes no pueden difundir con facilidad[23].

En el grupo de la Dra. Eimer y la Dra. Vaschetto se desarrollaron catalizadores mesoporosos a partir de precursores zeolíticos, con sitios activos con una acidez mejorada, capaces de convertir moléculas grandes[23]. Los catalizadores están formados por un precursor zeolítico con una dada proporción de Si/Al, unidos entre sí mediante moléculas de surfactantes mediante un tratamiento hidrotérmico a 100 °C, generando así los catalizadores mesoporosos con dominios zeolíticos.

La caracterización del catalizador se realizó mediante Difracción de Rayos X (XRD) (Figura 5.5, (a)). El espectro corresponde a un sólido que muestra la presencia de picos característicos de mesoporos (en ángulo bajo) y una estructura microporosa (en ángulos altos). También se puede observar la estructura mesoporosa evidenciada por la presencia del pico en aproximadamente 2,2 de 2θ correspondiente al plano de difracción (1 0 0), típico de los sólidos mesoporosos.

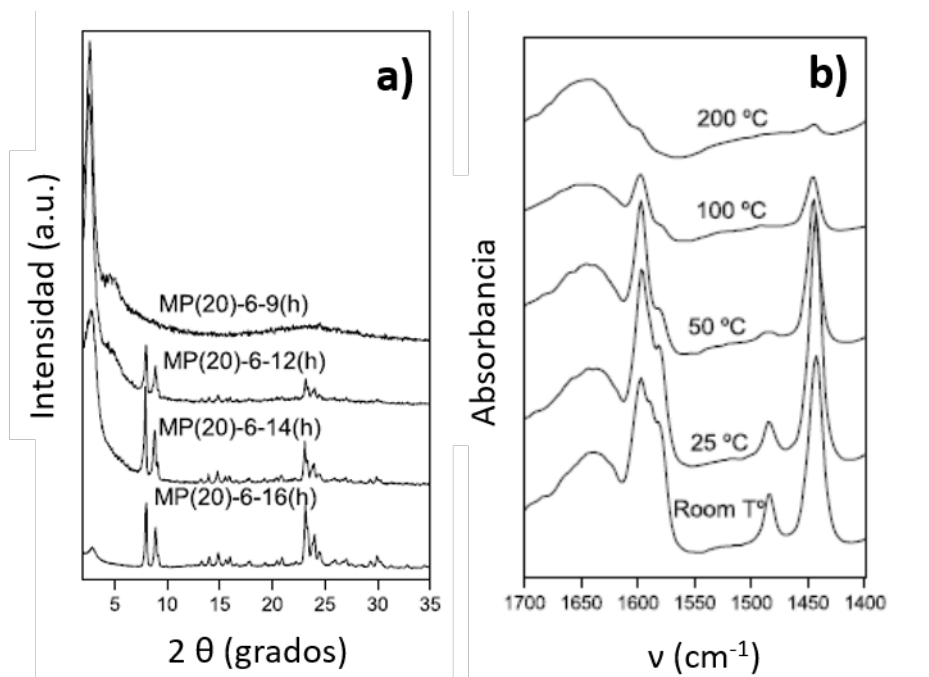


Figura 5.5.: a) Patrones de XRD de muestras sintetizadas con diferentes tiempos de tratamiento hidrotérmico del gel a 100 °C; b) Espectros FT-IR del catalizador mesoporoso luego de la desorción de piridina a diferentes temperaturas.

La acidez de este material fue determinada por Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FT-IR, por sus siglas en inglés), utilizando piridina como molécula sonda. Los espectros registrados después de la adsorción de piridina a temperatura ambiente y subsecuente desorción a 25, 50, 100 y 200 °C, se muestra en la Figura 5.5,(b). Después de la

evacuación a 200 °C, las bandas correspondientes a la piridina (1632 y 1447 cm^{-1}) son muy intensas, confirmando la resistencia de los sitios ácidos presentes en la fase zeolítica, capaces de retener la piridina adsorbida hasta 200 °C.

Además, las estructuras mesoporosas y microporosas observadas por XRD, fueron confirmadas por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM, por sus siglas en inglés), cuyas imágenes se muestran en la Figura 5.6. En ellas se puede observar la porosidad del material y los pequeños cristales segregados (típicos de las estructuras zeolíticas).

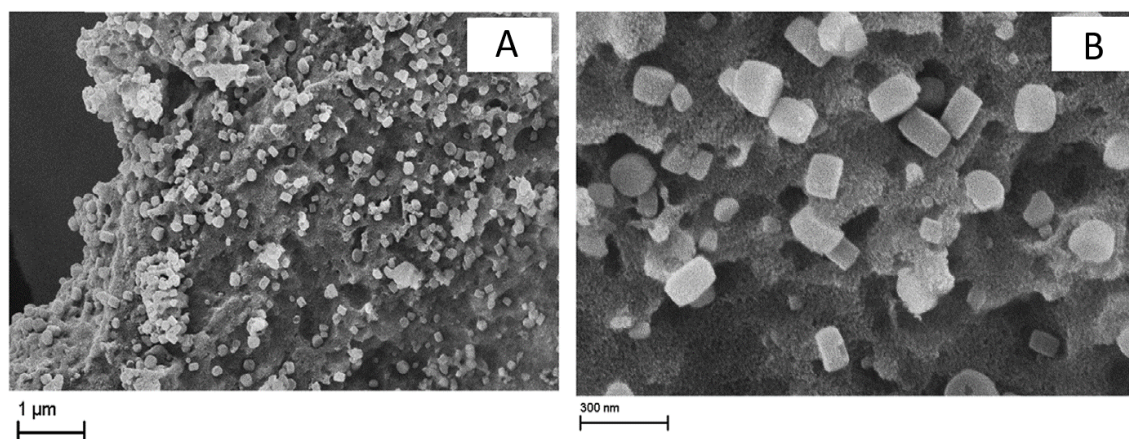


Figura 5.6.: Imágenes SEM de la morfología de los catalizadores mesoporosos con dominios zeolíticos.

5.3.2.2. Catalizador de estructura Pirocloro

Entre los óxidos metálicos ternarios, los compuestos de la fórmula general, $A_2B_2O_7$ (A y B son metales), representan una familia de fases isoestructurales al mineral pirocloro. Las estructuras de pirocloro tienen una larga historia y han sido extensamente descritas. Estos compuestos, aproximadamente 150 en número, son predominantemente de naturaleza cúbica e iónica, se prestan a una amplia variedad de sustitución química en los sitios A, B y O, siempre que se satisfagan los criterios de radio iónico y neutralidad de carga.

El Dr. Falcón y el Ing. Mayer desarrollaron catalizadores del tipo $(H_3O)SbTeO_6$, un catalizador protónico en capas con estructura cristalina de pirocloro. La estructura del cristal está constituida por una red covalente de octaedros $Sb^V O_6$ y $Te^V IO_6$ distribuidos aleatoriamente y enlazados por los vértices, conformando grandes cavidades interconectadas donde se localizan unidades de H_3O^+ (Figura 5.7).

La muestra $(H_3O)SbTeO_6$, obtenida mediante intercambio iónico de $KSbTeO_6$, así como este precursor, exhibieron una excelente cristalinidad, como lo evidencia el ancho de los picos de las reflexiones de XRD (Figura 5.8 (a) y (b)). El patrón de XRD se indexó con una celda cúbica con $a = 10.1510(1) \text{ \AA}$, característico de una estructura de pirocloro. Se observó también la calidad de los ajustes para ambos pirocloros, después del refinamiento final.

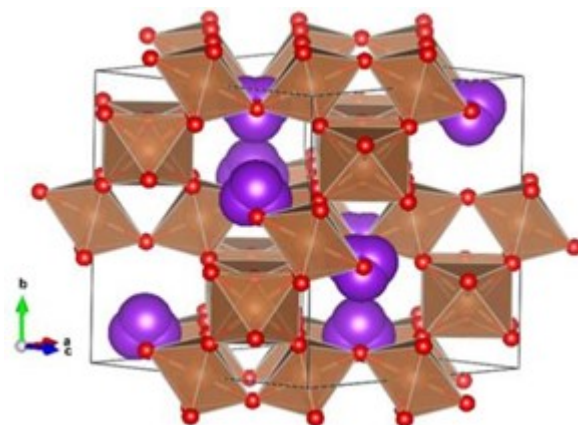


Figura 5.7.: Estructura del catalizador Pirocloro

Evidentemente, a partir de los datos de XRD no se pudo determinar ni refinar las posiciones de los átomos de hidrógeno de H_3O^+ , pero ya se habían localizado anteriormente en un estudio por difracción de neutrones[24].

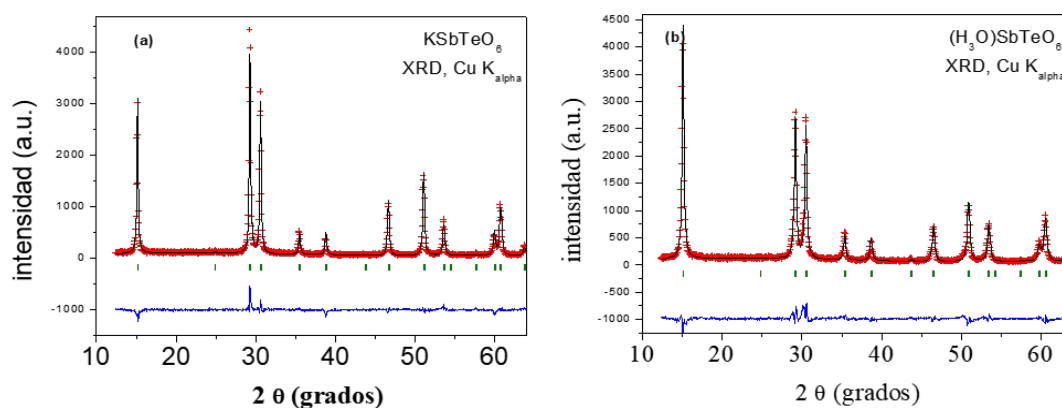


Figura 5.8.: Diagramas de XRD del precursor KSbTeO_6 (a), y después del cambio iónico de K^+ por H_3O^+ (b), refinados por el método Rietveld en el grupo espacial cúbico $\text{Fd}\bar{3}\text{m}$

Las densidades de sitios ácidos totales presentes en el catalizador se determinó con TPD- NH_3 (Desorción de amoníaco a temperatura programada), donde, después de que un gas inerte fluye hacia el catalizador, se adsorbe NH_3 en la superficie del mismo. Luego, el catalizador se calienta a una velocidad de calentamiento lineal bajo un flujo de gas portador. El gas de reacción que es desorbido de la superficie al calentarse se monitorea con un detector en función de la temperatura[25]. Los resultados se muestran en la Figura 5.9, donde se observan tres regiones que corresponden a tres sitios de diferente naturaleza presentes en la superficie del sólido.

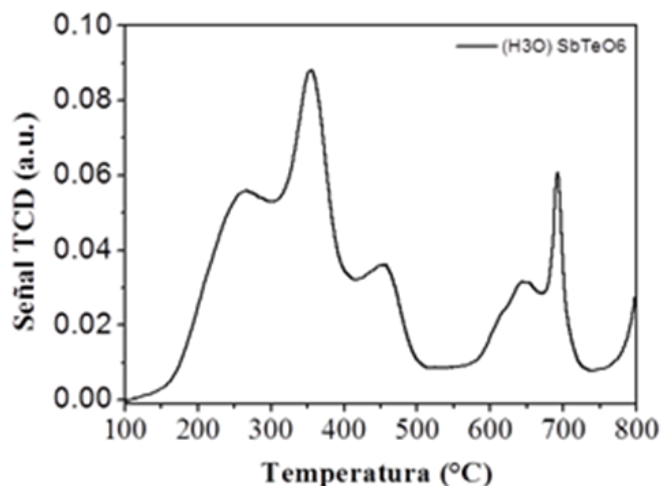


Figura 5.9.: Desorción de NH₃ a temperatura programada sobre (H₃O)SbTeO₆

Los primeros centros son de una baja acidez ya que retienen amoníaco que se desorbe en un intervalo de temperaturas relativamente bajas (150 - 350 °C). Los segundos centros están asociados a una región de temperaturas de desorción moderada de 350 a 500 °C. El tercer pico corresponde a la región de temperatura de desorción más elevada de 500 a 700 °C. Estos últimos centros corresponden a los de mayor fuerza ácida.

5.3.3. Extracción con solventes

Durante muchos años, la extracción fue la metodología escogida para la obtención de compuestos de interés a partir de las plantas. Desde prepararnos un té de hierbas cuando estamos enfermos hasta la producción de medicamentos de origen natural, la extracción es la protagonista principal. La extracción con solventes es una de las técnicas de separación preferidas debido a su simplicidad, velocidad y amplio alcance. Mediante la utilización de equipos relativamente simples y que requieren de poco tiempo para llevarse a cabo, los procedimientos de extracción ofrecen mucho a químicos e ingenieros[26].

Por ello, se decidió evaluar esta metodología en el tratamiento de algas para la obtención de productos de interés, y comparar los resultados con los obtenidos de la pirólisis rápida. Variables como el tiempo de extracción, el volumen de solvente y la polaridad del mismo fueron analizadas. En todos los casos, se realizaron extracciones en caliente, ya que se sabe que la eficiencia de la extracción aumenta con la temperatura del solvente, debido al aumento de la solubilidad de los analitos en el mismo.

5.3.3.1. Calentamiento convencional

El formato del equipo consistió en una plancha de calentamiento, sobre la cual se colocó un erlenmeyer con boca esmerilada. Dentro del mismo se colocaron 0,2 g de alga junto con la

5. Materiales y Metodología

cantidad deseada del solvente a evaluar, una barra de agitación magnética y un refrigerante sobre el erlenmeyer para evitar la evaporación del solvente. Se procedió a calentar el sistema a temperatura de ebullición del solvente, y se dejó el sistema en esa condición por un dado tiempo. Una vez cumplido el tiempo de reacción, se apagó el calentamiento, se retiró el sistema de reflujo de la plancha y se dejó enfriar.

A continuación, se llevó a cabo una filtración para separar el material sólido del extracto. El sólido se dejó secar, mientras que el extracto fue sometido a evaporación a presión reducida mediante un rota-evaporador. Así, se logró eliminar todo el solvente y recuperar el extracto del alga. Para calcular el rendimiento del procedimiento, se pesó el material sólido y el extracto líquido y se lo relacionó porcentualmente con la masa inicial de alga.

Se evaluaron tiempos de 5; 10 y 15 minutos, con volúmenes de solvente de 10 y 20 mL. Se utilizó hexano para encontrar las condiciones de tiempo y volumen óptimas, y con esas condiciones se evaluaron posteriormente las extracciones con acetato de etilo y agua.

5.3.3.2. Calentamiento asistido por microondas (MO)

Tradicionalmente se ha utilizado el calentamiento convencional para innumerables experimentos, encontrándose que esta metodología es lenta e ineficiente, ya que depende de la conductividad térmica de los componentes, y resulta en un aumento de temperatura mayor del recipiente que del contenido en sí. En cambio, el calentamiento asistido por MO produce un calentamiento interno muy eficiente, por acoplamiento directo de la energía de MO con las moléculas del medio[27]. Así, la extracción asistida por MO permite reducir tanto los tiempos de extracción como la cantidad de solvente, debido a esta eficiencia de calentamiento[28].

Por ello, se decidió evaluar la eficiencia de extracción con calentamiento asistido por MO. Para ello, se utilizó un equipo de microondas CEM *Focused Microwave Synthesis System*, modelo *Discover Labmate*, monomodo, equipado con un sensor infrarrojo para la medición de temperatura, control directo de presión, un sistema de refrigeración por aire comprimido y 300 W de potencia máxima.

En tubos para irradiación de MO de 10 mL se colocaron cantidades a evaluar de biomasa en contacto con 1 mL del solvente escogido y una barrita magnética para incorporar agitación al sistema. Se colocaron los mismos dentro del reactor y se llevaron a cabo las extracciones a la máxima potencia del equipo, a temperatura de ebullición del solvente y evaluando también el efecto de diferentes tiempos de extracción. Finalizada la extracción, se separó la fracción sólida de la líquida mediante filtración, y se cuantificaron los porcentajes de rendimiento mediante la misma metodología ya descrita para la extracción por calentamiento convencional.

Se evaluaron tiempos de 2; 5 y 10 minutos para hexano y acetato de etilo, con cantidades de biomasa de 0,2 y 0,02 g debido a las restricciones en el volumen de solvente, con el objetivo de trabajar con las mismas proporciones solvente/biomasa empleadas en las extracciones con calentamiento convencional y poder comparar así ambos resultados.

5.4. Análisis de la composición de los bio-líquidos mediante Cromatografía Gaseosa acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM)

La composición de los bio-líquidos obtenidos tanto en los experimentos de pirólisis como de extracción con solventes fue determinada mediante Cromatografía Gaseosa acoplada a un Espectrómetro de Masas, marcas Shimadzu GC-MS-QP 5050 y GC-MS-QP 2020. La temperatura del inyector se mantuvo a 300 °C para asegurar la volatilización de todos los compuestos de la mezcla. La separación se llevó a cabo mediante una columna capilar Agilent VF-5 ms (5 % difenil-dimetil polisiloxano, baja polaridad). Como gas transportador fue utilizado Helio con un flujo de 0,5-1,0 $\mu\text{L min}^{-1}$. La temperatura del horno donde se encuentra la columna fue programada desde 80 °C (3 minutos) hasta 280 °C (20 minutos) con una velocidad de 10 °C min^{-1} . La temperatura de la interfase fue configurada a 280 °C y el espectrómetro de masas fue operado a 70 eV bajo ionización electrónica. En esta técnica, el porcentaje del área de los picos de los productos detectados depende del factor de respuesta del detector, siendo dificultosa la cuantificación de los productos. Sin embargo, es posible realizar una cuantificación relativa, considerando que el área del pico es directamente proporcional a su concentración dentro del pirolizado. De esta manera, es posible utilizar esta aproximación para evaluar los cambios en las cantidades relativas de los productos dentro del bio-líquido bajo diferentes condiciones de reacción. La identificación de los picos cromatográficos se llevó a cabo mediante la comparación de los patrones de fragmentación obtenidos con la librería NIST-MS, considerando un porcentaje de comparación superior al 85 %. En el caso de compuestos de importancia en química fina, se realizó la comparación con testigos puros.

5.5. Bibliografía

- [1] D. M. Jonh. Filamentous and Plantlike-Green Algae. *Freshwater Algae of North Americ*, pages 311–352, 2003.
- [2] A. Vonshak. *Spirulina Platensis Arthrospira: Physiology, Cell-Biology and Biotechnology*. Taylor & Francis, 1997.
- [3] M. M. El-sheekh, S. M. Daboor, M. A. Swelim, and S. Mohamed. Production and characterization of antimicrobial active substance from *Spirulina platensis*. *Iranian Journal of Microbiology*, 6(2):112–119, 2014.
- [4] T. Hirahashi, M. Matsumoto, K. Hazeki, Y. Saeki, M. Ui, and T. Seya. Activation of the human innate immune system by *Spirulina*: Augmentation of interferon production and NK cytotoxicity by oral administration of hot water extract of *Spirulina platensis*. *International Immunopharmacology*, 2(4):423–434, 2002.
- [5] J. Subhashini, S. V. K. Mahipal, M. C. Reddy, M. M. Reddy, A. Rachamalla, and P. Reddanna. Molecular mechanisms in C-Phycocyanin induced apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line-K562. *Biochemical Pharmacology*, 68(3):453–462, 2004.
- [6] V. Anand, V. Sunjeev, and R. Vinu. Catalytic fast pyrolysis of *Arthrospira platensis* (*spirulina*) algae using zeolites. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 118:298–307, 2016.
- [7] B. M. E. Chagas, C. Dorado, M. J. Serapiglia, C. A. Mullen, A. A. Boateng, M. A. F. Melo, and C. H. Ataíde. Catalytic pyrolysis-GC/MS of *Spirulina*: Evaluation of a highly proteinaceous biomass source for production of fuels and chemicals. *Fuel*, 179:124–134, 2016.
- [8] R. Rodríguez, J. J. Espada, J. Moreno, G. Vicente, L. F. Bautista, V. Morales, A. Sánchez-Bayo, and J. Dufour. Environmental analysis of *Spirulina* cultivation and biogas production using experimental and simulation approach. *Renewable Energy*, pages 1–9, 2017.
- [9] J. A. Mendiola, L. Jaime, S. Santoyo, G. Reglero, A. Cifuentes, E. Ibañez, and F. J. Señoráns. Screening of functional compounds in supercritical fluid extracts from *Spirulina platensis*. *Food Chemistry*, 102(4):1357–1367, 2007.
- [10] Z. Du, Y. Li, X. Wang, Y. Wan, Q. Chen, C. Wang, X. Lin, Y. Liu, P. Chen, and R. Ruan. Microwave-assisted pyrolysis of microalgae for biofuel production. *Bioresource Technology*, 102(7):4890–4896, 2011.

- [11] X. Tan, S. Liu, Y. Liu, Y. Gu, G. Zeng, X. Hu, X. Wang, S. Liu, and L. Jiang. Biochar as potential sustainable precursors for activated carbon production: Multiple applications in environmental protection and energy storage. *Bioresource Technology*, 227:359–372, 2017.
- [12] F. R. Oliveira, A. K. Patel, D. P. Jaisi, S. Adhikari, H. Lu, and S. K. Khanal. Environmental application of biochar: Current status and perspectives. *Bioresource Technology*, 246:110–122, 2017.
- [13] D. Mohan, A. Sarswat, Y. S. Ok, and C. U. Pittman. Organic and inorganic contaminants removal from water with biochar, a renewable, low cost and sustainable adsorbent - A critical review. *Bioresource Technology*, 160:191–202, 2014.
- [14] K. Palanichamy and A. Ariharaputhiran. Areca leaves as a source of carbon: Preliminary investigation as catalyst support for electrolytic hydrogen evolution in acidic medium. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(5):2263–2270, 2013.
- [15] M. B. Tasić, L. F. Rios Pinto, B. Colling Klein, V. B. Veljković, and R. Maciel Filho. Botryococcus braunii for biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 64:260–270, 2016.
- [16] R. E. Lee. *Phycology*. Fourth edition, 1999.
- [17] K. A. Al-Hothaly, E. M. Adetutu, M. Taha, D. Fabbri, C. Lorenzetti, R. Conti, B. H. May, S. S. Shar, R. A. Bayoumi, and A. S. Ball. Bio-harvesting and pyrolysis of the microalgae Botryococcus braunii. *Bioresource Technology*, 191:117–123, 2015.
- [18] J. de la Noue and N. de Pauw. The potential of microalgal biotechnology: A review of production and uses of microalgae. *Biotechnology Advances*, 6(4):725–770, 1988.
- [19] PerkinElmer. 2400 Series II CHNS/O Elemental Analysis. *Perkin Elmer*, 2011.
- [20] S. Thangalazhy-Gopakumar, S. Adhikari, S. A. Chattanathan, and R. B. Gupta. Catalytic pyrolysis of green algae for hydrocarbon production using H+ZSM-5 catalyst. *Bioresource technology*, 118:150–7, 2012.
- [21] I. V. Babich, M. van der Hulst, L. Lefferts, J. A. Moulijn, P. O’Connor, and K. Seshan. Catalytic pyrolysis of microalgae to high-quality liquid bio-fuels. *Biomass and Bioenergy*, 35(7):3199–3207, 2011.
- [22] A. Taguchi and F. Schüth. Ordered mesoporous materials in catalysis. *Microporous and Mesoporous Materials*, 77(1):1–45, 2005.

5. Materiales y Metodología

- [23] E. G. Vaschetto, S. G. Casuscelli, and G. A. Eimer. Acidity versus catalytic activity in bi-structured nanomaterials. *Microporous and Mesoporous Materials*, 268:170–177, 2018.
- [24] J. A. Alonso and X. Turrillas. Location of H⁺ sites in the fast proton-conductor (H₃O)SbTeO₆ pyrochlore. *Dalton Transactions*, 1510(5):865–867, 2005.
- [25] T. Ishii and T. Kyotani. Chapter 14 - Temperature Programmed Desorption. In Michio Inagaki and Feiyu Kang, editors, *Materials Science and Engineering of Carbon*, pages 287–305. Butterworth-Heinemann, 2016.
- [26] V.S. Kislík. *Solvent Extraction: Classical and Novel Approaches*. Elsevier, 2012.
- [27] C. O. Kappe. Controlled Microwave Heating in Modern Organic. *Angewandte Chemie-International Edition*, 43(46):6250–6284, 2004.
- [28] M. Llompарт, C. Garcia-Jares, M. Celeiro, and T. Dagnac. *Microwave-Assisted Extraction*. Elsevier Inc., third edition, 2018.

Capítulo 6

Resultados y Discusiones

6.1. Estudios sobre *Pithophora sp.*(Ph)

6.1.1. Caracterización de la biomasa

En la presente tabla se informan los resultados obtenidos en los análisis elemental y proximal para **Ph** (Tabla 6.1).

Tabla 6.1.: Resultados de la caracterización de **Ph**

Alga	% Cenizas	% Lípidos	% Proteínas	% HdeC ¹
<i>Pithophora sp.</i> (Ph)	27,3	5,3	38,5	28,8
	% C	% H	% N	
	32,6	0,2	4,6	

¹: Hidratos de Carbono.

Esta alga presentó cantidades similares de proteínas, hidratos de carbono y cenizas, con bajo porcentaje de lípidos; así, las cenizas formarán parte de la fracción sólida de la pirólisis, mientras que los demás compuestos serían transformados para formar parte de la fracción líquida y/o gaseosa. Esta especie, al igual que otras algas, presentó un elevado porcentaje de N, debido al alto porcentaje de proteínas en la misma. Harman-Ware y colaboradores encontraron valores similares de N (5,3%) para *Scenedesmus sp.*, que presentó un 27,8% de proteínas[1]. Rizzo y colaboradores, y Kan y colaboradores obtuvieron porcentajes de N de 6,7% para *Chlorella spp.* y de 4,1% para *Cladophora vagabunda* respectivamente, ambas con composiciones similares a **Ph**[2, 3].

Por otro lado, el contenido de C e H fue relativamente bajo, debido probablemente al alto porcentaje de proteínas e hidratos de carbono, que poseen un mayor porcentaje en peso de N y O. Comportamientos similares fueron reportados por Shuping y colaboradores y por Chen y colaboradores para *Dunaliella tertiolecta* y *Scenedesmus obliquus* respectivamente,

6. Resultados y Discusiones

con porcentajes de C de 35 - 40 % y valores similares de lípidos, proteínas e hidratos de carbono (2,9; 61,3; 21,7 y 6,5; 42,5; 18,8 respectivamente)[4, 5].

6.1.2. Pirólisis rápida y análisis de productos

En la siguiente tabla se muestran los porcentajes obtenidos para el alga **Ph** en las condiciones estudiadas (Tabla 6.2).

Tabla 6.2.: Porcentajes relativos de los productos de pirólisis de **Ph** a distintas temperaturas

Temp. (°C) / % de producto	300	400	500	600
Sólido	56	38	27	15
Líquido	7	12	13	23
Gas	37	50	60	62

Al analizar el sólido, se observó que al aumentar la temperatura disminuye el porcentaje de este producto, evidenciando la conversión de materia orgánica. Consecuentemente, se observó que la producción de bio-líquido aumentó con la temperatura, alcanzando un valor máximo de 23 % a 600 °C. El producto que se logró obtener en mayor porcentaje fue la fracción gaseosa, la cual por cuestiones técnicas del equipo no pudo ser recuperada y/o analizada.

El porcentaje de bio-líquido obtenido para **Ph** fue similar a valores encontrados para pirólisis de otras especies de algas. Miao y colaboradores obtuvieron valores de 17-24 % de bio-líquido para *Chllorella protothecoides* y *Microcystis aeruginosa* a 500 °C[6]. Por otro lado, para *Cladophora sp* se encontraron valores de bio-líquido del orden del 20 % a 600 °C[7]. Sin embargo, el porcentaje máximo del producto líquido obtenido para **Ph** fue menor que para otras especies de algas y biomasa lignocelulósicas. Para algas como *Oedogonium sp.*, *Cladophora vagabunda* y *Ulva ohnoi* se reportaron porcentajes máximos de bio-líquidos de 50-60 % para las dos primeras y 36 % para la tercera[3]. Además, para *Enteromorpha clathrata* y *Sargassum natans* se obtuvieron valores del orden de 34,1-41,2 y 28,8-33,7 % respectivamente[8]. En relación a biomasa lignocelulósica, valores de entre 50-67 % de bio-líquido se han reportado para eucaliptus, bagazo de la caña de azúcar y mazorcas de maíz[9]. Esto pudo deberse a varios factores, entre ellos el tipo de biomasa, la composición de la misma, las condiciones de reacción, el tipo de reactor, entre otras.

Se estudió la composición de todos los bio-líquidos mediante CG-EM, diluyendo una pequeña cantidad de los mismos en acetona, inyectando en el cromatógrafo y analizando los cromatogramas, con las condiciones ya descritas en la Sección 5.4. En la siguiente figura se muestra, a modo de ejemplo, el cromatograma resultante de analizar el bio-líquido obtenido a 600 °C (Figura 6.1).



Figura 6.1.: Cromatograma del bio-líquido de pirólisis de **Ph** obtenido a 600 °C

El cromatograma presentó numerosos picos, aunque pocos de ellos fueron los mayoritarios. La composición estuvo dada principalmente por compuestos oxigenados como fenol y anhidroazúcares, y en menor proporción algunos compuestos con nitrógeno presente en su estructura. Los productos más relevantes desde el punto de vista químico presentes en el líquido se encuentran señalados en el cromatograma. Las estructuras y nombres de éstos compuestos se muestran en la Figura 6.2, y en la Tabla 6.3 los porcentajes relativos de dichos compuestos a cada temperatura, calculados a partir de sus áreas.

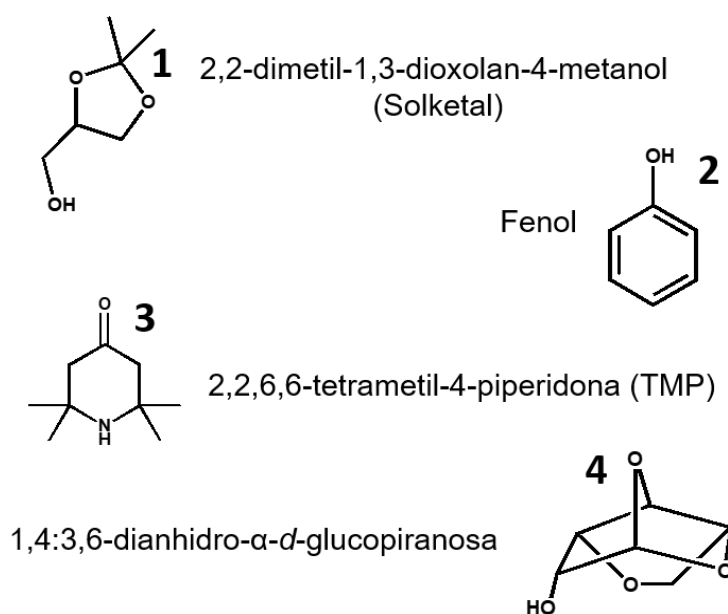


Figura 6.2.: Estructuras de los compuestos más relevantes encontrados en los bio-líquidos de **Ph**

El compuesto 2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-metanol, también conocido en inglés como solketal, resultó ser el producto mayoritario en tres de las cuatro temperaturas evaluadas. Este producto fue sintetizado por la metodología descrita por Suriyaprapadiloka y Kitiyanan[10], y utilizado como patrón para corroborar lo obtenido por CG-EM. A 500 °C se alcanzó a ob-

6. Resultados y Discusiones

Tabla 6.3.: Porcentajes de los compuestos relevantes de **Ph**

Temp. (°C) \ Producto	1 ^a	2	3	4
300	39	6	7	22
400	8	6	13	14
500	86	-	-	14
600	15	10	2	4

^a Caracterizado a partir del compuesto puro por CG-EM.

tener un 86 % de este producto. En bibliografía no se ha reportado hasta el momento la obtención de este compuesto a partir de pirólisis rápida de biomasa, ya sea como componente de la fase líquida o gaseosa. Esta molécula posee interesantes aplicaciones en la industria del combustible, como aditivo de gasolinas para aumentar el octanaje[11, 12], en la industria farmacéutica como precursor de agentes de suspensión, y en la industria de los plásticos como agente plastificante[12].

Las metodologías de síntesis disponibles en bibliografía consisten en mezclar glicerol con acetona en presencia de un catalizador ácido (H_2SO_4 , ácido p-toluensulfónico o TsOH, zeolitas, etc), con calentamiento, tiempos de reacción de varias horas y, en caso de utilizar catalizadores sólidos, múltiples pasos de activación previa del mismo; dando rendimientos de muy buenos a excelentes (80-100 %)[12, 10]. Particularmente, en este trabajo se obtuvo en un rendimiento muy bueno (86 % a 500 °C) en sólo 20 minutos de reacción, partiendo de biomasa renovable, sin ningún tipo de catalizador ni aditivo extra.

6.1.3. Conclusiones parciales

Como conclusiones de esta parte, se logró estudiar el alga **Ph** como fuente de biomasa en reacciones de pirólisis rápida. Cabe destacar, que es el primer registro de pirólisis rápida de este tipo de alga. Se encontró que el porcentaje de producción de bio-líquido es del orden del 20 % a 600 °C. En relación a la composición, el líquido fue analizado y se encontraron compuestos en su mayoría oxigenados, con un porcentaje menor de nitrogenados. Entre ellos, solketal fue el compuesto mayoritario, el cual no ha sido reportado en bibliografía como posible producto de pirólisis rápida de biomasa. Su importancia reside en sus aplicaciones como aditivo en combustibles y como agente plastificante, entre otras.

6.2. Estudios sobre *Arthrospira platensis* - *Spirulina* (Sp)

6.2.1. Caracterización de la biomasa

En la tabla presentada a continuación se muestran los resultados obtenidos para la caracterización de **Sp** (Tabla 6.4). Para esta especie de alga el contenido de proteínas resultó mayoritario. Esto se vio reflejado en el contenido de N, obteniéndose un mayor porcentaje respecto a **Ph**. Estos niveles de proteínas se encuentran dentro del rango reportado en estudios previos, de 36-70 % [13, 14, 15].

Tabla 6.4.: Resultados de la caracterización de **Sp**

Alga	% Cenizas	% Lípidos	% Proteínas	% HdeC ¹
<i>Spirulina</i> (Sp)	18,6 %	3,0 %	51,3 %	27,1 %
	% C	% H	% N	
	35,9	1,2	7,1	

¹: Hidratos de Carbono.

Ortega Calvo y colaboradores informaron niveles más altos de lípidos (6,4-7,5 % P/P) y menores cantidades de carbohidratos (12,6-18,8 % P/P)[16]. El análisis elemental del **Sp** mostró niveles de H comparables con los reportados por Chaiwong y Kiatsiriroat y Ortega Calvo, mientras que el contenido de C fue más bajo que los reportados (42,8-53,4 % P/P)[17]. Por otro lado, esta alga presentó un menor contenido de cenizas, lo cual se traduciría en una mayor proporción de materia orgánica plausible de ser transformada mediante la pirólisis.

6.2.2. Pirólisis rápida y análisis de productos

Las reacciones de pirólisis se realizaron siguiendo la misma metodología descrita para **Ph**. Los porcentajes de rendimiento de los productos se muestran a continuación (Tabla 6.5):

Tabla 6.5.: Porcentajes relativos de los productos de pirólisis de **Sp** a diferentes temperaturas

Temp. (°C)	300	400	500	600
% de producto				
Sólido	50	25	19	14
Líquido	13	34	33	40
Gas	37	41	48	46

6. Resultados y Discusiones

Para **Sp**, se encontró que el porcentaje de líquido recuperado fue mayor que para **Ph**, llegando al 40 % a una temperatura de 600 °C. Este valor resultó superior al encontrado por diversos autores para la misma alga. Chaiwong y Kiatsiriroat obtuvieron porcentajes de bio-líquido del orden de 21-29 % para *Spirulina* a 500 °C[17]. Jena y Das obtuvieron porcentajes cercanos a 30 % a la misma temperatura[18].

La fracción sólida siguió el comportamiento esperado, disminuyendo con el aumento de la temperatura, mientras que la fracción gaseosa no sufrió cambios muy significativos en las condiciones evaluadas.

Se estudió la composición del líquido mediante CG-EM, utilizando acetona como solvente de dilución. Se analizaron los picos cromatográficos y se determinaron las áreas relativas. A modo de ejemplo, se muestra el cromatograma del bio-líquido de pirólisis obtenido a 600 °C (Figura 6.3).

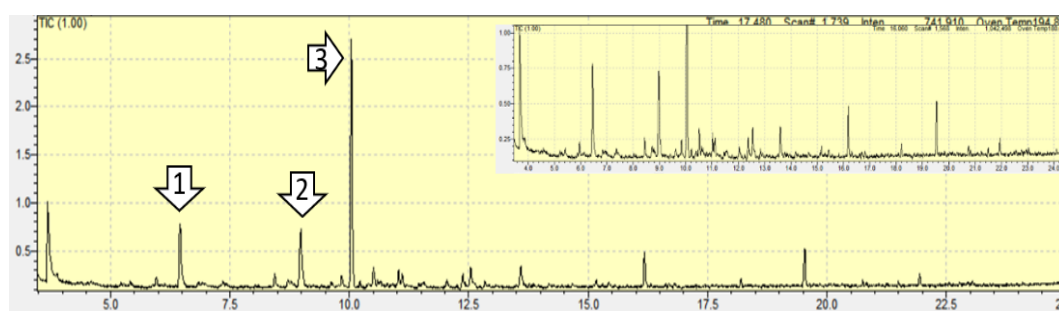


Figura 6.3.: Cromatograma del bio-líquido de **Sp** recuperado a 600 °C

Los bio-líquidos obtenidos a partir de **Sp** presentaron principalmente productos nitrogenados heterocíclicos, y en menor proporción compuestos oxigenados y algunos hidrocarburos. Dadas estas condiciones, no resultó viable el uso de estos líquidos como posibles biocombustibles. Dentro de los productos más relevantes, se destacaron aquellos esquematizados en la Figura 6.4; y en la Tabla 6.6 se presentan los porcentajes a cada temperatura, calculados a partir de las áreas relativas.

Tabla 6.6.: Porcentajes de los compuestos relevantes de **Sp**

Temp. (°C) \ Producto	1	2	3 ^a
300	2	3	84
400	8	30	40
500	2	24	6
600	14	14	38

^a Caracterizado a partir del compuesto puro por CG-EM.

El derivado 2,2,6,6-tetrametil-4-piperidona, o triacetonamina (TMP), predomina en tres de las cuatro temperaturas estudiadas. Esta molécula posee interesantes aplicaciones

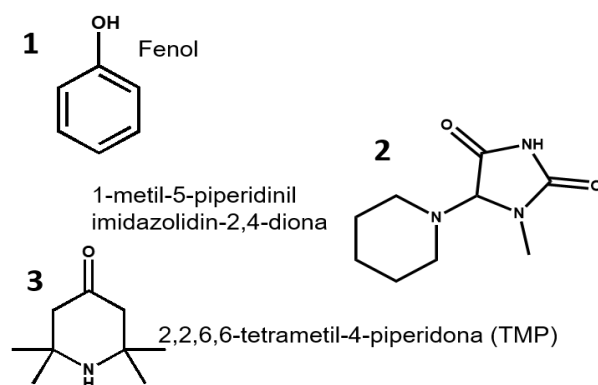


Figura 6.4.: Estructuras y porcentajes relativos de los compuestos más relevantes encontrados en los bio-líquidos de **Sp**

como estabilizante en polímeros y aceites frente a la oxidación[19, 20, 21], y también como precursor en la síntesis de sondas para Espectroscopía de Resonancia de Spin Electrónico (RSE)[22], en la producción de polímeros como radical libre “vivo”[23], en la síntesis de fármacos[24], entre otras. Estudios previos evidencian la formación de este compuesto en extractos de plantas y hongos a partir de la combinación de acetona y amoníaco[25, 26]. Más recientemente, Cao y colaboradores realizaron la pirólisis rápida de aguas de depuradora y recuperaron el bio-líquido obtenido en la trampa con dos solventes diferentes: acetona o metanol. TMP estuvo presente en el líquido recuperado con acetona, no así en el líquido obtenido utilizando metanol[27].

Se han descrito diversas metodologías para la producción de este precursor, pero la mayoría de ellas requieren de elevados tiempos de reacción (hasta días), altas presiones, promotores de reacción (tiocianato de amonio, nitrato de litio, etc.) o ácidos orgánicos o inorgánicos como catalizadores, con rendimientos que no superan el 50 %[28, 29]. Con pirólisis rápida de **Sp**, es posible producir TMP en un porcentaje elevado (80 %) en sólo 20 minutos.

6.2.3. Conclusiones parciales

Como conclusiones de esta parte, se logró estudiar el alga **Sp** como fuente de biomasa en reacciones de pirólisis rápida. Se encontró que el porcentaje de producción de bio-líquido alcanzó su máximo valor a 600 °C (40 %). El bio-líquido estaba compuesto principalmente por derivados nitrogenados, siendo TMP el producto más interesante y abundante. La producción de este compuesto resulta interesante debido a que la materia prima es renovable, y al hecho de que las metodologías de síntesis descritas en bibliografía no han sido del todo optimizadas para una potencial producción a nivel industrial.

6.3. Estudios sobre *Botryococcus braunii* (Bb)

6.3.1. Caracterización de la biomasa

Los resultados de la caracterización de **Bb** se presentan en la Tabla 6.7:

Tabla 6.7.: Resultados de la caracterización de **Bb**

Alga	% Cenizas	% Lípidos	% Proteínas	% HdeC ¹
	1,7%	58,9%	12,8%	26,8%
<i>B. Braunii</i> (Bb)	% C	% H	% N	
	75,7	9,9	1,8	

¹: Hidratos de Carbono.

A diferencia de las otras algas estudiadas, **Bb** presentó un elevado porcentaje de lípidos, superando ampliamente los valores de proteínas e hidratos de carbono. Este valor se correspondió con los informados previamente en bibliografía para esta misma alga[30, 31, 32, 33]. El porcentaje de cenizas fue del 2%, permitiendo aprovechar casi totalmente la biomasa de **Bb**. Además, el análisis elemental arrojó un valor de porcentaje de C y de H elevados, probablemente debido al alto contenido de lípidos. Resultados similares se observaron para otras especies de algas con alto contenido de lípidos. Para *Schizochytrium limacinum*, Anand y colaboradores observaron una relación similar entre contenido de lípidos y porcentajes de C e H (51; 58 y 8,7 respectivamente)[34].

6.3.2. Pirólisis rápida y análisis de productos

Se llevaron a cabo los estudios de pirólisis rápida de **Bb**. Los resultados se reflejan a continuación en la Tabla 6.8.

Tabla 6.8.: Porcentajes relativos de los productos de pirólisis de **Bb**

Temp. (°C)	300	400	500	600
% de producto				
Sólido	34	6	2	1
Líquido	33	49	60	48
Gas	33	45	38	51

El mayor rendimiento en la producción de bio-líquido se alcanzó a 500 °C, con un valor de 60%; porcentaje que resultó mejor al compararlo con las dos especies de algas anteriormente estudiadas, y con otras especies de algas reportadas en bibliografía[3, 6, 8]. Para

6.3. Estudios sobre *Botryococcus braunii* (**Bb**)

especies como *Laminaria digitata* y *Fucus serratus*, Yanik y colaboradores obtuvieron porcentajes de líquido (fracción orgánica + fracción acuosa) de 35-40 % aproximadamente[35]. En la pirólisis del alga *Enteromorpha clathrata* se obtuvo un valor máximo de bio-líquido de 41,2%, también a 500 °C.

Por otro lado, el rendimiento obtenido para **Bb** fue comparable o superior respecto a trabajos publicados para biomasas de naturaleza lignocelulósica[9, 36, 37]. A modo de ejemplo, en la pirólisis de Pino bronco, Roble, Eucalipto y Cedro japonés, investigadores obtuvieron rendimientos de 61,6; 65,7; 59,2 y 62,6 % respectivamente[38]. A continuación, se procedió a estudiar la composición química del producto líquido. Para ello, fue necesario disolver el bio-líquido en hexano, ya que el mismo era muy poco soluble en acetona, fenómeno que evidenció un cambio importante en la composición del bio-líquido obtenido. Se muestra a continuación el cromatograma obtenido en la pirólisis de **Bb** a 500 °C (Figura 6.5) y la estructura de los productos mayoritarios (Figura 6.6).

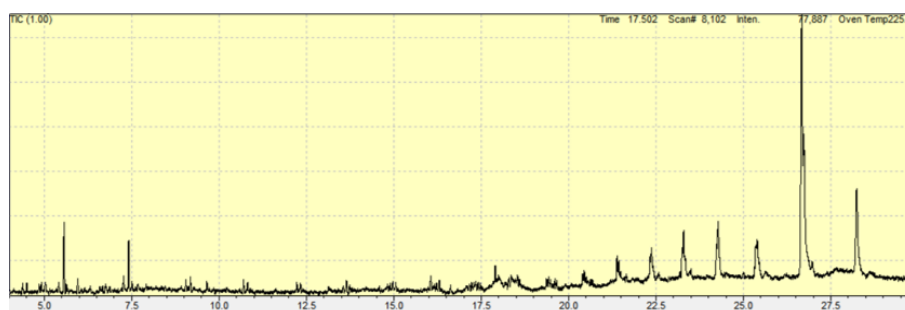


Figura 6.5.: Cromatograma del bio-líquido de **Bb** recuperado a 500 °C

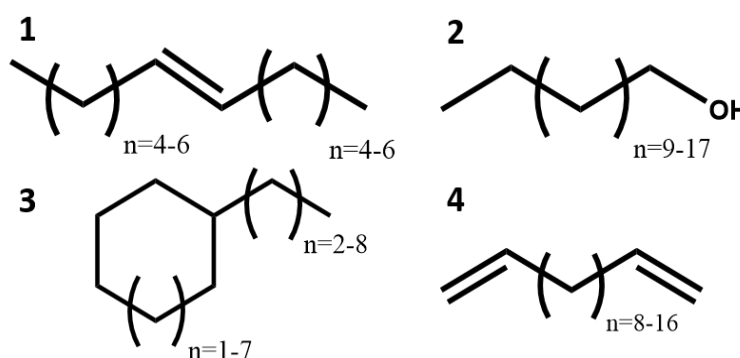


Figura 6.6.: Estructuras de los compuestos más relevantes encontrados en los bio-líquidos de **Bb**

Todos los bio-líquidos resultaron en una compleja mezcla de hidrocarburos; en su mayoría insaturados y alcoholes de cadena larga, y en menor proporción hidrocarburos saturados, cíclicos y ramificados. En todas las temperaturas evaluadas, el 1,19-eicosadieno (Compuesto

6. Resultados y Discusiones

4, n=16) e isómeros de éste son los principales productos, superando el 55 % de abundancia en todos los casos. Estos resultados resultaron interesantes, ya que la composición de estos bio-líquidos se asemejó mucho más a la de un precursor de biocombustibles en comparación con **Sp** y **Ph**.

De esta manera, se obtuvo a partir de **Bb** un bio-líquido que, con un mejoramiento tal que permita reducir las insaturaciones y los grupos funcionales oxigenados, y que logre fragmentar las cadenas hidrocarbonadas en estructuras de menor tamaño (C5-C7), podría convertirse en un biocombustible alternativo.

En función de estos resultados, y considerando la posibilidad de escalar la metodología de trabajo, se decidió optimizar la reacción de pirólisis rápida, evaluando el efecto del tiempo de reacción y la cantidad de biomasa, trabajando a la temperatura de mayor producción de bio-líquido (500 °C), con valores de flujo de N₂ e intensidad de vacío iguales a los empleados con anterioridad. Se evaluaron tiempos de reacción de 10, 20 y 30 minutos, y valores de biomasa pirolizada de 0,2, 1,0, 3,0 y 5,0 g. Cabe aclarar que por las características del reactor utilizado, no fue posible evaluar cantidades mayores de biomasa.

En la Figura 6.7 se grafica el efecto del tiempo en los porcentajes de rendimiento de los principales productos de pirólisis.

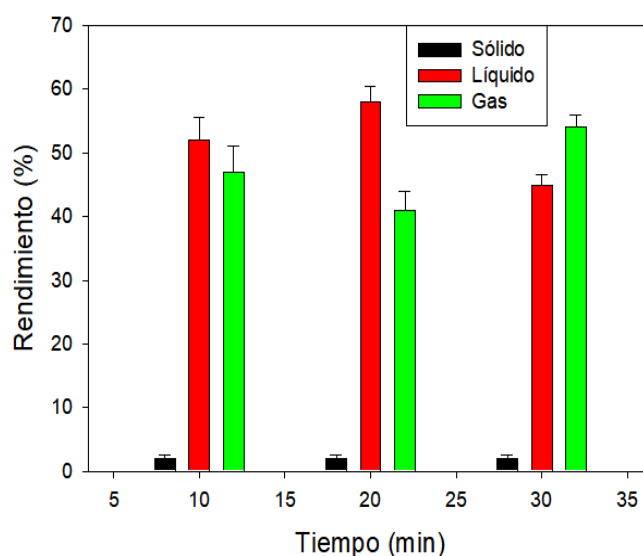


Figura 6.7.: Efecto del tiempo en el rendimiento de productos en la pirólisis de **Bb**.

Se pudo observar que con un aumento en el tiempo de reacción de 10 a 20 minutos, se produjo un aumento en la producción de bio-líquido de aproximadamente un 10%. Cuando se incrementó aún más el tiempo de reacción, se produjo una reducción importante de bio-líquido con un consecuente aumento de la fracción gaseosa, confirmando que un mayor tiempo de reacción da como resultado una mayor degradación de la biomasa.

En relación a estos resultados, se evaluó el efecto de la cantidad de biomasa con tiempos de reacción de 20 minutos. En la Figura 6.8 se muestran los resultados obtenidos.

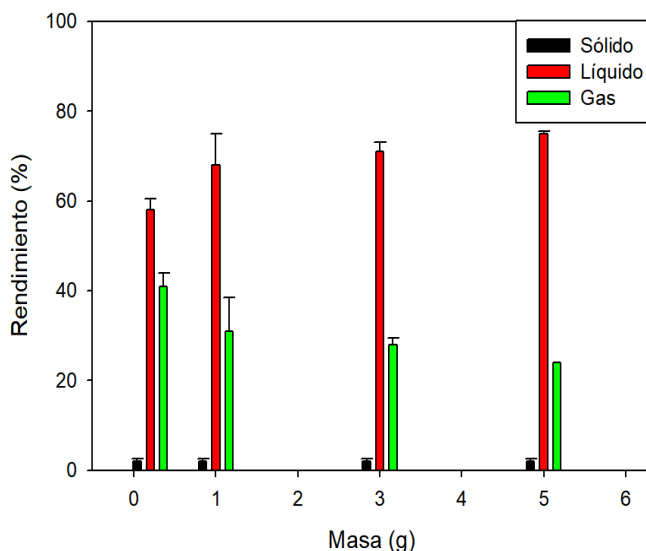


Figura 6.8.: Efecto de la masa pirolizada de **Bb** en el rendimiento de productos.

Se observó que el aumento de biomasa produjo un aumento en la producción de bio-líquido alcanzando un valor máximo de 70-75 % aproximadamente, y que a partir de los 3 gramos de biomasa en adelante prácticamente no se produjeron cambios en el rendimiento. Cabe destacar que, tanto para el estudio de tiempo como de cantidad de biomasa, la composición relativa del bio-líquido resultó prácticamente inalterada. Esto implica que es posible trabajar con mayores cantidades de biomasa sin que se vea afectado el porcentaje de recuperación y/o la composición del bio-líquido.

6.3.3. Caracterización del bio-líquido de **Bb**

El conocimiento de ciertas propiedades de la biomasa y sus derivados es de suma importancia cuando se desea aplicar como fuente de energía. Una de esas propiedades es el Poder Calorífico o HHV (*High Heating Value*) por sus siglas en inglés. Este valor representa la entalpía de la combustión completa del combustible estudiado, es decir con todo el carbono convertido en CO₂ y todo el hidrógeno convertido en H₂O, y puede determinarse, mediante el análisis elemental del combustible en cuestión, utilizando la Ecuación 6-1[29].

$$HHV(\text{MJ kg}^{-1}) = 3,55.C^2 - 232.C - 2230.H + 51,2.C.H + 131.N + 20600 \quad (6-1)$$

De acuerdo a lo obtenido en la pirólisis de **Bb**, se analizó la potencialidad de los bio-líquidos de entregar calor en caso de ser utilizado como combustible. Se realizó el análisis elemental de los bio-líquidos producidos a diferentes temperaturas, utilizando el equipo

6. Resultados y Discusiones

descripto en la Sección 5.2.1, y se calculó el índice HHV, utilizando la Ecuación 6-1. Los resultados se muestran en la siguiente tabla comparativa (Tabla 6.9).

Tabla 6.9.: Análisis elemental e índice HHV de los bio-líquidos (BL) de **Bb**

Parámetro \ BL	BL 300 °C	BL 400 °C	BL 500 °C	BL 600 °C	BL ligno-celulósico ^b	Combustible fósil ^b
% C	80,8	71,3	74,0	64,4	54,0-58,0	83,0-87,0
% H	3,1	2,6	2,7	3,4	5,5-7,0	10,0-14,0
% N	2,1	5,0	4,6	6,5	0-0,2	0,01-0,7
% S	0,6	0,5	0,5	0,7	- ^c	0,05-5,0
% O ^a	11,5	18,1	16,1	23,0	35,0-40,0	0,05-1,5
HHV (MJ kg ⁻¹)	31,1	26,5	27,7	24,9	19,2-22,3	46,0-58,5

^a Valor calculado como $\%O = 100 - \%H - \%C - \%N - \%S$, ^b Datos tomados de [39], ^c Valores no especificados.

Los bio-líquidos provenientes de **Bb** presentaron mayores valores de HHV que aquellos provenientes de material lignocelulósico, aunque menores que los valores obtenidos para combustibles fósiles. Esto se debió principalmente al contenido de C e H de los líquidos, los principales aportantes en el cálculo de este índice. La presencia de hidrocarburos de cadena larga con alto contenido de oxígeno e insaturaciones, se traduce en un aumento del porcentaje de O y una reducción del porcentaje de H. El efecto resultante es una reducción neta de los porcentajes de C y de H de los bio-líquidos de **Bb**, disminuyendo así el valor del índice HHV.

Particularmente, se evidenció una disminución de HHV con el aumento de la temperatura de pirólisis de **Bb**. A 300 °C, con un rendimiento de bio-líquido de 33 %, el índice HHV fue mayor que a la temperatura de mayor producción de líquido (500 °C). Al comparar los bio-líquidos obtenidos de la pirólisis de **Bb** a 300 y 500 °C, se encontró que a 500 °C se favoreció la formación de una mayor cantidad de compuestos oxigenados e insaturados, generando así una reducción proporcional en el contenido de C e H y, consecuentemente, un menor valor de HHV.

Esta tabla también permitió comparar otros parámetros de suma importancia en los combustibles, como son el contenido de oxígeno, nitrógeno y azufre. El contenido de estos elementos en los bio-líquidos de **Bb** fue muy superior al de un combustible fósil, lo cual se traduce en una baja densidad energética[40]. Además, la combustión de N y S dan como productos gases perjudiciales para el ser humano y el ambiente (NO_x y SO_x)[41]. Es decir que, para utilizar estos bio-líquidos como potenciales biocombustibles, es necesario realizarles un tratamiento posterior para mejorar sus propiedades, de la misma manera que se realiza para un combustible fósil.

6.3.4. Pirólisis rápida catalítica

Con el objetivo de mejorar la composición y producción del bio-líquido de pirólisis, y de reducir el gasto energético, se decidió llevar a cabo reacciones de pirólisis de **Bb** en presencia de catalizadores. Para ello, se pesó la biomasa a pirolizar y el catalizador, siendo la masa de este último un 20 % P/P de la biomasa previamente pesada. La biomasa y el catalizador se mezclaron mecánicamente en un mortero y se colocaron en un bote de cerámica para llevar a cabo las reacciones de pirólisis. Se evaluó un catalizador mesoporoso con dominios zeolíticos y un pirocloro, descritos en la Sección 5.3.2. El tiempo de reacción fue de 20 minutos, en condiciones de vacío y flujo de N₂ empleadas anteriormente. Se analizaron los resultados obtenidos a 300; 400 y 500 °C. En la siguiente tabla se muestran los rendimientos de la fracción líquida obtenidos para ambos catalizadores (Tabla 6.10).

Tabla 6.10.: Efecto de catalizadores en la producción del bio-líquido en la pirólisis de **Bb**

Catalizador	Temperatura (°C)	% Líquido
Mesoporoso con dominios zeolíticos	300	25
	400	31
	500	39
Pirocloro (H ₃ O)SbTeO ₆	300	23
	400	42
	500	45

La presencia de los catalizadores produjo una reducción en el porcentaje de bio-líquido producido, respecto a la pirólisis no catalítica. Los bio-líquidos obtenidos se analizaron por CG-EM. A modo de ejemplo se muestran los perfiles cromatográficos de los bio-líquidos obtenidos en la pirólisis a 500 °C, con ambos catalizadores.

En el análisis de la composición, se observó que los crudos provenientes de ambos sistemas catalíticos presentaron perfiles cromatográficos similares (Figura 6.9, (b) y (c)). Se identificaron prácticamente los mismos productos que se encontraban presentes en los bio-líquidos obtenidos por pirólisis rápida no catalítica (Figura 6.9, (a)), aunque la cantidad relativa entre ellos fue diferente. Se observó un aumento en el área de los picos de productos de menor peso molecular respecto al bio-líquido obtenido sin catalizador, lo cual indica que los catalizadores favorecieron la degradación del material a compuestos de menor tamaño, aunque no lograron reducir las insaturaciones y los grupos funcionales oxigenados.

6.3.5. Extracción con solventes

Se decidió realizar extracciones con solventes del alga **Bb**, para comparar la eficiencia de esta metodología con la pirólisis rápida en la obtención de compuestos hidrocarbonados,

6. Resultados y Discusiones

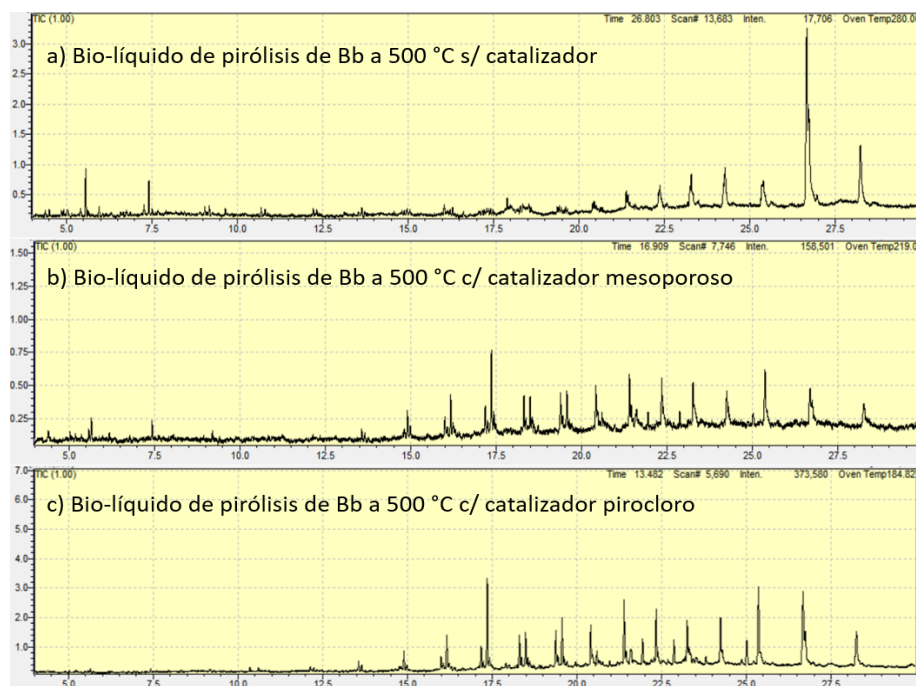


Figura 6.9.: Cromatogramas obtenidos de los bio-líquidos de pirólisis no catalítica y catalítica de **Bb**.

para su posterior aplicación como biocombustible. Se llevaron a cabo extracciones con calentamiento mediante dos metodologías: convencional y asistida por irradiación de microondas.

6.3.5.1. Calentamiento convencional

Los experimentos fueron realizados utilizando 0,2 g de biomasa, al igual que en los experimentos de pirólisis rápida, para realizar la comparación de ambos sistemas de obtención de bio-líquidos. Se evaluaron las mejores condiciones de reacción utilizando hexano, y con esas condiciones seleccionadas se estudiaron las extracciones con acetato de etilo y agua. Los resultados obtenidos de este estudio se encuentran resumidos en la Tabla 6.11.

Realizando el estudio preliminar con hexano, se encontró que la variación en el volumen de solvente empleado prácticamente no produjo modificaciones en el porcentaje de líquido extraído. Por otro lado, tiempos superiores a 10 minutos generaron una reducción en el porcentaje de líquido. En relación a estos resultados, se decidió trabajar con volúmenes de solvente de 10 mL y tiempos de extracción de 10 minutos para los estudios con el resto de los solventes planteados.

Respecto a los porcentajes, se vio que la recuperación de fracción líquida estuvo dentro del orden de los valores obtenidos en la pirólisis rápida. Cabe destacar que, el porcentaje de sólido obtenido en este caso fue mucho más elevado, lo cual hace pensar que, en el caso de aplicar esta metodología a nivel industrial, ese sólido debería tener una disposición final; a

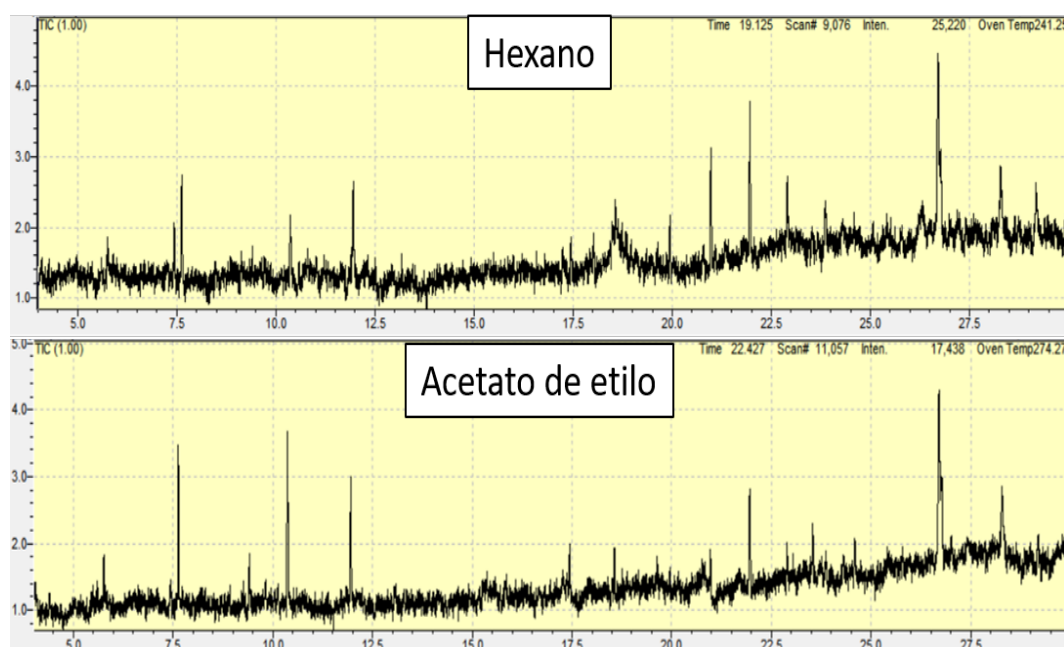
Tabla 6.11.: Condiciones experimentales y resultados obtenidos en la extracción con solventes de **Bb**

Solvente	Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Volumen (mL)	% Líquido	% Sólido
Hexano	5	68	10	53	45
	5		20	54	48
	10		10	53	46
	15		10	51	47
Acetato de etilo	10	77	10	45	52
Agua	10	100	10	8	90

diferencia de la pirólisis, donde sólo se obtenía un 2% de cenizas.

A continuación, se estudió la capacidad de extracción con acetato de etilo, un solvente de una polaridad mayor y menos tóxico que el hexano. Se llevó a cabo en las condiciones previamente seleccionadas y se obtuvo un porcentaje de extracto menor, probablemente debido a la polaridad del solvente (Tabla 6.11). Cuando se realizó la extracción con agua, un solvente muy polar e inocuo, lamentablemente se obtuvo una baja eficiencia de extracción.

Los perfiles cromatográficos obtenidos para las mejores condiciones de extracción, con hexano y acetato de etilo se muestran a continuación (Figura 6.10).

**Figura 6.10.:** Cromatogramas de los líquidos obtenidos mediante extracción con hexano y acetato de etilo de **Bb**

6. Resultados y Discusiones

Al analizar los cromatogramas se encontró que ambos solventes extrajeron prácticamente los mismos compuestos, predominando aldehídos y alcoholes de cadena larga. La complejidad de estas mezclas fue menor a la observada para los bio-líquidos obtenidos en la pirólisis rápida, pero para ambas metodologías se obtuvo un líquido compuesto mayoritariamente por derivados oxigenados; por lo cual los líquidos obtenidos por extracción con solventes también requerirían de un mejoramiento posterior para su aplicación como posible biocombustible.

6.3.5.2. Calentamiento asistido por irradiación de microondas (MO)

Se realizaron experimentos de extracción con solventes de **Bb** con calentamiento asistido por irradiación de MO, metodología que presenta una serie de ventajas ya mencionadas anteriormente. En estos experimentos no se realizaron las pruebas utilizando agua como solvente, debido a los bajos rendimientos obtenidos en la extracción convencional. En la Tabla 6.12 se muestran los resultados obtenidos para las extracciones realizadas en MO.

Tabla 6.12.: Condiciones experimentales y resultados obtenidos en la extracción con solventes asistida por MO de **Bb**

Solvente	Volumen (mL)	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Masa (g)	% Líquido	% Sólido
Hexano	1	70	2	0,2	35	51
			5		35	50
			10		36	51
			2	0,02	41	48
Acetato de etilo		75	2	0,2	38	51
			5		41	51
			10		42	49
			2	0,02	48	43

La extracción asistida por MO no mejoró los porcentajes de bio-líquido obtenidos. Para el caso del hexano eran esperables estos resultados, ya que posee un momento dipolar inducido muy bajo, absorbe poca radiación de MO y el calentamiento no es eficiente. Respecto al acetato de etilo, los porcentajes de recuperación fueron similares a los obtenidos en la extracción convencional.

El bajo porcentaje de extracción podría deberse a la saturación del solvente, debido a la poca cantidad que puede emplearse en esta metodología, limitada por las características de los reactores de MO. Por ello, se llevaron a cabo experimentos con diez veces menos cantidad de biomasa, consiguiendo de esta manera trabajar con una relación solvente/biomasa igual a la utilizada en las extracciones por calentamiento convencional. En la Tabla 6.12 se observó que efectivamente, en cuanto se modificó la relación solvente/biomasa, se pudo obtener un

mayor porcentaje de recuperación de bio-líquido, tanto para hexano como para acetato de etilo. Incluso, con acetato de etilo se obtuvo un mayor porcentaje de recuperación de bio-líquido con tan solo 2 minutos de irradiación de MO.

Realizando la comparación entre la extracciones con solvente y la pirólisis rápida (Tabla 6.13) se pudo ver que ambas metodologías poseen sus ventajas y desventajas. Es importante destacar que, si el objetivo es escalar la metodología para una futura aplicación en industria, la pirólisis rápida resulta más conveniente; ya que existe la tecnología para escalar el sistema, incluso para trabajar con flujo continuo, se genera menor cantidad de residuos y se pueden aprovechar simultáneamente dos fracciones de productos.

Para que la pirólisis resulte aún más llamativa, sería importante continuar estudiándola para encontrar los catalizadores apropiados y las condiciones de trabajo necesarias para poder reducir las temperaturas y mejorar aún más las propiedades del bio-líquido recuperado. De todas maneras, las tecnologías necesarias para realizar un mejoramiento, tanto del líquido como del gas, ya existen y son las que se utilizan actualmente en la industria petrolera[42].

Tabla 6.13.: Cuadro comparativo de las metodologías de tratamiento de biomasa estudiadas

Extracción con solventes	Pirólisis rápida
<ul style="list-style-type: none"> • Requiere importantes volúmenes de solvente <ul style="list-style-type: none"> • Temperaturas moderadas (60-100 °C) • Gran porcentaje de residuo sólido que requiere disposición final <ul style="list-style-type: none"> • Tecnología costosa y poco eficiente para trabajar a gran escala (Batch) <ul style="list-style-type: none"> • Requiere de sistema de refrigeración para evitar la evaporación del solvente • Permite trabajar a presión atmosférica y en un medio no inerte 	<ul style="list-style-type: none"> • Prácticamente no utiliza solvente • Temperaturas altas (300-600 °C) • Disposición final sólo de cenizas • Tecnología relativamente simple y económica, de fácil escalado (Batch o Flujo continuo) <ul style="list-style-type: none"> • Requiere de sistema de refrigeración para condensar los vapores • Es necesario trabajar en atmósfera sin O₂ y a presiones reducidas

6.3.6. Conclusiones parciales

Se estudió el alga **Bb** como potencial fuente de biocombustibles. En primer lugar, se evaluó el uso de pirólisis rápida, encontrándose porcentajes de rendimiento de bio-líquido superiores a las otras algas estudiadas, e incluso a otras especies de algas publicadas en bibliografía. El mayor porcentaje se obtuvo a 500 °C, con un valor de 60%, siendo los

6. Resultados y Discusiones

hidrocarburos de cadena larga, en su mayoría insaturados y oxigenados (alcoholes, dienos y ácidos), los productos predominantes.

En función de los resultados se estudió la posibilidad de optimizar las condiciones de reacción de pirólisis. Fue posible trabajar con mayor cantidad de biomasa y menores tiempos de reacción sin verse afectada la composición de los mismos.

Se procedió a la caracterización del bio-líquido para su posible aplicación como biocombustible. Se realizó análisis elemental de los bio-líquidos para el cálculo del índice HHV, y se compararon todos estos parámetros con bio-líquidos provenientes de material lignocelulósico y con un combustible fósil. Los bio-líquidos de **Bb** tuvieron mejores propiedades que los bio-líquidos lignocelulósicos, pero aún así no alcanzaron los valores de un combustible fósil, debido principalmente al elevado contenido de oxígeno, azufre y nitrógeno.

A continuación, se evaluó la utilización de catalizadores sólidos en las reacciones de pirólisis, sin obtener resultados alentadores. Por último, se realizaron extracciones con solventes orgánicos para comparar las metodologías de obtención de bio-líquido. La extracción convencional arrojó mejores rendimientos, utilizando hexano como solvente, mientras que la extracción asistida por MO resultó mas eficiente utilizando acetato de etilo. Respecto a la composición, ambos solventes permitieron extraer prácticamente los mismos compuestos, en su mayoría aldehídos y alcoholes de cadena larga. Comparando las metodologías, la pirólisis posee notables ventajas respecto a las extracciones con solvente, sobre todo cuando se evalúa la posibilidad de un escalado a nivel industrial y el impacto ambiental.

6.4. Bibliografía

- [1] A. E. Harman-Ware, T. Morgan, M. Wilson, M. Crocker, J. Zhang, K. Liu, J. Stork, and S. Debolt. Microalgae as a renewable fuel source: Fast pyrolysis of *Scenedesmus* sp. *Renewable Energy*, 60:625–632, 2013.
- [2] A. M. Rizzo, M. Prussi, L. Bettucci, I. Marsili Libelli, and D. Chiaramonti. Characterization of microalga *Chlorella* as a fuel and its thermogravimetric behavior. *Applied Energy*, 102:24–31, 2013.
- [3] T. Kan, S. Grierson, R. De Nys, and V. Strezov. Comparative assessment of the thermochemical conversion of freshwater and marine micro- and macroalgae. *Energy and Fuels*, 28(1):104–114, 2014.
- [4] Z. Shuping, W. Yulong, Y. Mingde, L. Chun, and T. Junmao. Pyrolysis characteristics and kinetics of the marine microalgae *Dunaliella tertiolecta* using thermogravimetric analyzer. *Bioresource Technology*, 101(1):359–365, 2010.
- [5] W. H. Chen, Z. Y. Wu, and J. S. Chang. Isothermal and non-isothermal torrefaction characteristics and kinetics of microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. *Bioresource Technology*, 155:245–251, 2014.
- [6] X. Miao, Q. Wu, and C. Yang. Fast pyrolysis of microalgae to produce renewable fuels. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 71(2):855–863, 2004.
- [7] B. Maddi, S. Viamajala, and S. Varanasi. Comparative study of pyrolysis of algal biomass from natural lake blooms with lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 102(23):11018–11026, 2011.
- [8] S. Wang, Q. Wang, J. X., X. Han, and H. Ji. Compositional analysis of bio-oil derived from pyrolysis of seaweed. *Energy Conversion and Management*, 68:273–280, 2013.
- [9] M. Carrier, J. E. Joubert, S. Danje, T. Hugo, J. Görgens, and J. H. Knoetze. Impact of the lignocellulosic material on fast pyrolysis yields and product quality. *Bioresource Technology*, 150:129–138, 2013.
- [10] N. Suriyaprapadilok and B. Kitiyanan. Synthesis of solketal from glycerol and its reaction with benzyl alcohol. *Energy Procedia*, 9:63–69, 2011.
- [11] G. S. Dmitriev, A. V. Terekhov, L. N. Zanaevskin, S. N. Khadzhiev, K. L. Zanaevskin, and A. L. Maksimov. Choice of a catalyst and technological scheme for synthesis of solketal. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 89(10):1619–1624, 2016.

6. Resultados y Discusiones

- [12] J. Kowalska-Kus, A. Held, M. Frankowski, and K. Nowinska. Solketal formation from glycerol and acetone over hierarchical zeolites of different structure as catalysts. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 426:205–212, 2017.
- [13] M. C. Matsudo, R. Pedrosa Bezerra, S. Sato, A. Converti, and J. C. Monteiro De Carvalho. Photosynthetic efficiency and rate of CO₂ assimilation by *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* continuously cultivated in a tubular photobioreactor. *Biotechnology Journal*, 7(11):1412–1417, 2012.
- [14] R. Pedrosa Bezerra, M. C. Matsudo, A. Converti, S. Sato, and J. C. Monteiro De Carvalho. Influence of ammonium chloride feeding time and light intensity on the cultivation of *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis*. *Biotechnology and Bioengineering*, 100(2):297–305, 2008.
- [15] Vonshak, A. *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-biology and Biotechnology*. Taylor & Francis, 1997.
- [16] J. J. Ortega-Calvo, C. Mazuelos, B. Hermosin, and C. Saiz-Jimenez. Chemical composition of *Spirulina* and eukaryotic algae food products marketed in Spain. *Journal of Applied Phycology*, 5(4):425–435, 1993.
- [17] K. Chaiwong and T. Kiatsiriroat. Characterizations of bio-oil and bio-char products from algae with slow and fast pyrolysis. *International Journal of Environment and Bioenergy*, 10(101):65–76, 2015.
- [18] U. Jena and K. C. Das. Comparative evaluation of thermochemical liquefaction and pyrolysis for bio-oil production from microalgae. *Energy and Fuels*, 25(11):5472–5482, 2011.
- [19] A. Georgiev, I. Karamancheva, and L. Topalova. Evaluation of the antioxidation activity of ionol and piperidone towards transformer oil using FT-IR spectroscopy. *Journal of Molecular Structure*, 797(1-3):25–33, 2006.
- [20] G. Przybytniak, K. Mirkowski, A. Rafalski, A. Nowicki, and I. Legocka. Effect of hindered amine light stabilizers on the resistance of polypropylene towards ionizing radiation. 50, 2005.
- [21] E. Yousif and R. Haddad. Photodegradation and photostabilization of polymers, especially polystyrene: Review. *SpringerPlus*, 2(1):1–32, 2013.
- [22] A. Miyaji, M. Kohno, Y. Inoue, and T. Baba. Singlet oxygen generation during the oxidation of L-tyrosine and L-DOPA with mushroom tyrosinase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 471(4):450–453, 2016.

- [23] C. J. Hawker. “Living” Free Radical Polymerization: A unique technique for the preparation of controlled macromolecular architectures. *Accounts of Chemical Research*, 4842(96):373–382, 1997.
- [24] L. Daleva and M. Nikolova. An attempt to elucidate the central depressive action of tempidon. *Neuropharmacology*, 11(6):801–805, 1972.
- [25] I. Stewart and T. A. Wheaton. Formation of Diacetinamine and Triacetinamine in plant extracts. *Phytochemistry*, 6:1587–1588, 1967.
- [26] L. F. Bjeldanes and G. W. Chang. Triacetinamine Formation in Fungal Extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 23(5):1010–1011, 1975.
- [27] J. P. Cao, X. Y. Zhao, K. Morishita, L. Y. Li, X. B. Xiao, R. Obara, X. Y. Wei, and T. Takarada. Triacetinamine formation in a bio-oil from fast pyrolysis of sewage sludge using acetone as the absorption solvent. *Bioresource Technology*, 101(11):4242–4245, 2010.
- [28] G. Sosnovsky and M. Konieczny. Preparation of Triacetoneamine. *Zeitschrift für Naturforschung*, 32B:328–337, 1977.
- [29] G. Gliozzi, L. Frattini, P. Righi, and F. Cavani. Towards a more sustainable production of triacetoneamine with heterogeneous catalysis. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 393:325–332, 2014.
- [30] M. B. Tasić, L. F. Rios Pinto, B. C. Klein, V. B. Veljković, and R. Maciel Filho. *Botryococcus braunii* for biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 64:260–270, 2016.
- [31] P. Metzger and C. Largeau. *Botryococcus braunii*: A rich source for hydrocarbons and related ether lipids. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 66(5):486–496, 2005.
- [32] Y. Ghasemi, S. Rasoul-Amini, A. T. Naseri, N. Montazeri-Najafabady, M. A. Mobasher, and F. Dabbagh. Microalgae biofuel potentials (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 48(2):126–144, 2012.
- [33] S. D. Varfolomeev and L. A. Wasserman. Microalgae as source of biofuel, food, fodder, and medicines. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 47(9):789–807, 2011.
- [34] V. Anand, R. Gautam, and R. Vinu. Non-catalytic and catalytic fast pyrolysis of *Schizochytrium limacinum* microalga. *Fuel*, 205:1–10, 2017.
- [35] J. Yanik, R. Stahl, N. Troeger, and A. Sinag. Pyrolysis of algal biomass. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 103:134–141, 2013.

6. Resultados y Discusiones

- [36] R. M. Santos, A. O. Santos, E. M. Sussuchi, J. S. Nascimento, A. S. Lima, and L. S. Freitas. Pyrolysis of mangaba seed: Production and characterization of bio-oil. *Bioresource Technology*, 196:43–48, 2015.
- [37] P. Fu, W. Yi, Z. Li, and Y. Li. Comparative study on fast pyrolysis of agricultural straw residues based on heat carrier circulation heating. *Bioresource Technology*, 271(September 2018):136–142, 2019.
- [38] K. H. Kim, T. S. Kim, S. M. Lee, D. Choi, H. Yeo, I. G. Choi, and J. W. Choi. Comparison of physicochemical features of biooils and biochars produced from various woody biomasses by fast pyrolysis. *Renewable Energy*, 50:188–195, 2013.
- [39] Z. Hu, Y. Zheng, F. Yan, B. Xiao, and S. Liu. Bio-oil production through pyrolysis of blue-green algae blooms (BGAB): Product distribution and bio-oil characterization. *Energy*, 52:119–125, 2013.
- [40] A. Pattiya, S. Sukkasi, and V. Goodwin. Fast pyrolysis of sugarcane and cassava residues in a free-fall reactor. *Energy*, 44(1):1067–1077, 2012.
- [41] L. O Williams. Chapter 1 - Fossil fuels. In Laurence O Williams, editor, *An End to Global Warming*, pages 1–31. Pergamon, Oxford, 2002.
- [42] R. Benini, M. V. Cortés, M. P. Monsalvo, J.C. Paladino, L. Spinelli, M. S. Tambussi, and G. Trubiano. *Programa de Fortalecimiento de Escuelas Técnicas. Una escuela hacia el futuro. Refinación del Petróleo, Parte I*. Buenos Aires, Argentina, first edition, 2011.

Parte III.

Estudios y aplicaciones de los productos obtenidos de la pirólisis de algas

Capítulo 7

Materiales y Metodología

7.1. Estudios realizados sobre la fracción líquida o bio-líquido proveniente de pirólisis de algas

7.1.1. Mejoramiento del bio-líquido empleando diversas metodologías, catalíticas y no catalíticas

La diferencia crucial entre un bio-líquido proveniente de biomasa y un combustible fósil es la composición elemental, ya que el bio-líquido contiene elevados porcentajes de oxígeno, nitrógeno y azufre. Esto afecta la homogeneidad, polaridad, viscosidad, acidez y eficiencia energética del líquido[1, 2]. Esta problemática ha impulsado la búsqueda de múltiples metodologías catalíticas para el mejoramiento de las propiedades de los bio-líquidos de pirólisis[3, 4]. Mohammed y colaboradores lograron mejorar las propiedades del bio-líquido de pirólisis utilizando catalizadores zeolíticos y 400 °C de temperatura[5]. Como ya se mencionó anteriormente en la Sección 6.3.3, el bio-líquido proveniente de **Bb** es un excelente precursor de biocombustibles, aunque posee la desventaja de tener un elevado contenido de oxígeno y nitrógeno. Para intentar mejorar estas propiedades, se llevaron a cabo dos tipos de experimentos de reformado catalítico: un tratamiento estático (Figura 7.1) y otro dinámico. En ambos casos se trabajó en atmósfera inerte de N₂, evaluando los catalizadores mesoporosos con dominios zeolíticos y pirocloro descritos en la Sección 5.3.2.

En el tratamiento estático se evaluaron a su vez dos condiciones: una en sistema abierto y otra en sistema cerrado. El tratamiento estático en sistema abierto consistió en colocar 3 mL de bio-líquido en un balón de dos bocas en presencia de un 5% P/V de catalizador y agitación. En una de las bocas se colocó un refrigerante, mientras que en la otra se conectó una entrada de N₂. El sistema fue sometido a calentamiento utilizando un baño de arena, llegando así a temperaturas de aproximadamente 200 °C. Se dejó transcurrir la reacción durante 1 h y luego se dejó enfriar. Por otro lado, el experimento en sistema cerrado consistió en colocar las mismas cantidades de bio-líquido y catalizador en un tubo de vidrio grueso

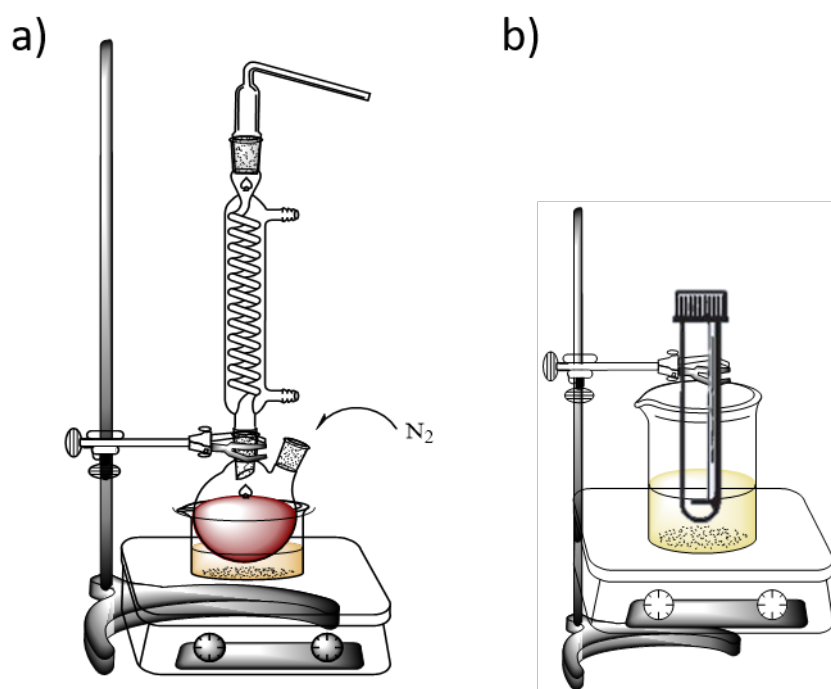


Figura 7.1.: Esquemas de las reacciones no catalíticas y catalíticas en sistema estático: a) Abierto, y b) Cerrado

con tapa de teflón a rosca. Previo al sellado del sistema, se colocó una barra magnética y se purgó con N_2 . Se calentó el sistema en baño de arena durante 1 h y se dejó enfriar. Para ambas condiciones, se realizó la prueba sin catalizador como control.

En el tratamiento dinámico también se evaluaron dos condiciones: se realizaron experimentos a presión normal y a presión reducida (50-100 mTorr), pero ambos con atmósfera inerte. Para ello, se colocaron 3 mL del bio-líquido con 5% P/V de catalizador en una cápsula de cuarzo dentro del reactor de pirólisis. Se llevaron a cabo reacciones de pirólisis del bio-líquido a 250 °C durante 20 minutos, a presión normal o reducida, según corresponda. Se efectuaron también las reacciones sin catalizador como control. Los bio-líquidos resultantes tanto de los tratamientos estáticos como dinámicos fueron filtrados, para separar el líquido del catalizador, y analizados por CG-EM.

7.1.2. Medición de propiedades antifúngicas y antioxidantes

La composición química del bio-líquido obtenido en la pirólisis de biomasa depende de la materia prima inicial y de las condiciones de la transformación térmica aplicada (temperatura, tiempo de residencia, tamaño de partícula, etc). Aunque algunos bio-líquidos son candidatos prometedores en la producción de nuevos biocombustibles, otros han sido estudiados para su aplicación en otras áreas, debido a sus propiedades como saborizantes alimenticios,

7.1. Estudios realizados sobre la fracción líquida o bio-líquido proveniente de pirólisis de algas

precursores de fármacos, fertilizantes, agentes antioxidantes, antifúngicos, etc[6, 7].

En el desarrollo de esta tesis se decidió evaluar la actividad antifúngica y antioxidante de bio-líquidos provenientes de la pirólisis rápida de **Sp** a 300 °C. Con el objetivo de comparar la actividad de **Sp** con la de bio-líquidos derivados de biomasa de origen celulósica y lignocelulósica, también se realizaron ensayos de bio-líquidos de pirólisis, obtenidos en el grupo de investigación, de pulpa de papel Kraft (**PK**), cáscara de girasol (**CG**) y cáscara de maní (**CM**), biomásas residuales proveniente de las industrias del papel y alimenticia. Los bioensayos se realizaron en colaboración con el grupo de la Dra. Rosana Alarcón de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Salta (UNSa).

7.1.2.1. Actividad antifúngica

Las infecciones por hongos son causadas por organismos eucariotas y tienen muchas similitudes con las células de mamíferos. La diferencia radica en la membrana celular, donde el contenido de esteroides es diferente; los mamíferos poseen colesterol, mientras que los hongos producen ergosterol. Muchos tratamientos contra hongos han sido enfocados en esta dirección, ya sea inhibiendo la síntesis de ergosterol, o utilizando una droga antifúngica de unión específica a este compuesto[8].

En el caso de biomasa lignocelulósica, los bio-líquidos obtenidos en la pirólisis rápida contienen un número considerable de fenoles provenientes de la degradación del polímero lignina[9]. Estos líquidos enriquecidos en fenoles se han empleado como preservadores de madera frente a hongos[10]. También es conocido que estos derivados fenólicos pueden secuestrar radicales libres generando productos estables no reactivos y además favorecen la quelación de metales, dos mecanismos esenciales para evitar la acción de hongos[11]. Por ejemplo, Okutucu y colaboradores estudiaron el bio-líquido proveniente de la cáscara de pistacho y su actividad fungicida contra hongos patógenos, de descomposición de la madera y saprófitos[12]; Kartal y colaboradores han estudiado la actividad fungicida y termicida de líquidos de pirólisis de madera de sugi y acacia, demostrando una mayor resistencia de la madera contra los hongos de pudrición marrón y una nula resistencia contra el ataque de termitas subterráneas[13].

El efecto antifúngico de los bio-líquidos se evaluó contra *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotium rolfsii*, que son hongos patógenos del suelo con un amplio rango de huéspedes[14, 15]. Estos hongos han sido identificados como la causa de enfermedades importantes en cultivos económicamente importantes de Argentina. Los hongos se aislaron en el campo y se mantuvieron en agar de dextrosa de papa (PDA) como placas. Las placas inoculadas de los dos hongos patógenos se sellaron con parafilm y se incubaron a 20 °C hasta que se produjo el crecimiento confluyente a través de la superficie del agar. Las placas fueron almacenadas a 4 °C. La actividad antifúngica se estudió utilizando un ensayo de contacto *in vitro* que produce inhibición del crecimiento hifal.

Se prepararon placas de PDA usando placas de Petri de vidrio de 6 cm de diámetro.

7. Materiales y Metodología

Se prepararon soluciones de bio-líquidos a diferentes concentraciones, usando DMSO al 5 % V/V como disolvente. Luego, se añadió 1 mL de solución a cada una de las placas de PDA que contenían 4 mL de agar a 50 °C, para obtener diferentes concentraciones finales (1; 2 y 4 mg mL⁻¹). En el centro de cada placa se colocó un disco de 5 mm de diámetro de especies de hongos que se habían cultivado durante no menos de 7 días. Las placas de PDA que contenían solución de DMSO-agua (5 % V/V), sin soluciones de bio-líquido se usaron como control negativo. Luego, las placas se sellaron con una película de polietileno y se incubaron en la oscuridad a 22 ± 2 °C[16]. Se prepararon cinco repeticiones para cada tratamiento. Las muestras de bio-líquido y los controles se organizaron al azar. El diámetro de la colonia se midió después de 3 días, para ambas especies. El porcentaje de inhibición (% I) del crecimiento se calculó para cada colonia de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\%I = [(C - T)/C] \times 100 \quad (7-1)$$

Donde C es el diámetro promedio de las colonias de control (DMSO 5 % V/V), en mm, y T es el diámetro promedio de las colonias desarrolladas en cada tratamiento, en mm. La significación estadística de los resultados del ensayo se determinó mediante análisis de varianza con el Programa Infostat. Las diferencias entre medias se probaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis; las diferencias entre experimento y control fueron significativas con un valor de p>0,05.

7.1.2.2. Actividad antioxidante

Los humanos y otros seres aerobios son capaces de tolerar el oxígeno porque, al mismo tiempo que los organismos desarrollaban cadenas de transporte de electrones y otros sistemas enzimáticos para usarlo, las defensas antioxidantes para proteger contra los efectos tóxicos del O₂ evolucionaban en paralelo[17]. Cotidianamente, nuestro cuerpo está bajo constante ataque de las llamadas especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés), tales como anión superóxido (O₂⁻), radical hidroxilo (HO·), peróxido de hidrógeno (H₂O₂), oxígeno singlete (¹O₂), etc. Un complejo sistema de defensas se ha desarrollado frente a estas especies que generalmente, mantiene estos ataques en equilibrio. Sin embargo, en ocasiones este balance puede perturbarse, llevando a lo que se conoce como estrés oxidativo[18].

Dentro de las áreas que más estudian los antioxidantes, sus efectos y cómo combatirlos, se encuentran la biomedicina y la industria alimenticia. Dentro de la primera, numerosos estudios demuestran que hay una serie de procesos patológicos atribuibles a los efectos del estrés oxidativo, tales como envejecimiento, complicaciones en el embarazo, aterosclerosis, diabetes mellitus, insuficiencia renal aguda, hipertensión arterial, cáncer, entre otras patologías[19, 18]. Por otro lado, la oxidación es el principal responsable de diversos cambios que ocurren durante el procesamiento, distribución y preparación final de los alimentos. El efecto es tal, que puede verse afectado el color, la textura, el sabor y hasta el valor nutricional, dependiendo del tipo de molécula sobre la cual afecte la oxidación. En algunos casos, hasta puede ser tóxico para el organismo consumir alimentos con cierto grado de oxidación[20].

7.2. Estudios realizados sobre la fracción sólida o bio-carbón proveniente de la pirólisis de algas

En función de estos datos, resulta interesante pensar en la posibilidad de producir antioxidantes de fuentes naturales, mediante pirólisis rápida de biomasa. Se han evaluado numerosos bio-líquidos de diversas biomásas para ser aplicados con este fin, y se encontró que los principales responsables de la actividad antioxidante fueron los derivados fenólicos tales como dimetoxifenoles, monometoxifenoles, etc.[21, 22, 23]. En definitiva, se requiere de moléculas que tengan la capacidad de “atrapar” radicales libres e inhibir sus efectos oxidantes.

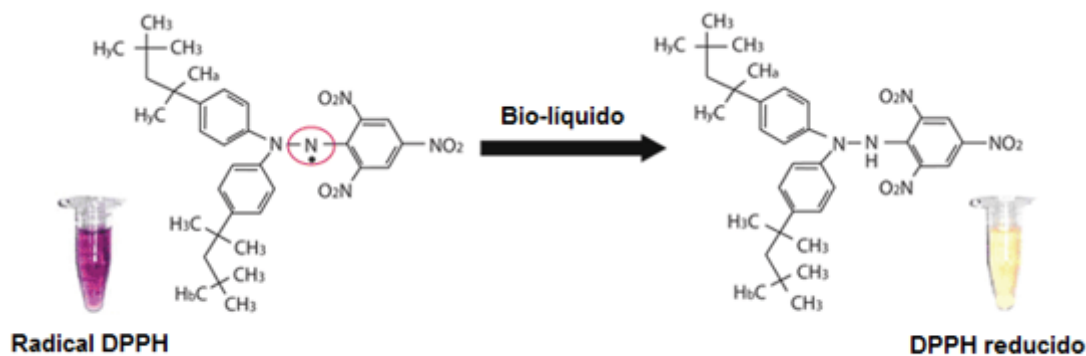


Figura 7.2.: Método DPPH aplicado a los bio-líquidos de pirólisis.

Las medidas de la capacidad de captar radicales libres de los bio-líquidos se midió mediante el método de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) (Figura 7.2)[24]. Se preparó una solución 0,1 mM de DPPH en metanol y se añadieron 1,5 mL de esta solución a 1,5 mL de las muestras disueltas en metanol y usando un intervalo de 5,0 - 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Después de 20 minutos, la absorbancia se midió a 517 nm. Se tomó una mezcla de 1,5 mL de metanol y 1,5 mL de solución de DPPH 0,1 mM como control utilizando un análogo de la vitamina E soluble en agua (Trolox: Ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) como compuesto de referencia. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. La actividad de eliminación de radicales DPPH se calculó de acuerdo con la ecuación 7-2.

$$\text{Actividad de eliminación de DPPH}(\%) = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100 \quad (7-2)$$

Donde A_0 es la absorbancia del control y A_1 es la absorbancia en presencia del bio-líquido de prueba. La concentración de muestra para eliminar el 50% del radical DPPH se calculó como valores IC_{50} del análisis de regresión.

7.2. Estudios realizados sobre la fracción sólida o bio-carbón proveniente de la pirólisis de algas

Como se mencionó anteriormente, el bio-carbón es uno de los productos resultantes de la pirólisis de biomasa. Este material carbonoso ha sido el foco de una intensa investigación

7. Materiales y Metodología

en las últimas décadas, y de acuerdo a sus propiedades, se han encontrado numerosas áreas de aplicación para este material, como por ejemplo en la retención de carbono en los suelos[25, 26], en el área de bioenergías[27, 28], en remediación ambiental[29, 30] y en una variedad de otros usos[31, 32]. En el presente trabajo se estudió el bio-carbón proveniente de la pirólisis rápida de **Sp** a 300 °C para su potencial aplicación en enmienda de suelos agrícolas y/o como material adsorbente para la purificación y recuperación de moléculas de interés.

7.2.1. Evaluación de fitotoxicidad para aplicación como enmienda de suelos agrícolas

El uso de bio-carbones en suelo ha demostrado que mejora muchas de sus propiedades, tales como fertilidad[33, 34, 35], ciertas propiedades químicas (por ejemplo pH, capacidad de intercambio catiónico)[36, 37], la retención de agua y la conductividad hidráulica[38, 36, 39], entre otras. Además, se ha demostrado también que posee la capacidad de adsorber contaminantes tóxicos como metales pesados[40, 41] y pesticidas[42, 43].

Los efectos negativos más comunes reportados para bio-carbones se relacionan a la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y metales pesados adsorbidos en el material[44, 45, 46]. Otra fuente de contaminantes potenciales son los compuestos orgánicos volátiles (COV) presentes en los bio-carbones. Estas sustancias podrían lixiviarse fácilmente cuando se incorpore el bio-carbón al suelo debido a las precipitaciones, o incluso a la presencia de una atmósfera saturada de vapor de agua que a menudo está presente en la matriz del suelo[47, 48].

Los estudios sobre los efectos de estos lixiviados en bioensayos han arrojado resultados mixtos y se ha demostrado que dependen de las materias primas y los procesos de termoconversión implicados[49, 50, 51]. Albuquerque y colaboradores encontraron que los extractos de agua de bio-carbón (10 % P/V) de cinco residuos lignocelulósicos agrícolas y forestales aumentaron la germinación de la semilla de girasol en relación con los controles, con índices de germinación calculados superiores al 60 %, típicos de materiales no fitotóxicos[52].

En un trabajo previo en el grupo de investigación, en el que se analizaron las posibles aplicaciones del bio-líquido y bio-carbón proveniente de la pirólisis de *Flourensia oolepis*, un arbusto nativo de la región semiárida de Argentina, se probaron los extractos de agua de los bio-carbones de pirolizados de hojas y brotes para evaluar posibles efectos fitotóxicos usando *Lactuca sativa* como sistema de prueba[53]. Los resultados no solo mostraron efectos fitotóxicos nulos o no permanentes en la germinación de la semilla, sino un sorprendente efecto promotor del crecimiento del 160 % en raíces y brotes, lo que indicó un posible uso como regulador del crecimiento. Por otro lado, Buss y Mašek encontraron que los lixiviados de bio-carbón producidos a partir de pellets de madera blanda (550 °C) contaminados con altos niveles de COV inducen una fuerte toxicidad para la germinación de *Lepidium sativum*, mientras que los bio-carbones de bajo COV no muestran fitotoxicidad[54]. A pesar de estas contribuciones, el número de estudios que evalúan las características de los bio-carbones

7.2. Estudios realizados sobre la fracción sólida o bio-carbón proveniente de la pirólisis de algas

pirolíticos y la fitotoxicidad de sus extractos es todavía muy escaso.

En función de estos antecedentes, se decidió evaluar la fitotoxicidad de los bio-carbones provenientes de la pirólisis de **Sp**, denominados **BC-Sp**, para una posible aplicación en enmienda de suelos. Además, se ensayaron a modo comparativo bio-carbones obtenidos de la pirólisis de biomasa lignocelulósica, como cáscara de girasol y cáscara de maní (**BC-CG** y **BC-CM** respectivamente), obtenidos en el grupo de investigación. Los bioensayos se realizaron en colaboración con las Dras. Ana Scopel y Mariana Silva de la Estación de Biología Sierras, perteneciente a la Facultad de Agronomía - Delegación Punilla de la Universidad de Buenos Aires (UBA).

Los bio-carbones fueron caracterizados utilizando la técnica de análisis elemental descrita en la Sección 5.2.1. Los mismos fueron estudiados sin ningún tratamiento o lavado posterior a la pirólisis rápida. La extracción de sustancias solubles en agua de los bio-carbones se realizó siguiendo la misma metodología ya estudiada en el grupo de investigación [53]. Se comenzó mezclando el material sólido en agua destilada a 10 % (P/V). La mezcla de bio-carbón/agua se agitó en vórtex y se colocó a 22 °C durante 24 h. Esta mezcla se transfirió a tubos de centrifuga de 15 mL y se centrifugó a 1500 rpm y 15 °C durante 5 minutos usando un Labofuge 400R (Heraeus). Los sobrenadantes y los pellets se recogieron por separado. Luego, el sobrenadante se filtró a través de un papel de filtro cualitativo de calidad Whatman 1 (tamaño de poro de 11 µm) a través de un embudo Buchner de 12 cm de diámetro.

Después de la extracción, el remanente de bio-carbón se secó (50 °C) obteniéndose aproximadamente un 90 % de la masa original. El promedio de pH (promedio \pm DE, N = 5), conductividad ($\mu\text{S cm}^{-1}$) y azufre total disuelto (DTS, ppm) del extracto acuoso del bio-carbón al 10 % fueron pH = 11.4 ± 0.02 , conductividad $> 3999 \mu\text{S cm}^{-1}$ y DTS > 2000 ppm, respectivamente. La bioactividad de los extractos acuosos de bio-carbón se evaluó en semillas de lechuga criolla (*Lactuca sativa*, Grand Rapids). Veinticinco semillas se colocaron en una placa de Petri de 5,0 cm revestida con una hoja de papel de filtro previamente humedecida con cada solución de ensayo (1,5 mL) o agua destilada en el caso de controles, y se dejó germinar en una cámara de crecimiento en la oscuridad a 22 °C.

Se realizaron tres bioensayos diferentes con tres repeticiones para cada concentración. Los extractos acuosos se analizaron biológicamente al 10 % (P/V), así como las diluciones en serie con agua a 7,5; 5,0; 2,5 y 1,25 %. La germinación de la semilla se evaluó a intervalos de 24 h durante tres días como se describió previamente [53]. Una semilla se consideró germinada cuando la protrusión de la raíz fue evidente (alrededor de 1 mm). En el día 3, longitudes de raíces y brotes (hipocótilos) fueron determinadas en el 60 % de plántulas de lechuga elegidas al azar por placa de Petri; las características morfológicas relevantes también se observaron y anotaron.

Los controles mostraron (media \pm DE) de ($99 \pm 0,33$) % de germinación y ($0,44 \pm 0,02$) cm de raíz y ($0,55 \pm 0,03$) cm de crecimiento de brotes. Las respuestas de germinación y crecimiento, expresadas como porcentaje de los controles, se representaron frente a las concentraciones de tratamiento. Cuando correspondieron, las concentraciones efectivas capaces

7. Materiales y Metodología

de inhibir el 50 % de la germinación (ECg_{50}), crecimiento de la raíz (ECr_{50}) o crecimiento de brotes (ECs_{50}) fueron calculados. Además, la viabilidad de la semilla se probó en tres a cuatro semillas por placa de Petri mediante la prueba de Tetrazolium[55]. Los resultados fueron analizados por ANOVA (REML) y prueba de DGCs ($p < 0.01$) usando InfoStat.

7.2.2. Ensayos como material de adsorción y purificación de moléculas de interés

7.2.2.1. Adsorción de Ácido láctico (AL)

El ácido láctico (AL) es un ácido orgánico ampliamente utilizado en diversos sectores. En la industria farmacéutica puede ser utilizado como materia prima en la producción de cosméticos y en formulación de pomadas y lociones, en la industria química es utilizado como solvente orgánico o como precursor de otras moléculas orgánicas y en la industria alimenticia actúa como acidulante, saborizante, aromatizante y emulsificante [56, 57].

Otro gran campo de interés del AL está en su aplicación como materia prima renovable en la producción de plásticos biodegradables como el ácido poliláctico (PLA, por sus siglas en inglés). Las aplicaciones de este tipo de plástico pueden ser desde embalajes para alimentos hasta utensilios descartables de plástico, los cuales pueden sustituir a los productos fabricados con materia prima a base de petróleo[58]. Además, los bio-polímeros de PLA, por ser también bio-absorbibles, pueden ser empleados en medicina, regeneración de tejidos, suturas, reposición ósea, fijación de ligamentos e implantes, etc.[59, 60]. Los polímeros producidos a partir de AL (isómeros D(-) y L(+)) han mostrado propiedades físico-mecánicas interesantes, las cuales pueden ser modificadas, según la necesidad, mediante el agregado de aditivos, reacciones químicas, etc.[59].

El descubrimiento del PLA generó un aumento en la demanda y en el interés por el AL, abriendo así nuevas alternativas en la producción y recuperación de AL. Particularmente en Argentina, Córdoba es la segunda provincia con mayor número de industrias lecheras (Figura 7.3). Dentro de la elaboración de derivados lácteos, el suero es el principal sub-producto generado que, entre otros compuestos, posee importantes cantidades de AL[61].

Existen múltiples trabajos que plantean novedosas metodologías de recuperación de AL del suero de las industrias lácteas[62, 63], pero hasta el momento ninguna ha sido implementada formalmente en las industrias. En función de estos antecedentes, se decidió evaluar la capacidad de adsorción de AL sobre los bio-carbones obtenidos en la pirólisis de **Sp** para su aplicación en la purificación de AL proveniente de diferentes matrices.

Para estos ensayos, se utilizó **BC-Sp**, definido en la Sección 7.2.1. Se trabajó en agua destilada con una suspensión de **BC-Sp** de 1 g L^{-1} y una solución comercial de AL. La concentración de la solución de AL fue corroborada mediante titulación con NaOH 0,054 M, previamente estandarizado con una solución de ftalato ácido de potasio (FAP) de concentración 0,02 M, dando como resultado una concentración de AL de 40,86 % (P/V). El

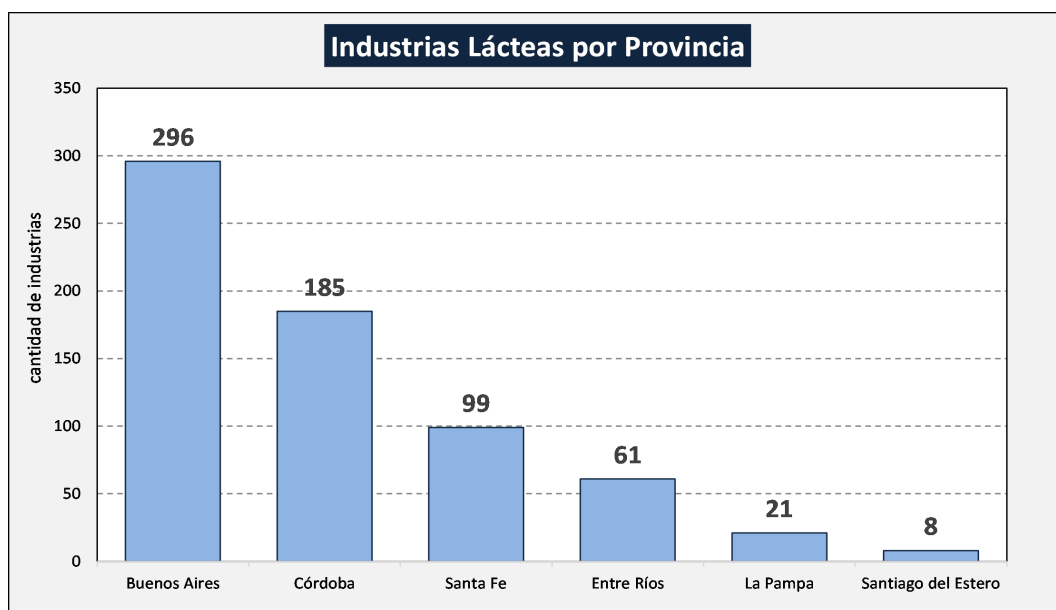


Figura 7.3.: Industrias lácteas en Argentina.
(Fuente: Relevamiento Industria 2018 - Dirección Nacional de Lechería.)

pH de dicha solución fue aproximadamente de 2. La solución de AL se caracterizó mediante Espectrometría de Resonancia Magnética Nuclear de protón ($^1\text{HRMN}$), utilizando un equipo Bruker Advance-400. La muestra fue analizada utilizando acetonitrilo deuterado como solvente.

Se prepararon las muestras en tubos Falcon de 15 mL, trabajando a un volumen final de 10 mL, con los agregados de suspensión de **BC-Sp** y AL que se informan en la Tabla 7.1, completando los 10 mL con agua destilada.

Se colocaron en un agitador por 24 h a 65 rpm y temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo, se centrifugaron a 9000 rpm durante 30 minutos y se cuantificó el AL mediante Espectroscopía UV-Visible, utilizando un equipo Shimadzu 1800 de doble haz. El AL posee dos picos de absorción en la región del UV, uno de ellos debido a las transiciones $n - \pi^*$ del doble enlace C-O del grupo carbonilo (250-300 nm); y el segundo, de mayor intensidad y menor longitud de onda (170-230 nm), debido a las transiciones $\pi - \pi^*$ [64]. Se prepararon soluciones patrón de AL para la realización de la curva de calibración y se determinó su absorbancia a 281 nm, longitud de onda máxima del pico correspondiente a las transiciones $n - \pi^*$. Se cuantificó AL remanente de cada muestra a 281 nm y se construyó la isoterma de adsorción correspondiente.

Se realizaron los ajustes de las isotermas aplicando tanto el modelo de Langmuir como el modelo de Freundlich[65, 66]. El modelo de adsorción de Langmuir se basa en el supuesto de que las moléculas de soluto se adsorben en la superficie del adsorbente en una monocapa sin ninguna interacción entre las moléculas adsorbidas.

Tabla 7.1.: Experimentos de adsorción de AL sobre **BC-Sp**

Muestra	Volumen de suspensión de BC-Sp (mL)	Volumen de solución de AL (mL)	Concentración final de AL (g L^{-1})
0 (Control)	3	0	0
1	3	0,002	0,08
2	3	0,01	0,41
3	3	0,02	0,82
4	3	0,12	4,90
5	3	0,24	9,81
6	3	0,61	24,93
7	3	1,22	49,85
8	3	1,84	75,18
9	3	2,45	100,11

$$q_e = \frac{q_m \cdot K_L \cdot C_e}{1 + K_L \cdot C_e} \quad (7-3)$$

La Ecuación 7-3 expresa el cálculo de la cantidad de adsorbato sobre el adsorbente en el equilibrio (q_e), donde q_m es la máxima capacidad de cobertura en monocapa, K_L es la constante de Langmuir y C_e es la concentración del adsorbato en el equilibrio. La naturaleza de la adsorción en este modelo está representada por una constante adimensional conocida como factor de separación (R_L) (Ec. 7-4), donde K_L es la constante de Langmuir, C_0 es la concentración inicial de AL (g L^{-1}), siendo $R_L > 1$ (desfavorable), $R_L = 1$ (lineal), $R_L = 0$ (irreversible) y $0 < R_L < 1$ (favorable).

$$R_L = \frac{1}{(1 + (K_L \cdot C_0))} \quad (7-4)$$

En cambio, el modelo de isoterma de Freundlich describe un proceso de adsorción no ideal y reversible, que se aplica para explicar la adsorción multicapa sobre una superficie adsorbente heterogénea (Ec. 7-5).

$$q_e = K_F \cdot (C_e)^{\frac{1}{n}} \quad (7-5)$$

Para esta ecuación, q_e y C_e son, al igual que en la Ecuación 7-3, la cantidad de adsorbato sobre el adsorbente en el equilibrio y la concentración del adsorbato en el equilibrio, respectivamente, K_F es la constante de Freundlich y n la intensidad de adsorción.

7.2.2.2. Adsorción de Albúmina de suero bovino (BSA)

Las proteínas son macromoléculas biológicas que pueden obtenerse a partir de tejido o, más a menudo, por su sobreexpresión en un organismo modelo, como bacterias, levaduras

7.2. Estudios realizados sobre la fracción sólida o bio-carbón proveniente de la pirólisis de algas

o células de mamíferos en cultivo. La purificación de proteínas implica aislar proteínas de la fuente, en función de las diferencias en sus propiedades físicas[67]. Las proteínas poseen una amplia diversidad de aplicaciones en el área de medicina[68], alimentos[69], biocatálisis[70, 71], biosensores[72, 73], etc.

En relación a las aplicaciones en biocatálisis y biosensores, se han evaluado múltiples soportes de proteínas[74, 75, 76], entre los cuales se han estudiado también materiales carbonosos diversos[77, 78, 79]. A partir de estos antecedentes, se decidió evaluar el bio-carbón de **Sp** como en la adsorción de proteínas mediante la construcción de isothermas de adsorción, utilizando albúmina de suero bovino (BSA) como proteína modelo, debido a su disponibilidad y bajo costo. Este trabajo se llevó a cabo en colaboración con el Dr. Ricardo Rojas y Delgado del Departamento de Fisico-Química de nuestro instituto (INFIQC-UNC).

Para estos ensayos de adsorción se utilizaron dos materiales diferentes: bio-carbón de **Sp** sin ningún tratamiento obtenido en la pirólisis a 300 °C (**BC-Sp**), y bio-carbón de **Sp** previamente impregnada con KOH al 7% (P/V) a 80 °C por 30 minutos y pirolizada a 300 °C, el cual será mencionado de aquí en adelante como **BC-KOH**.

Se llevaron a cabo los experimentos tanto en buffer fosfato (pH = 7,4) como en buffer acetato (pH = 4,5), preparados con agua MiliQ, para evaluar el efecto del pH. El punto isoeléctrico (pI) de BSA se encuentra a pH = 5 aproximadamente[80]. De esta manera, trabajando a pH mayores al pI (pH = 7,4) se evaluó la adsorción cuando BSA posee una carga neta negativa, mientras que a pH similares al pI (pH = 4,5), se evaluó la adsorción de BSA con carga prácticamente nula.

Para los experimentos, se preparó una suspensión del bio-carbón de concentración 2 g L⁻¹ y una solución de BSA de concentración 1 g L⁻¹, ambas en buffer. A continuación, se prepararon 9 muestras en tubos Falcon de 50 mL, trabajando con un volumen final de la solución de 30 mL (Ver Tabla 7.2).

Tabla 7.2.: Experimentos de adsorción de BSA sobre bio-carbones derivados de **Sp**

Muestra	Volumen de suspensión de BC (mL)	Volumen de solución de BSA (mL)	Concentración de BSA (g L ⁻¹)
0 (Control)	10	0	0
1	10	0,2	$6,67 \times 10^{-3}$
2	10	0,5	$1,67 \times 10^{-2}$
3	10	1,0	$3,33 \times 10^{-2}$
4	10	2,0	$6,67 \times 10^{-2}$
5	10	4,0	0,13
6	10	8,0	0,27
7	10	14,0	0,47
8	10	20,0	0,67

7. Materiales y Metodología

Una vez listas las muestras, se colocaron en un agitador por 24 h a 65 rpm y temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo, se tomaron alícuotas de 15 mL de cada tubo, se centrifugaron a 9000 rpm durante 10 minutos y se cuantificó BSA mediante Espectroscopía UV-Visible. Se prepararon soluciones patrón de BSA y se determinó su absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción (278 nm) para la realización de la curva de calibración. Se cuantificó BSA remanente de cada muestra a 278 nm y se construyó la isoterma de adsorción correspondiente. Paralelamente, y de manera cualitativa, se construyó la isoterma de adsorción mediante la determinación del Potencial Z de las muestras utilizando un analizador DelsaTMNano Submicron de Beckman-Coulter. Los resultados fueron analizados comparando las isotermas obtenidas con modelos de adsorción existentes[65, 66].

7.2.2.3. Purificación de AL proveniente de caldo de fermentación microbiana

En general, el AL puede ser obtenido tanto por fermentación (por bacterias, hongos o levaduras) como por síntesis química[81]. Sin embargo, los procesos fermentativos son más ventajosos debido a que son más económicos. Aproximadamente el 90% del total del AL producido en el mundo es a través de fermentación bacteriana[82, 83]. Además, la síntesis química de AL siempre da como producto una mezcla racémica, mientras que la producción a través de fermentación permite obtener el AL L(+) y D(-) enantioméricamente puros[84, 85].

Para que la producción de AL por proceso fermentativo se torne viable, es necesario alcanzar mejores condiciones operativas durante la fermentación, reducir costos en la etapa de purificación y extracción de AL, etc. Es por ello, que se planteó la utilización de bio-carbones provenientes de la pirólisis de **Sp** en la etapa de purificación del AL del medio de fermentación. Este trabajo se realizó durante una estadía en el Instituto de Pesquisa em Bioenergia (IPBEN), Câmpus Rio Claro de la Universidade Estadual Paulista (UNESP) en São Paulo, Brasil, bajo la dirección del Dr. Jonas Contiero y la Dra. Daiane Cristina Sass.

El caldo a purificar fue producido mediante fermentación utilizando *Bacillus coagulans* arr4 en un reactor de 5 L, utilizando azúcar granulada y extracto de levadura como fuente de carbono para las bacterias. Posteriormente, se elevó el pH del medio de cultivo utilizando CaOH, formándose lactato de calcio, el cual se mantuvo disuelto en el medio a 75 °C y agitación[86]. El caldo fue previamente caracterizado, para lo cual se determinó el contenido de L(+)-AL, sacarosa, proteínas totales y el pH. Luego, se realizó una centrifugación a 7000 rpm a 20 °C durante 10 minutos para eliminar restos de células e impurezas de la fermentación.

Se realizaron 2 tipos de purificaciones, utilizando cinco tipos de carbones diferentes:

- **BC-Sp**: Definido en la Sección 7.2.2.1.
- **BC-KOH**: Definido en la Sección 7.2.2.2.
- **BC-350**: bio-carbón obtenido de la pirólisis de **Sp** a 300 °C activado térmicamente a 350 °C, en atmósfera de N₂ por 4 horas.

7.2. Estudios realizados sobre la fracción sólida o bio-carbón proveniente de la pirólisis de algas

- **BC-400**: bio-carbón obtenido de la pirólisis de **Sp** a 300 °C activado térmicamente a 400 °C, en atmósfera de N₂ por 4 horas.
- **CAC**: Carbón activado comercial (Sigma-Aldrich) como material de referencia.

Una de las técnicas de purificación utilizadas consistió en tomar una alícuota de 10 mL del caldo y someterla a filtración en vacío utilizando un embudo con placa de vidrio sinterizado (3,5 cm de diámetro y 5,0 cm de altura) conteniendo 1 cm de altura de carbón. Se realizaron 3 filtraciones de la misma alícuota, cada una con 2 lavados de 10 mL de agua MiliQ. Entre una filtración y la otra, el carbón fue secado 24 h en estufa a 70 °C.

Para la otra técnica, se colocaron en tubos Falcon de 50 mL 0,5 g de bio-carbón, 5 mL de caldo y una barrita magnética. Se dejó agitando la mezcla a 21 °C por 24 h. Luego, se centrifugó la mezcla a 10.000 rpm por 20 minutos y se separó el sobrenadante. Al material sólido se le realizaron dos lavados con agua MiliQ de 3 mL cada uno, separando el sobrenadante por centrifugación. Los experimentos fueron llevados a cabo por duplicado.

Las características morfológicas de los bio-carbones utilizados se analizaron mediante un microscopio electrónico de barrido de emisión por campo con detector *semi-in-lens* marca Jeol JSM 7500F, instalado en el Laboratorio de Microscopia Avanzada (LMA) del Instituto de Química, de la Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, Brasil. Las muestras fueron previamente metalizadas con una capa de 20 nm de Au/Pd. Por otro lado, se estudiaron los grupos funcionales presentes en la superficie de estos materiales mediante FT-IR, utilizando un microscopio FT-IR (Thermo ScientificTM NicoletTM iNTM10) en su modo reflexión.

Para la determinación de L(+)-AL y sacarosa se utilizó Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC, por sus siglas en inglés). El equipo, de marca *Shimadzu Prominence* equipado con detector UV y detector de Índice de Refracción, se utilizó con una columna Rezex ROA (300 x 7,8 mm) de *Phenomenex* utilizando las siguientes condiciones de elución: H₂SO₄ 0,005 N como fase móvil, flujo de 0,6 mL min⁻¹, volumen de inyección de 5 µL, temperatura de 65 °C y longitud de onda de detección UV de 210 nm. Las muestras fueron previamente filtradas a través de una membrana de acetato de celulosa de 0,2 µm. La fase móvil fue preparada con agua MiliQ, filtrada con embudo con placa de vidrio sinterizado y filtro de acetato de celulosa de 0,2 µm, y sonicada por 10 minutos, con el objetivo de eliminar impurezas y gases disueltos.

La cuantificación de proteínas totales fue realizada utilizando el método de Lowry descrito por Peterson, con modificaciones propuestas por Waterborg[87, 88]. El método se basa en dos reacciones principales: la reacción de Biuret, en la que los enlaces peptídicos de las proteínas reaccionan con Cu en condiciones alcalinas para producir Cu⁺, que reacciona con el reactivo de Folin; y en la reacción de Folin-Ciocalteu, que en esencia se trata de fosfomolibdotungstato reducido a heteropolimolibdeno azul por la oxidación catalizada por cobre de aminoácidos aromáticos (tirosina y triptofano principalmente). Las reacciones dan

7. Materiales y Metodología

como resultado un fuerte color azul, cuya absorbancia se determinó por Espectroscopía UV-Visible a una longitud de onda de 550 nm.

Finalmente, se calculó la eficiencia de recuperación de L(+)-AL (ERAL) y de remoción de proteínas (ERP) utilizando las Ecuaciones 7-6 y 7-7, respectivamente.

$$ERAL(\%) = (\text{masa de L(+)-AL final} / \text{masa de L(+)-AL inicial}) \times 100 \quad (7-6)$$

$$ERP(\%) = [(\text{masa de proteína final} / \text{masa de proteína inicial}) \times 100] - 100 \quad (7-7)$$

7.3. Bibliografía

- [1] P. M. Mortensen, J. D. Grunwaldt, P. A. Jensen, K. G. Knudsen, and A. D. Jensen. A review of catalytic upgrading of bio-oil to engine fuels. *Applied Catalysis A: General*, 407(1-2):1–19, 2011.
- [2] M. Saber, B. Nakhshiniev, and K. Yoshikawa. A review of production and upgrading of algal bio-oil. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 58:918–930, 2016.
- [3] S. Cheng, L. Wei, J. Julson, K. Muthukumarappan, P. R. Kharel, Y. Cao, E. Boakye, D. Raynie, and Z. Gu. Hydrodeoxygenation upgrading of pine sawdust bio-oil using zinc metal with zero valency. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 74:146–153, 2017.
- [4] H. Nam, C. Kim, S. C. Capareda, and S. Adhikari. Catalytic upgrading of fractionated microalgae bio-oil (*Nannochloropsis oculata*) using a noble metal (Pd/C) catalyst. *Algal Research*, 24:188–198, 2017.
- [5] I. Y. Mohammed, Y. A. Abakr, S. Yusup, P. A. Alaba, K. I. Morris, Y. M. Sani, and F. K. Kazi. Upgrading of Napier grass pyrolytic oil using microporous and hierarchical mesoporous zeolites: Products distribution, composition and reaction pathways. *Journal of Cleaner Production*, 162:817–829, 2017.
- [6] A. V. Bridgwater. Renewable fuels and chemicals by thermal processing of biomass. *Chemical Engineering Journal*, 91(2-3):87–102, 2003.
- [7] S. Czernik and A. V. Bridgwater. Overview of Applications of Biomass Fast Pyrolysis Oil. *Energy & Fuels*, 18(2):590–598, 2004.
- [8] S. Holm Freiesleben and A. K. Jager. Correlation between Plant Secondary Metabolites and Their Antifungal Mechanisms—A Review. *Medicinal & Aromatic Plants*, 03(02), 2014.
- [9] Y. M. Kim, J. Jae, S. Myung, B. H. Sung, J. I. Dong, and Y. K. Park. Investigation into the lignin decomposition mechanism by analysis of the pyrolysis product of *Pinus radiata*. *Bioresource Technology*, 219:371–377, 2016.
- [10] N. Binbuga, K. Chambers, W. P. Henry, and T. P. Schultz. Metal chelation studies relevant to wood preservation. 1. Complexation of propyl gallate with Fe^{2+} . *Holzforschung*, 59(2):205–209, 2005.
- [11] A. A. Boligon, R. Picada Pereira, A. Cassel Feltrin, M. Mansur Machado, V. Janovik, J. B. Teixeira Rocha, and M. L. Athayde. Antioxidant activities of flavonol derivatives from the leaves and stem bark of *Scutia buxifolia* Reiss. *Bioresource Technology*, 100(24):6592–6598, 2009.

7. Materiales y Metodología

- [12] C. Okutucu, G. Duman, S. Ucar, I. Yasa, and J. Yanik. Production of fungicidal oil and activated carbon from pistachio shell. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 91(1):140–146, 2011.
- [13] S. N. Kartal, Y. Imamura, F. Tsuchiya, and K. Ohsato. Preliminary evaluation of fungicidal and termiticidal activities of filtrates from biomass slurry fuel production. *Bioresource Technology*, 95(1):41–47, 2004.
- [14] L. H. Purdy. Sclerotinia sclerotiorum: History, Diseases and Symptomatology, Host Range, Geographic Distribution, and Impact. *Symposium on Sclerotinia*, 69(8):875–880, 1979.
- [15] A. González. Sclerotium rolfsii, un patógeno de judía que produce daños de forma ocasional. *Tecnología Agroalimentaria*, pages 19–20, 2013.
- [16] S. Kordali, A. Cakir, H. Ozer, R. Cakmakci, M. Kesdek, and E. Mete. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish Origanum acutidens and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresource Technology*, 99(18):8788–8795, 2008.
- [17] O. I. Aruoma. Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants in Human Health and Disease. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 75(2):199–212, 1998.
- [18] G. J. Burton and E. Jauniaux. Oxidative stress. *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 25(3):287–299, 2011.
- [19] J. I. Elejalde Guerra. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *an. Med. Interna*, 18(6):326–335, 2001.
- [20] J. W. Finley and P. Given. Technological necessity of antioxidants in the food industry. *Food and Chemical Toxicology*, 24(10-11):999–1006, 1986.
- [21] R. Ait Babahmad, A. Aghraz, A. Boutafda, E. G. Papazoglou, P. A. Tarantilis, C. Kana-kis, M. Hafidi, Y. Ouhdouch, A. Outzourhit, and A. Ouhammou. Chemical composition of essential oil of Jatropha curcas L. leaves and its antioxidant and antimicrobial activities. *Industrial Crops and Products*, 121:405–410, 2018.
- [22] E. B. Hassan, E. M. El-Giar, and P. Steele. Evaluation of the antioxidant activities of different bio-oils and their phenolic distilled fractions for wood preservation. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 110:121–128, 2016.
- [23] C. Ma, K. Song, J. Yu, L. Yang, C. Zhao, W. Wang, G. Zu, and Y. Zu. Pyrolysis process and antioxidant activity of pyrolygneous acid from Rosmarinus officinalis leaves. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 104:38–47, 2013.

- [24] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, and C. Berset. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1):25–30, 1995.
- [25] J. Lehmann and S. Joseph. Biochar for environmental management : An introduction. *Biochar for Environmental Management - Science and Technology*, 1:1–12, 2009.
- [26] S. P. Sohi. Carbon storage with benefits. *Science*, 338(6110):1034–1035, 2012.
- [27] S. Zhang, W. He, X. Zhang, G. Yang, J. Ma, X. Yang, and X. Song. Fabricating Fe₃O₄/Fe/biocrbon fibers using cellulose nanocrystals for high-rate Li-ion battery anode. *Electrochimica Acta*, 174:1175–1184, 2015.
- [28] X. Tan, S. Liu, Y. Liu, Y. Gu, G. Zeng, X. Hu, X. Wang, S. Liu, and L. Jiang. Biochar as potential sustainable precursors for activated carbon production: Multiple applications in environmental protection and energy storage. *Bioresource Technology*, 227:359–372, 2017.
- [29] T. Sizmur, T. Fresno, G. Akgül, H. Frost, and E. Moreno-Jiménez. Biochar modification to enhance sorption of inorganics from water. *Bioresource Technology*, 246:34–47, 2017.
- [30] X. Tan, Y. Liu, Y. Gu, Y. Xu, G. Zeng, X. Hu, S. Liu, X. Wang, S. Liu, and J. Li. Biochar-based nano-composites for the decontamination of wastewater: A review. *Bioresource Technology*, 212:318–333, 2016.
- [31] C. Anyika, Z. Abdul Majid, Z. Ibrahim, M. P. Zakaria, and A. Yahya. The impact of biochars on sorption and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils - A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(5):3314–3341, 2015.
- [32] S. Gupta, H. W. Kua, and C. Y. Low. Use of biochar as carbon sequestering additive in cement mortar. *Cement and Concrete Composites*, 87:110–129, 2018.
- [33] J. M. Novak, I. Lima, B. Xing, J. W. Gaskin, C. Steiner, K. C. Das, M. Ahmedna, D. Rehrh, D. W. Watts, W. J. Busscher, and H. Schomberg. Characterization of designer biochar produced at different temperatures and their effects on a loamy sand. *Annals of Environmental Science*, 3(843):195–206, 2009.
- [34] C. Steiner, W. G. Teixeira, J. Lehmann, T. Nehls, J. L. Vasconcelos De Macêdo, W. E. H. Blum, and W. Zech. Long term effects of manure, charcoal and mineral fertilization on crop production and fertility on a highly weathered Central Amazonian upland soil. *Plant and Soil*, 291(1-2):275–290, 2007.
- [35] L. van Zwieten, S. Kimber, S. Morris, K. Y. Chan, A. Downie, J. Rust, S. Joseph, and A. Cowie. Effects of biochar from slow pyrolysis of papermill waste on agronomic performance and soil fertility. *Plant and Soil*, 327(1):235–246, 2010.

7. Materiales y Metodología

- [36] D. A. Laird, P. Fleming, D. D. Davis, R. Horton, B. Wang, and D. L. Karlen. Impact of biochar amendments on the quality of a typical Midwestern agricultural soil. *Geoderma*, 158(3-4):443–449, 2010.
- [37] B. Liang, J. Lehmann, D. Solomon, J. Kinyangi, J. Grossman, B. O’Neill, J. O. Skjemstad, J. Thies, F. J. Luizão, J. Petersen, and E. G. Neves. Black Carbon Increases Cation Exchange Capacity in Soils. *Soil Science Society of America Journal*, 70(5):1719, 2006.
- [38] H. Asai, B. K. Samson, H. M. Stephan, K. Songyikhangsuthor, K. Homma, Y. Kiyono, Y. Inoue, T. Shiraiwa, and T. Horie. Biochar amendment techniques for upland rice production in Northern Laos. 1. Soil physical properties, leaf SPAD and grain yield. *Field Crops Research*, 111(1-2):81–84, 2009.
- [39] P. G. Oguntunde, B. J. Abiodun, A. E. Ajayi, and N. Van De Giesen. Effects of charcoal production on soil physical properties in Ghana. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 171(4):591–596, 2008.
- [40] L. Beesley, E. Moreno-Jiménez, and J. L. Gomez-Eyles. Effects of biochar and greenwaste compost amendments on mobility, bioavailability and toxicity of inorganic and organic contaminants in a multi-element polluted soil. *Environmental Pollution*, 158(6):2282–2287, 2010.
- [41] M. Uchimiya, I. M. Lima, K. T. Klasson, and L. H. Wartelle. Contaminant immobilization and nutrient release by biochar soil amendment: Roles of natural organic matter. *Chemosphere*, 80(8):935–940, 2010.
- [42] K. A. Spokas, W. C. Koskinen, J. M. Baker, and D. C. Reicosky. Impacts of woodchip biochar additions on greenhouse gas production and sorption/degradation of two herbicides in a Minnesota soil. *Chemosphere*, 77(4):574–581, 2009.
- [43] W. Zheng, M. Guo, T. Chow, D. N. Bennett, and N. Rajagopalan. Sorption properties of greenwaste biochar for two triazine pesticides. *Journal of Hazardous Materials*, 181(1-3):121–126, 2010.
- [44] A. Freddo, C. Cai, and B. J. Reid. Environmental contextualisation of potential toxic elements and polycyclic aromatic hydrocarbons in biochar. *Environmental Pollution*, 171:18–24, 2012.
- [45] S. E. Hale, J. Lehmann, D. Rutherford, A. R. Zimmerman, R. T. Bachmann, V. Shitumbanuma, A. O’Toole, K. L. Sundqvist, H. P. H. Arp, and G. Cornelissen. Quantifying the total and bioavailable polycyclic aromatic hydrocarbons and dioxins in biochars. *Environmental Science and Technology*, 46(5):2830–2838, 2012.

- [46] P. Oleszczuk, I. Joško, and M. Kuśmierz. Biochar properties regarding to contaminants content and ecotoxicological assessment. *Journal of Hazardous Materials*, 260:375–382, 2013.
- [47] L. A. Biederman and W. Stanley Harpole. Biochar and its effects on plant productivity and nutrient cycling: A meta-analysis. *GCB Bioenergy*, 5(2):202–214, 2013.
- [48] R. S. Kookana, A. K. Sarmah, L. Van Zwieten, E. Krull, and B. Singh. *Biochar application to soil. agronomic and environmental benefits and unintended consequences*, volume 112. Elsevier Inc., first edition, 2011.
- [49] C. J. Barrow. Biochar: Potential for countering land degradation and for improving agriculture. *Applied Geography*, 34:21–28, 2012.
- [50] J. L. Deenik, A. Diarra, G. Uehara, S. Campbell, Y. Sumiyoshi, and M. J. Antal. Charcoal ash and volatile matter effects on soil properties and plant growth in an acid ultisol. *Soil Science*, 176(7):336–345, 2011.
- [51] H. P. Ahmed and J. J. Schoenau. Effects of biochar on yield, nutrient recovery, and soil properties in a canola (*Brassica napus* L) - wheat (*Triticum aestivum* L) rotation grown under controlled environmental conditions. *Bioenergy Research*, 8(3):1183–1196, 2015.
- [52] J. A. Alburquerque, J. M. Calero, V. Barrón, J. Torrent, M. C. del Campillo, A. Gallardo, and R. Villar. Effects of biochars produced from different feedstocks on soil properties and sunflower growth. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 177(1):16–25, 2014.
- [53] M. P. Silva, E. L. Moyano, and A. L. Scopel. Potential applications of biochar and terpene-enriched bio-oil produced from a semi-arid native Asteraceae. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 126:39–49, 2017.
- [54] W. Buss and O. Mašek. Mobile organic compounds in biochar - A potential source of contamination - Phytotoxic effects on cress seed (*Lepidium sativum*) germination. *Journal of Environmental Management*, 137:111–119, 2014.
- [55] L. O. Copeland and M. B. McDonald. *Principles of Seed Science and Technology*. Burgess Publishing Company, 1985.
- [56] M. Altaf, B. J. Naveena, and G. Ready. Screening of inexpensive nitrogen sources for production of L(+) lactic acid from starch by amyolytic *Lactobacillus amylophilus* GV6 in single step fermentation. *Food Technology and Biotechnology*, 43(3):235–239, 2005.
- [57] A. Corma Canos, S. Iborra, and A. Velty. Chemical routes for the transformation of biomass into chemicals. *Chemical Reviews*, 107(6):2411–2502, 2007.

7. Materiales y Metodología

- [58] R. Datta, S. P. Tsai, P. Bonsignore, S. H. Moon, and J. R. Frank. Technological and economic potential of poly(lactic acid) and lactic acid derivatives. *FEMS Microbiology Reviews*, 16(2-3):221–231, 1995.
- [59] S. Farah, D. G. Anderson, and R. Langer. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 107:367–392, 2016.
- [60] M. Jamshidian, E. A. Tehrany, M. Imran, M. Jacquot, and S. Desobry. Poly-Lactic Acid: Production, applications, nanocomposites, and release studies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(5):552–571, 2010.
- [61] G. Bylund. *Dairy processing handbook*. Tetra Pak Processing Systems AB, 2003.
- [62] J. Chandrapala, G. Q. Chen, K. Kezia, E. G. Bowman, T. Vasiljevic, and S. E. Kentish. Removal of lactate from acid whey using nanofiltration. *Journal of Food Engineering*, 177:59–64, 2016.
- [63] G. Q. Chen, F. I. I. Eschbach, M. Weeks, S. L. Gras, and S. E. Kentish. Removal of lactic acid from acid whey using electrodialysis. *Separation and Purification Technology*, 158:230–237, 2016.
- [64] C. E. Lund Myhre and C. J. Nielsen. Optical properties in the UV and visible spectral region of organic acids relevant to tropospheric aerosols. *Atmospheric Chemistry and Physics Discussions*, 4(3):3013–3043, 2004.
- [65] M. Erhayem, F. Al-Tohami, R. Mohamed, and K. Ahmida. Isotherm, kinetic and thermodynamic studies for the sorption of Mercury (II) onto activated carbon from Rosmarinus officinalis leaves. *American Journal of Analytical Chemistry*, 06(01):1–10, 2015.
- [66] C. Moreno-Castilla. Adsorption of organic molecules from aqueous solutions on carbon materials. *Carbon*, 42(1):83–94, 2004.
- [67] C. Ritchie. Protein Purification. *Materials and Methods*, 2:134, 2012.
- [68] H. Yamazoe. Multifunctional protein microparticles for medical applications. *Biomaterials*, 155:1–12, 2018.
- [69] A. Dullius, M. I. Goettert, and C. F. Volken de Souza. Whey protein hydrolysates as a source of bioactive peptides for functional foods – Biotechnological facilitation of industrial scale-up. *Journal of Functional Foods*, 42:58–74, 2018.
- [70] V. Lettera, C. Pezzella, P. Cicatiello, A. Piscitelli, V. G. Giacobelli, E. Galano, A. Amoresano, and G. Sannia. Efficient immobilization of a fungal laccase and its exploitation in fruit juice clarification. *Food Chemistry*, 196:1272–1278, 2015.

- [71] A. Rodrigues, M. V. Castegnaro, J. Arguello, M. C. M. Alves, and J. Morais. Development and surface characterization of a glucose biosensor based on a nanocolumnar ZnO film. *Applied Surface Science*, 402:136–141, 2017.
- [72] N. Nesakumar, K. Thandavan, S. Sethuraman, U. M. Krishnan, and J. B. B. Rayappan. An electrochemical biosensor with nanointerface for lactate detection based on lactate dehydrogenase immobilized on zinc oxide nanorods. *Journal of Colloid and Interface Science*, 414:90–96, 2014.
- [73] H. Teymourian, A. Salimi, and R. Hallaj. Low potential detection of NADH based on Fe₃O₄ nanoparticles/multi-walled carbon nanotubes composite: Fabrication of integrated dehydrogenase-based lactate biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 33(1):60–68, 2012.
- [74] G. Fusco, L. Chronopoulou, L. Galantini, A. Zerillo, Z. M. Rasik, R. Antiochia, G. Favero, A. D’Annibale, C. Palocci, and F. Mazzei. Evaluation of novel Fmoc-tripeptide based hydrogels as immobilization supports for electrochemical biosensors. *Microchemical Journal*, 137:105–110, 2018.
- [75] D. Molinnus, G. Hardt, L. Käver, H. S. Willenberg, J. C. Kröger, A. Poghossian, M. Keusgen, and M. J. Schöning. Chip-based biosensor for the detection of low adrenaline concentrations to support adrenal venous sampling. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 272:21–27, 2018.
- [76] J. Zdarta, K. Anteck, A. Jędrzak, K. Synoradzki, M. Łuczak, and T. Jesionowski. Biopolymers conjugated with magnetite as support materials for trypsin immobilization and protein digestion. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 169:118–125, 2018.
- [77] C. Bernal, S. Escobar, L. Wilson, A. Illanes, and M. Mesa. Carbonaceous-siliceous composite materials as immobilization support for lipase from *Alcaligenes* sp.: Application to the synthesis of antioxidants. *Carbon*, 74(574):96–103, 2014.
- [78] M. Pagan, D. Suazo, N. del Toro, and K. Griebenow. A comparative study of different protein immobilization methods for the construction of an efficient nano-structured lactate oxidase-SWCNT-biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 64:138–146, 2014.
- [79] G. M. Vlăsceanu, R. M. Amărandi, M. Ioniță, T. Tite, H. Iovu, L. Pilan, and J. S. Burns. Versatile graphene biosensors for enhancing human cell therapy. *Biosensors and Bioelectronics*, 117:283–302, 2018.
- [80] Inc. HORIBA Instruments. Zeta potential of bovine serum albumin (BSA) protein. *Particle Characterization Analyzer AN184- Applications Note*, pages 1–3, 2009.

7. Materiales y Metodología

- [81] N. Narayanan, P. K. Roychoudhury, and A. Srivastava. L (+) lactic acid fermentation and its product polymerization. *Electronic Journal of Biotechnology*, 7(2), 2004.
- [82] S. Zhou, K. T. Shanmugam, L. P. Yomano, T. B. Grabar, and L. O. Ingram. Fermentation of 12% (w/v) glucose to 1.2 M lactate by *Escherichia coli* strain SZ194 using mineral salts medium. *Biotechnology Letters*, 28(9):663–670, 2006.
- [83] H. G. Joglekar, I. Rahman, S. Babu, B. D. Kulkarni, and A. Joshi. Comparative assessment of downstream processing options for lactic acid. *Separation and Purification Technology*, 52(1):1–17, 2006.
- [84] I. Eş, A. Mousavi Khaneghah, F. J. Barba, J. A. Saraiva, A. S. Sant’Ana, and S. M. B. Hashemi. Recent advancements in lactic acid production - a review. *Food Research International*, 107:763–770, 2018.
- [85] R. Alves de Oliveira, A. Komesu, C. E. Vaz Rossell, and R. Maciel Filho. Challenges and opportunities in lactic acid bioprocess design—From economic to production aspects. *Biochemical Engineering Journal*, 133:219–239, 2018.
- [86] L. Fontes Coelho, S. M. Beitel, D. C. Sass, P. M. Avila Neto, and J. Contiero. High-titer and productivity of L-(+)-lactic acid using exponential fed-batch fermentation with *Bacillus coagulans* arr4, a new thermotolerant bacterial strain. *3 Biotech*, 8(4):1–8, 2018.
- [87] G. L. Peterson. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Analytical Biochemistry*, 83(2):346–356, 1977.
- [88] J. H. Waterborg and H. R. Matthews. The Lowry Method for Protein Quantitation. *Methods in Molecular Biology*, pages 7–10, 2000.

Capítulo 8

Resultados y Discusiones

8.1. Fracción líquida o bio-líquido

8.1.1. Mejoramiento del bio-líquido proveniente de la pirólisis de Bb para su potencial aplicación como biocombustible

Se llevaron a cabo los experimentos de mejoramiento para el bio-líquido proveniente de **Bb** obtenido en la pirólisis a 500 °C, ya que a esta temperatura se obtuvo la mayor producción de bio-líquido. Las pruebas en sistema estático se llevaron a cabo evaluando el efecto tanto del catalizador tipo mesoporoso con dominios zeolítico como del pirocloro.

Al analizar la composición de los bio-líquidos obtenidos, se observó que el tratamiento no fue efectivo, ya que los perfiles cromatográficos del bio-líquido sin tratar y de los bio-líquidos tratados con ambos catalizadores, en sistema abierto y cerrado, son idénticos (Figura 8.1). Esto pudo deberse probablemente a que la temperatura no fue lo suficientemente alta como en el trabajo tomado como referencia[1] o que el catalizador no fue el apropiado para el mejoramiento del bio-líquido.

En relación a las pruebas en sistema dinámico, no fue posible evaluar la metodología debido a que el líquido se proyectó dentro del reactor, tanto a presión atmosférica como a presión reducida. Sin embargo, es importante destacar que actualmente existen metodologías a nivel industrial utilizadas para mejorar las propiedades de los combustibles derivados del petróleo, y que podrían ser utilizadas para los bio-líquidos provenientes de biomasa, como lo son el Hidrotratamiento, donde se hace reaccionar hidrógeno con compuestos de azufre, nitrógeno y oxigenados transformándolos en H_2S , NH_3 y H_2O , o el Reformado Catalítico, que consiste en elevar el índice de octano de los combustibles mediante reacciones de isomerización, aromatización, hidrocracking, etc.[2].

8. Resultados y Discusiones

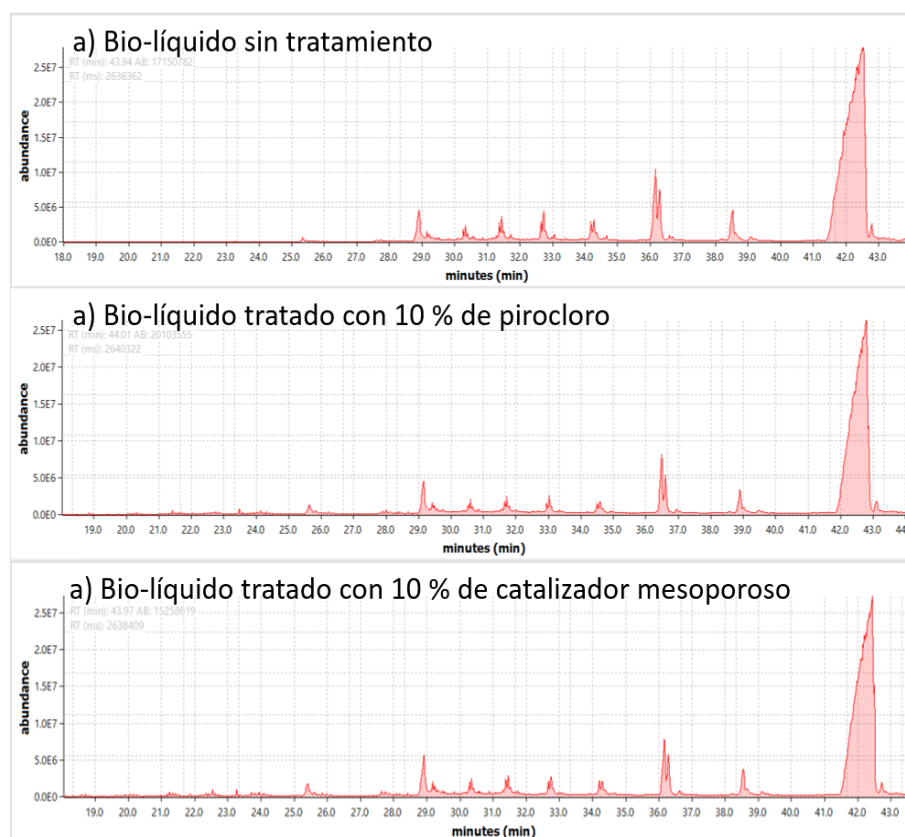


Figura 8.1.: Cromatogramas obtenidos en el proceso de mejoramiento del bio-líquido obtenido en la pirólisis de **Bb**

8.1.1.1. Conclusiones parciales

Mediante los experimentos llevados a cabo utilizando el bio-líquido de **Bb** no fue posible mejorar las propiedades del mismo, probablemente debido a que las condiciones utilizadas de temperatura y catalizador no fueron óptimas. De todas maneras, estos bio-líquidos podrían ser mejorados mediante las mismas técnicas utilizadas actualmente para los combustibles fósiles, planteando la posibilidad de refinar la mezcla de ambos líquidos. Así, se lograría reducir la contaminación generada por los combustibles fósiles y paralelamente, extender la vida útil de un recurso no renovable.

8.1.2. Estudio de propiedades antifúngicas y antioxidantes del los bio-líquidos derivados de pirólisis

En la siguiente tabla (Tabla 8.1) se muestran los resultados obtenidos de la evaluación de la actividad antifúngica de los bio-líquidos producidos a partir de la pirólisis rápida de **Sp**, **PK**, **CG** y **CM** frente a *S. rolfsii* y *S. sclerotiorum*.

Tabla 8.1.: Inhibición del crecimiento de especies de hongos por los bio-líquidos obtenidos de la pirólisis rápida de Spirulina (**Sp**), pulpa de papel Kraft (**PK**), cáscara de girasol (**CG**) y cáscara de maní (**CM**)

Bio-líquido	Dosis (mg mL ⁻¹)	Crecimiento (mm) ¹	
		<i>S. rolfsii</i>	<i>S. sclerotior</i>
Sp	0	45,0 ± 0,0	45,0 ± 0,0
	1,0	45,0 ± 0,0 (0,0)	45,0 ± 0,0 (0,0)
	2,0	41,3 ± 4,1 (4,4)	45,0 ± 0,0 (0,0)
	4,0	31,2 ± 7,1 (30,7) ²	42,8 ± 2,4 (4,9)
PK	0	45,0 ± 0,0	45,0 ± 0,0
	1,0	44,8 ± 0,4 (0,4)	45,0 ± 0,0 (0,0)
	2,0	41,1 ± 5,5 (8,7)	45,0 ± 0,0 (0,0)
	4,0	16,3 ± 4,8 (63,8) ²	40,1 ± 2,9 (10,9)
CG	0	45,0 ± 0,0	45,0 ± 0,0
	1,0	39,7 ± 4,4 (11,8)	45,0 ± 0,0 (0,0)
	2,0	32,1 ± 2,4 (28,7) ²	42,7 ± 3,4 (5,1)
	4,0	11,2 ± 6,6 (75,1) ²	22,1 ± 4,6 (51,0) ²
CM	0	45,0 ± 0,0	45,0 ± 0,0
	1,0	45,0 ± 0,0 (0,0)	45,0 ± 0,0 (0,0)
	2,0	45,0 ± 0,0 (0,0)	45,0 ± 0,0 (0,0)
	4,0	21,8 ± 7,9 (51,5) ²	24,1 ± 3,6 (46,4) ²

¹ El crecimiento de las especies de hongos se da como media ± DE, N = 5. Los valores entre paréntesis indican el porcentaje de inhibición.

² Diferencias significativas, en comparación con el control para p ≤ 0,05, según la prueba de Kruskal Wallis.

8. Resultados y Discusiones

El bio-líquido generado a partir de **Sp** mostró una actividad moderada contra *S. rolfsii* y una actividad muy pobre contra *S. sclerotiorum*, a la concentración más alta evaluada. Este resultado se podría explicar debido a la presencia de TMP en altas concentraciones, siendo prácticamente nulo el contenido de derivados fenólicos, los cuales se conoce poseen propiedades antifúngicas[3, 4]. Se observó que a la concentración de 4 mg mL^{-1} , el crecimiento de *S. rolfsii* y *S. sclerotiorum* fue significativamente inhibido por los bio-líquidos obtenidos de la pirólisis de **CG** y **CM** (inhibición $> 45 \%$). A esta concentración, el bio-líquido de **PK** solo afectó de manera significativa el crecimiento de *S. rolfsii* (63,8 % de inhibición). Además, el bio-líquido de **CG** (2 mg mL^{-1}) mostró una inhibición significativa del crecimiento del micelio contra *S. rolfsii* (inhibición del 28,7%). Este comportamiento podría atribuirse a la presencia de diferentes derivados fenólicos provenientes de la degradación de lignina (Anexo A)[5, 6]. Con respecto a la actividad inhibitoria del bio-líquido derivado de **PK** contra *S. rolfsii* podría atribuirse a la presencia de derivados de furano en el pirolizado líquido (Anexo A). Se sabe que derivados de furanonas muestran actividad antifúngica contra muchos hongos patógenos y se han desarrollado varios antimicóticos que poseen este núcleo[7, 8].

En el método de eliminación de radicales DPPH, un compuesto con alto potencial antioxidante atrapa eficazmente el radical, lo que impide su propagación y la reacción en cadena resultante [9, 10]. El radical DPPH se considera un radical lipófilo modelo; por lo tanto, la actividad atraparadora de radicales de estos bio-líquidos se atribuye a su capacidad de donar hidrógeno de los grupos hidroxilo fenólicos para formar el DPPH-H estable[11].

Las actividades antioxidantes de los diferentes bio-líquidos se presentan en la Tabla 8.2. En general, todos los bio-líquidos mostraron menos actividad antioxidante que Trolox. La actividad disminuyó en el siguiente orden: Trolox $>$ **CM** $>$ **CG** $>$ **PK** $>$ **Sp**. Los bio-líquidos de **CG**, **CM** y **PK** mostraron una potente actividad de eliminación de radicales libres frente al radical DPPH, en comparación con el bio-líquido proveniente de **Sp**. El alto valor IC_{50} de **Sp** indica que es un pobre secuestrador de radicales libres.

Tabla 8.2.: Actividad antioxidante de bio-líquidos de pirólisis y Trolox en el ensayo DPPH.

Bio-líquido	IC_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Sp	$295,0 \pm 4,0$
PK	$52,2 \pm 1,13$
CG	$23,9 \pm 0,35$
CM	$21,5 \pm 0,76$
Trolox	$2,14 \pm 0,02$

Los altos contenidos de derivados de fenol de **CG** y **CM** también podrían ser responsables de la alta actividad antioxidante. La actividad antioxidante de los bio-líquidos de **CG**, **CM** y **PK** estudiados aquí resultó mayor que la encontrada por Patra y colaboradores para bio-líquidos derivados de biomasa lignocelulósica de pino rojo japonés[12].

Aunque es un hecho bien conocido que el alga *Spirulina* seca tiene actividades anti-

8.2. Fracción sólida o bio-carbón proveniente de pirólisis rápida

oxidantes y de eliminación de radicales libres, debido a su mayor contenido de proteínas, lípidos, carbohidratos, diferentes elementos y algunas vitaminas[13]; el proceso de pirólisis parece degradar la mayoría de los constituyentes clave y se pierde la actividad antioxidante. Contrariamente a lo que se esperaba, la alta concentración de TMP no tuvo efecto antioxidante, lo cual pudo deberse a la presencia de alguna otra molécula en el líquido que inhiba este efecto, o que TMP manifieste actividad antioxidante en condiciones puntuales, como son en presencia de otra molécula que genere un efecto sinérgico[14], o unida en una cadena polimérica[15, 16].

8.1.2.1. Conclusiones parciales

Se han probado las propiedades antifúngicas y antioxidantes de los bio-líquidos piro-líticos derivados de **Sp**, **PK**, **CG** y **CM**. En el caso de los bio-líquidos formados a partir de **Sp**, la actividad antifúngica y antioxidante fue pobre. Respecto a los otros crudos evaluados, los resultados obtenidos mostraron que los bio-líquidos de **CG** y **CM** (materiales lignocelulósicos) son eficaces contra *S. rolfsii* y *S. sclerotiorum* a una concentración de 4 mg mL⁻¹. Los compuestos fenólicos presentes en estos bio-líquidos podrían ser responsables de estas actividades. El bio-líquido derivado de **PK** mostró una buena actividad antifúngica, selectiva contra *S. rolfsii*. Este comportamiento podría atribuirse a la presencia de furanos en el líquido. En este punto, sería interesante aislar la fracción de compuestos responsable de esta actividad y estudiar su efecto contra éstos y otros hongos para el desarrollo de nuevos agentes antifúngicos para controlar enfermedades fúngicas graves en plantas, animales y seres humanos.

En relación a los ensayos de actividad antioxidante, el bio-líquido obtenido en la pirólisis de **Sp** presentó una baja actividad. Los bio-líquidos de **CG**, **CM** y **PK** poseen un potencial antioxidante prometedor como eliminadores de radicales libres. Sin embargo, todos los bio-líquidos evaluados presentaron una actividad antioxidante reducida en comparación con el inhibidor de referencia. Teniendo en cuenta los valores de actividad frente a DPPH, sería de gran importancia estudiar la actividad antioxidante de los bio-líquidos mediante la aplicación de otros métodos de análisis, para definir así sus posibles aplicaciones.

8.2. Fracción sólida o bio-carbón proveniente de pirólisis rápida

8.2.1. Aplicación agronómica de bio-carbones derivados de pirólisis de biomasa

En la siguiente tabla se resumen los resultados del análisis elemental de los bio-carbones evaluados (Tabla 8.3).

8. Resultados y Discusiones

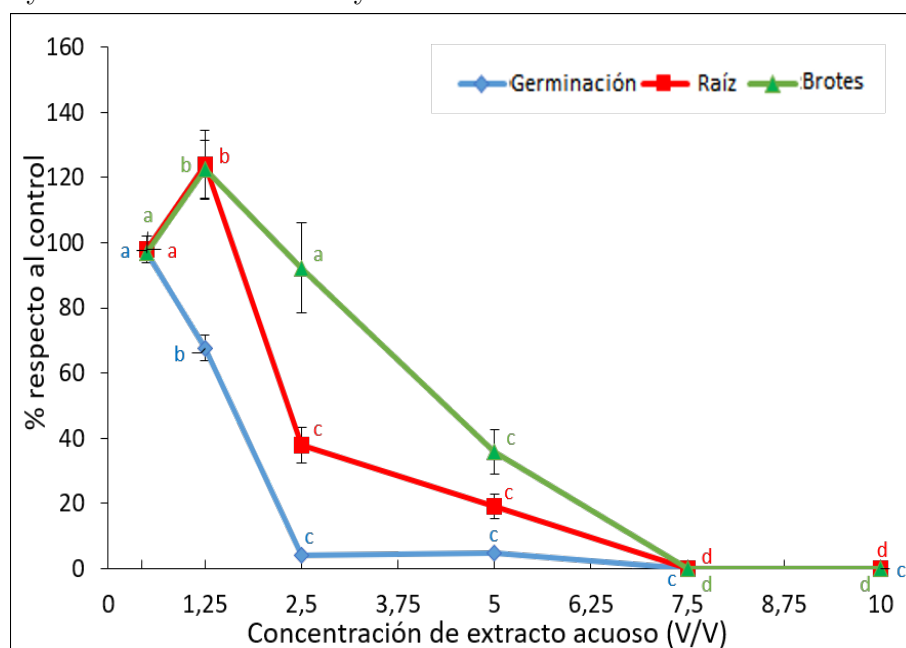
Tabla 8.3.: Análisis elemental de los bio-carbones provenientes de la pirólisis de **Sp**, **CG** y **CM**.

	BC-Sp	BC-CM	BC-CG
% C	47	59	51
% N	8	2	2
% H	6	4	3
% cenizas	26	3	22

Altos porcentajes de C fueron obtenidos para los tres bio-carbones estudiados. Esto es de suma importancia cuando se pretende utilizar estos materiales como enmienda de suelos, debido a que representan una fuente de C para las plantas y pueden generar interacciones con otros elementos. **BC-Sp** presentó un elevado contenido de N en comparación con los demás materiales. Este elemento presente en los bio-carbones posee un rol muy importante en los suelos, ya que actúan como fuente de N, permitiendo aumentar su fijación en las plantas[17].

Se evaluó la fitotoxicidad del extracto acuoso de bio-carbones provenientes de la pirólisis de biomasa. Los datos fueron calculados al final del experimento (día 3). Los valores se expresan como promedios de tres bioensayos independientes (tres repeticiones para cada concentración de extracto acuoso por bioensayo) \pm DE. Diferentes letras (a-d) indican diferencias significativas entre los efectos del tratamiento en comparación con el control (ANOVA, REML y prueba de DGC, $p < 0,01$).

Figura 8.2.: Efectos de las sustancias extraíbles con agua de **BC-Sp** sobre la germinación y el crecimiento de raíz y tallo de *L. sativa*.



8.2. Fracción sólida o bio-carbón proveniente de pirólisis rápida

En la figura se muestra el efecto de los extractos de agua de **BC-Sp** en el crecimiento de *L. sativa* (Figura 8.2). Los mismos produjeron una inhibición drástica de la germinación de la semilla de *L. sativa*. A la concentración 1,25 % P/V la germinación se redujo en un 40 %, siendo casi nula a 2,5 y 5,0 % P/V y completamente inhibida a $\geq 7,5$ % P/V. Con respecto al crecimiento, fue sorprendente que a la concentración más baja (1,25 % P/V) se promovieran el brote y el crecimiento de la raíz hasta en un 20 % con respecto a los controles. La inhibición del crecimiento de la raíz imitó la respuesta de la germinación de la semilla, severamente afectada a concentraciones $\geq 2,5$ % y alcanzando el 100 % de inhibición a $\geq 7,5$ % P/V. En contraste, la inhibición del crecimiento de brotes fue visible a una concentración más alta (5,0 % P/V, 65 % de inhibición) y se produjo 100 % de inhibición a concentraciones $\geq 7,5$ % P/V. Las concentraciones efectivas medias del extracto de agua de bio-carbón que inhibieron el crecimiento de germinación ($E_{cg_{50}}$), raíz ($E_{cr_{50}}$) y brote ($E_{cs_{50}}$) fueron 2,6; 3,4 y 3,8 %, respectivamente.

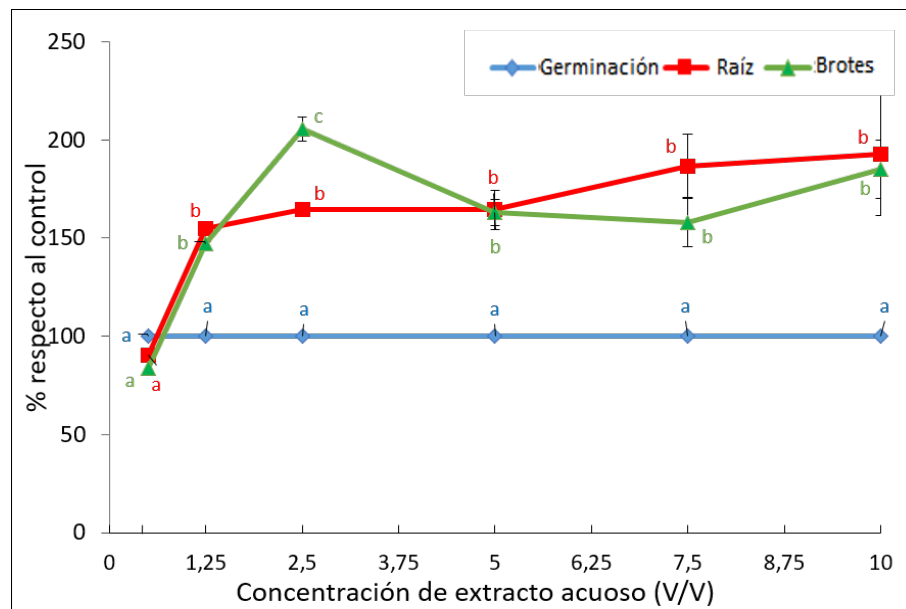


Figura 8.3.: Efectos de las sustancias extraíbles con agua de **BC-CM** sobre la germinación y el crecimiento de raíz y tallo de *L. sativa*.

El efecto producido por **BC-CM** y **BC-CG** sobre *L. sativa* se muestra en las Figuras 8.3 y 8.4. Los extractos no afectaron la germinación de las semillas de *L. sativa* en ninguna de las concentraciones analizadas; y todas las semillas germinadas produjeron plántulas con morfología normal. Sin embargo, se observó un patrón diferente de respuesta entre los materiales con respecto al crecimiento. Los extractos de agua de **BC-CM** mostraron un potente efecto estimulante sobre el crecimiento de raíces y brotes (Figura 8.3). Las raíces y los brotes fueron 150 a 200 % más largos que el control en todas las concentraciones (1,25–10 % P/V). En contraste, los extractos de agua de **BC-CG** solo promovieron el crecimiento de brotes en el rango inferior de concentraciones (1,25 -2,5 % P/V) y en menor medida (aprox. 20 %)

8. Resultados y Discusiones

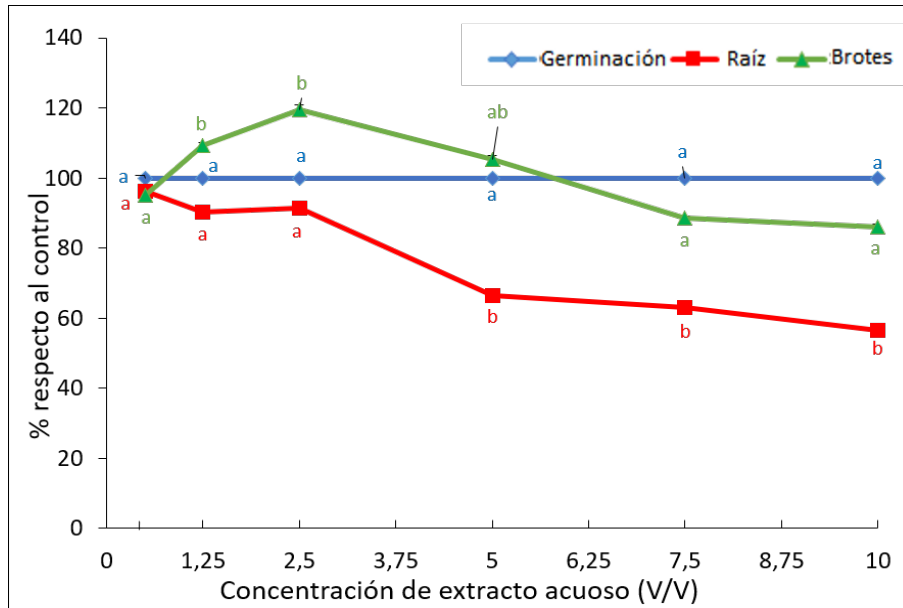


Figura 8.4.: Efectos de las sustancias extraíbles con agua de **BC-CG** sobre la germinación y el crecimiento de raíz y tallo de *L. sativa*.

(Figura 8.4). A estas concentraciones, el crecimiento de la raíz no se vio afectado, pero se redujo sustancialmente (hasta un 40 %) en concentraciones $\geq 5,0$ % (P/V), relativas a los controles.

En relación a estudios previos, Smith y colaboradores no informaron efectos fitotóxicos de sustancias extraíbles con agua de bio-carbones obtenidos por pirólisis de cáscara maní sobre el crecimiento de dos algas azules (cianobacterias *Synechococcus* y *Desmodesmus*), semejante a los resultados obtenidos en el presente trabajo; mientras que se encontraron efectos negativos para el bio-carbón de madera de pino, que también es un residuo de tipo lignocelulósico. Además, los resultados mostraron que los extractos de agua de cáscara de maní podrían incluso promover el crecimiento del cultivo de cianobacterias (hasta un 60 %) cuando se incuban a $1,13 \text{ g L}^{-1}$ [18]. Esto indicaría que, resulta necesario evaluar la fitotoxicidad de bio-carbones provenientes de biomasa, independientemente de la composición inicial, antes de su aplicación en suelos.

8.2.1.1. Conclusiones parciales

Según nuestro conocimiento, este es el primer informe en el que se ha investigado la bioactividad de los extractos de agua de bio-carbón de estos tres tipos de biomasa en el estudio de germinación y crecimiento utilizando *L. sativa* como sistema de prueba, y el primero en documentar la bioactividad, específicamente la fitotoxicidad, de extractos de **BC-Sp**. Los efectos inhibitorios exhibidos por **BC-Sp** indicarían que su incorporación directa al suelo como enmienda no sería aconsejable. Sin embargo, podrían ser utilizados como

inhibidores de crecimiento de ciertas plantas, para lo cual se debería estudiar el efecto de los extractos sobre otras especies vegetales. Los resultados generales muestran que **BC-CG** y **BC-CM**, serían adecuados como una enmienda del suelo. Además, debido a los sobresalientes efectos del crecimiento estimulante que muestran los extractos acuosos de **BC-CM**, estos extractos podrían usarse como potenciadores del crecimiento o bioestimulantes, proporcionando un subproducto de alto valor.

8.2.2. Estudio del bio-carbón de Sp como material de adsorción y purificación de moléculas de interés

8.2.2.1. Adsorción de AL

Se evaluó la capacidad de adsorción de AL sobre **BC-Sp** mediante Espectroscopía UV-Visible, realizando previamente la curva de calibración correspondiente (Anexo B). El pH de las soluciones resultantes fue de 2-3. La Figura 8.5 muestra la isoterma de adsorción de AL construida a partir de los datos experimentales.

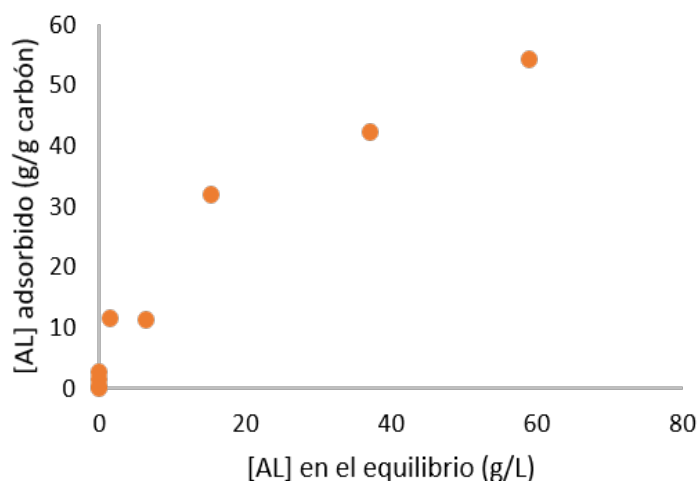


Figura 8.5.: Isoterma de adsorción de AL sobre **BC-Sp**

Los valores obtenidos del ajuste de los datos utilizando las isotermas de Langmuir (Ec. 7-3) y Freundlich (Ec. 7-5) se resumen en la Tabla 8.4.

La naturaleza de la adsorción, representada por R_L (Ec. 7-4), fue favorable. La Tabla 8.4 muestra un valor de $n > 1$, lo que indica una situación de “no linealidad” debido a la heterogeneidad de los sitios de adsorción. Respecto a los modelos de isotermas, Freundlich ajustó mejor los valores experimentales obtenidos, lo cual confirmó la heterogeneidad del material. El material logró adsorber una cantidad máxima de AL del orden de $43,48 \text{ g g}^{-1}$. Estos valores son muy superiores a estudios encontrados de adsorción de AL sobre otros

8. Resultados y Discusiones

Tabla 8.4.: Parámetros de las isothermas de Langmuir y Freundlich correspondiente a la adsorción de AL.

Isoterma	Coficiente	Valor obtenido del ajuste
Langmuir	q_m (g g^{-1})	43,48
	K_L (L g^{-1})	0,24
	R_L	0,04 a 0,98
	R^2	0,983
Freundlich	n	2,56
	K_F (L g^{-1})	1,26
	R^2	0,995

materiales carbonosos y resinas de intercambio[19, 20, 21, 22]. Por ello, se evaluó el AL utilizado en los experimentos de adsorción mediante RMN (Anexo B) y se observó que el mismo se encontraba parcialmente polimerizado[23]; es decir que al analizar el remanente en solución, se midió la absorbancia tanto el AL libre como el polimerizado, dando como resultado una cuantificación por exceso, lo cual explicaría los resultados obtenidos.

8.2.2.2. Adsorción de BSA

Se llevaron a cabo los experimentos de adsorción de BSA sobre bio-carbones obtenidos por pirólisis de **Sp** a 300 °C. En primer lugar, se realizó la caracterización morfológica de los materiales utilizados mediante SEM. Las imágenes obtenidas para **BC-Sp** y para **BC-KOH** se muestran en la Figura 8.6.

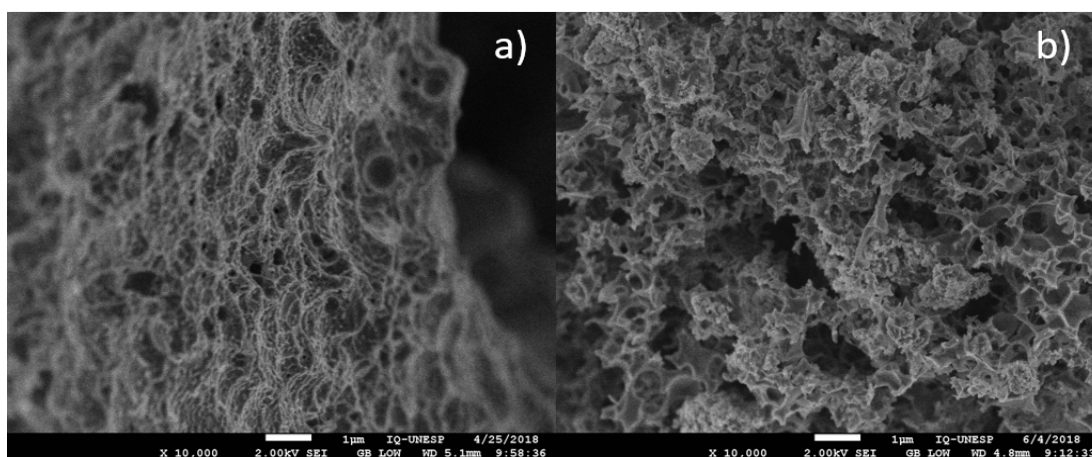


Figura 8.6.: Imágenes SEM de: a) **BC-Sp** y b) **BC-KOH**

La superficie de **BC-Sp** (Fig. 8.6, (a)) resultó ser relativamente regular y de porosidad moderada. En cambio, **BC-KOH** (Fig. 8.6, (b)) presentó una textura decapada, con elevada

8.2. Fracción sólida o bio-carbón proveniente de pirólisis rápida

cantidad de poros y canales, debido a la impregnación con KOH que genera una mayor descomposición de las sustancias volátiles en la materia prima[24, 25, 26].

A continuación se presentan las isotermas de adsorción obtenidas a partir de los datos procesados de las medidas llevadas a cabo por Espectroscopía UV-Visible y Potencial Z para todos los experimentos realizados (Figura 8.7), como así también los parámetros obtenidos de los ajustes de las isotermas, utilizando los modelos de Langmuir y Freundlich (Tabla 8.5). Para todos los experimentos de adsorción se realizó previamente una curva de calibración de BSA por Espectroscopía UV-Visible (Anexo B).

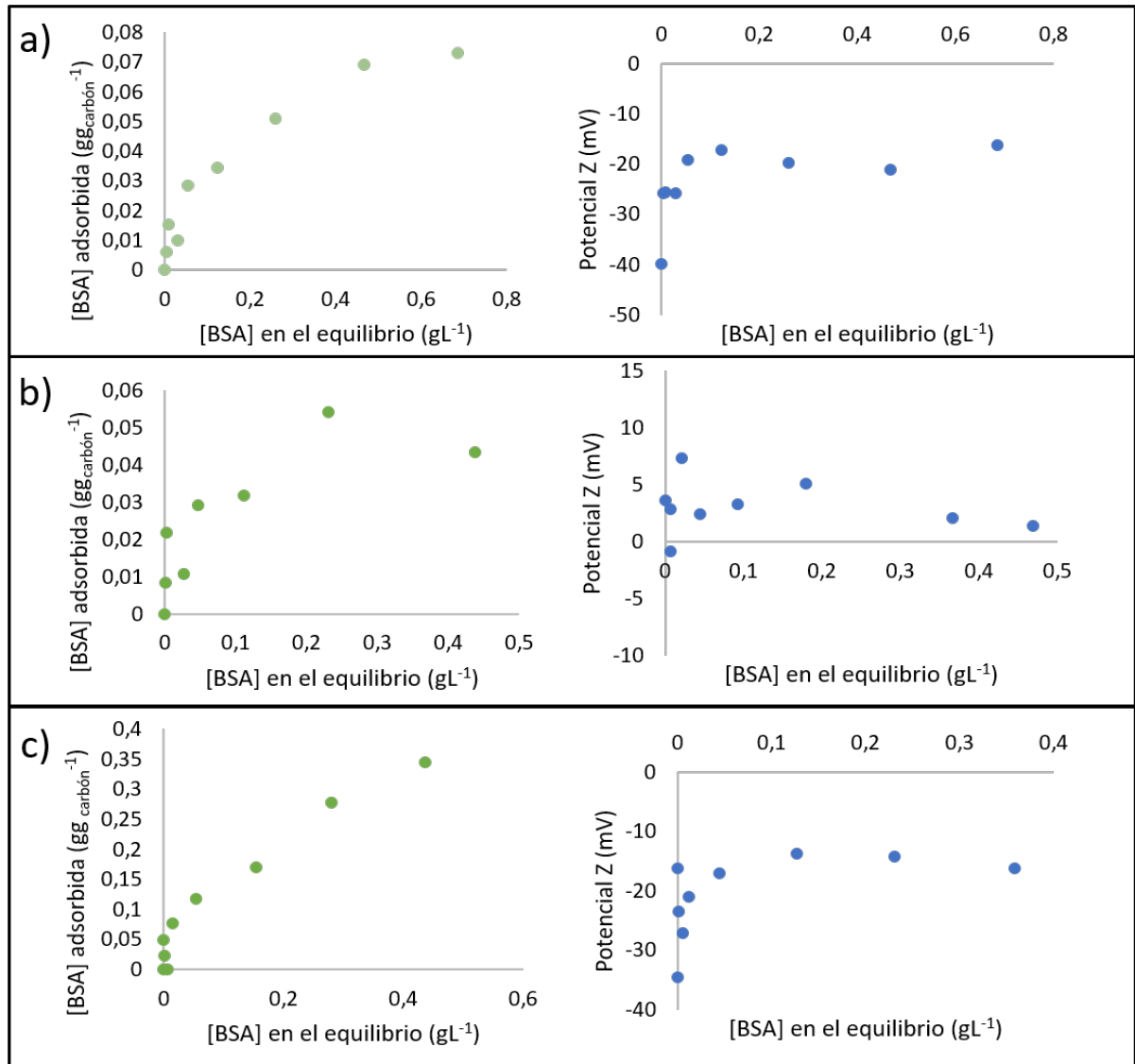


Figura 8.7.: Isotermas de adsorción de BSA en bio-carbones de **Sp**: a) **BC-Sp** a pH = 7,4; b) **BC-Sp** a pH = 4,5 y c) **BC-KOH** a pH = 7,4.

Al comparar los valores de R^2 en los tres experimentos, las isotermas de adsorción

8. Resultados y Discusiones

obtenidas se ajustaron mejor con el modelo de isoterma de Freundlich[27]. La constante de Langmuir (K_L) da cuenta de la intensidad de la interacción entre BSA y la superficie, siendo mayor sobre **BC-Sp** a pH = 4,5. Los valores de n en los tres experimentos fueron superiores a 1, lo que indicó una situación de “no linealidad” debido a la heterogeneidad de los sitios de adsorción. El valor K_F indica la capacidad de adsorción del adsorbente, que aumentó considerablemente para **BC-KOH**, debido probablemente al aumento en la porosidad del material. Los valores de R_L indicaron que para todas las condiciones evaluadas, la adsorción de BSA fue favorable.

Tabla 8.5.: Parámetros de las isotermas de Langmuir y Freundlich de la adsorción de BSA.

Isoterma	Coficiente	BC-Sp pH = 7,4	BC-Sp pH = 4,5	BC-KOH pH = 7,4
Langmuir	q_m (g g^{-1})	0,06	0,04	0,25
	K_L (L g^{-1})	35,8	227,3	28,8
	R_L	0,07 a 0,02	0,01 a 0,003	0,15 a 0,05
	R^2	0,981	0,947	0,844
Freundlich	n	2,13	3,37	2,27
	K_F (L g^{-1})	0,09	0,07	0,457
	R^2	0,989	0,933	0,954

En el primer gráfico se puede observar el comportamiento de BSA sobre **BC-Sp** a pH = 7,4 (Figura 8.7, (a)), donde la máxima cantidad de BSA adsorbida fue del orden de 0,06 g g^{-1} . Valores similares de BSA adsorbida se han encontrado para bio-carbones de cáscara de cacao activados previamente con ZnCl_2 [28], lo cual valoriza los resultados obtenidos para **BC-Sp** que no posee ningún tipo de activación. Al pH de trabajo, la isoterma construida a partir del Potencial Z mostró para **BC-Sp** un valor de carga superficial muy negativo, que fue disminuyendo con el aumento de la concentración de BSA, alcanzando un valor aproximado de -20 mV. Este valor se corresponde con el valor de Potencial Z de la BSA en solución[29]. Valores similares fueron obtenidos para otras superficies recubiertas con BSA a pH similar[30], lo cual permitió asumir que se recubrió completamente la superficie del material.

Al modificar el pH hacia valores más ácidos (Figura 8.7, (b)), se observó una ligera disminución de la capacidad de adsorción de **BC-Sp**, llegando a valores de BSA adsorbida de 0,04 g g^{-1} . Sin embargo, en estas condiciones el valor de K_L fue el más elevado, lo cual significó que la interacción entre BSA y el bio-carbón fue muy fuerte. Esto pudo deberse a que, al trabajar a un pH similar al pI, la carga superficial de BSA fue prácticamente nula, al igual que la de **BC-Sp**, reduciéndose así las repulsiones electrostáticas entre adsorbato y adsorbente. El Potencial Z alcanzado en la isoterma no coincide con los valores encontrados en bibliografía para una superficie completamente recubierta con BSA[29, 30], lo cual podría significar que el recubrimiento de la superficie del bio-carbón no fue completo. Teniendo en cuenta estos resultados, resultó más conveniente trabajar a pH cercanos a 7 para lograr una

mayor adsorción de BSA.

Por último, se muestra la isoterma de adsorción obtenida para **BC-KOH** (Figura 8.7, (c)). La isoterma realizada a partir del Potencial Z fue similar a la encontrada para **BC-Sp**, mostrando también un total recubrimiento de la superficie por BSA. En la isoterma de adsorción se observó un aumento considerable de la cantidad de BSA adsorbida, alcanzando valores del orden de $0,25 \text{ g g}^{-1}$, resultando muy superiores a los encontrados para **BC-Sp**. Esto era esperable teniendo en cuenta lo observado en las imágenes SEM, ya que una mayor cantidad de poros y canales permiten aumentar la capacidad de adsorción del material. Tanto para **BC-Sp** como para **BC-KOH** los valores de K_L fueron menores respecto al experimento a pH ácido, indicando que la repulsión electrostática entre BSA y los bio-carbones (cargados negativamente al pH de trabajo) da como resultado una interacción más débil entre ellos.

Los valores de adsorción para **BC-KOH** fueron superiores a otros materiales carbonosos activados reportados en bibliografía. Por ejemplo, Pereira y colaboradores trabajaron con bio-carbones de cáscara de cacao y semillas de siriguela activados con H_3PO_4 y ZnCl_2 y evaluaron la capacidad de adsorción de BSA, obteniendo valores adsorbidos de proteína de $41\text{-}130 \text{ mg}_{\text{BSA}}\text{g}^{-1}$ de bio-carbón a $\text{pH} = 7$ [28]. Sin embargo, otros autores han encontrado materiales carbonosos, aunque no derivados de bio-carbones (nanoplaquetas de grafito y grafeno térmicamente expandido), con una capacidad de adsorción de BSA superior ($1,3\text{-}22,2 \text{ g}_{\text{BSA}}\text{g}^{-1}$)[31]. De esta manera, tanto **BC-Sp** como **BC-KOH** demostraron tener mayor capacidad de adsorción de BSA que otros materiales carbonosos derivados de residuos de biomasa.

8.2.2.3. Purificación de AL proveniente de caldo de fermentación microbiana

Los resultados de la caracterización del caldo de fermentación se resumen en la Tabla 8.6. El caldo de fermentación no presentó sacarosa disuelta, por lo cual la purificación se centró en la eliminación de las proteínas. El pH final del caldo de cultivo fue de aproximadamente 7, encontrándose el AL en solución como lactato ($\text{pK}_{\text{aAL}} = 3,86$).

Tabla 8.6.: Caracterización del caldo de fermentación bacteriana

Propiedades	
pH	7,07
AL (g L^{-1})	68,32
Proteínas (g L^{-1})	3,39
Sacarosa (g L^{-1})	0

En primer lugar, se evaluó la filtración al vacío para la purificación de AL, determinando el contenido de éste y de proteínas mediante las metodologías ya descritas. Los carbonos utilizados fueron **BC-Sp** y **CAC** como referencia, cuyos resultados se encuentran en las tablas a continuación (Tabla 8.7).

8. Resultados y Discusiones

Tabla 8.7.: Valores obtenidos aplicando el tratamiento de purificación por filtrado al vacío con **BC-Sp** y **BC-CAC**

Material	Etapas	AL (g)	Proteínas (mg)	% ERAL ¹	% ERP ²
	Caldo inicial	0,683	33,94	—	
BC-Sp	1° Filtrado	0,432	14,89	90,34	48,64
	Lavado	0,132	2,54		
	Lavado	0,050	0		
	LDS ³	0,003	0		
	Total 1° filtrado	0,617	17,43		
	2° Filtrado	0,325	2,67	69,37	88,77
	Lavado	0,059	1,03		
	Lavado	0,027	0,11		
	LDS ³	0,017	0		
	Total 2° filtrado	0,428	3,81		
	3° Filtrado	0,153	1,41	44,63	95,85
	Lavado	0,033	0		
Lavado	0,005	0			
Total 3° filtrado	0,191	1,41			
BC-CAC	1° Filtrado	0,597	3,70		
	Lavado	0,182	1,47		
	Lavado	0,011	1,06		
	LDS ³	0,011	0,71		
	Total 1° filtrado	0,799	6,95		
	2° Filtrado	0,309	1,28	70,49	84,25
	Lavado	0,145	2,35		
	Lavado	0,005	3,32		
	LDS ³	0,007	0,13		
	Total 2° filtrado	0,466	5,35		
	3° Filtrado	0,101	1,67	28,61	88,39
	Lavado	0,086	2,14		
Lavado	0,003	0,27			
Total 3° filtrado	0,189	3,94			

¹: Calculado utilizando la Ecuación 7-6.

²: Calculado utilizando la Ecuación 7-7.

³: Lavado después del proceso de secado del carbón.

Luego del tratamiento se observó una disminución de la coloración del caldo para los carbones evaluados, logrando con **CAC** una eliminación casi completa del color. Tanto para **BC-Sp** como para **CAC**, con una única filtración y sus correspondientes lavados, se logró

8.2. Fracción sólida o bio-carbón proveniente de pirólisis rápida

eliminar una cantidad moderada de proteínas, con elevados porcentajes de recuperación de AL. Las filtraciones posteriores lograron eliminar mayores cantidades de proteínas, produciéndose una reducción en la cantidad de AL recuperado. Además, el tiempo empleado en las filtraciones fue elevado, debido al compactamiento del carbón dentro del embudo y a los tiempos de secado del material, por lo que se decidió desestimar las pruebas sobre los demás bio-carbones.

A continuación, se realizó la purificación por agitación. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 8.8.

Tabla 8.8.: Purificación de caldo de fermentación mediante agitación

Material	Etapas	AL (g)	Proteínas (mg)	% ERAL ¹	ERP ²
	Caldo inicial	0,342	16,97	—	
BC-CAC	Agitación	0,172	0,59	94,45	93,34
	1° Lavado	0,110	0,20		
	2° Lavado	0,051	0,34		
	Total	0,333	1,13		
BC-Sp	Agitación	0,196	2,03	98,83	69,82
	1° Lavado	0,11	2,05		
	2° Lavado	0,032	1,04		
	Total	0,338	5,12		
BC-KOH	Agitación	0,164	0,40	86,41	89,93
	1° Lavado	0,081	0,83		
	2° Lavado	0,051	0,48		
	Total	0,296	1,71		
BC-350	Agitación	0,181	0,82	92,23	84,62
	1° Lavado	0,104	1,02		
	2° Lavado	0,031	0,77		
	Total	0,316	2,61		
BC-400	Agitación	0,166	1,50	89,18	72,15
	1° Lavado	0,100	2,82		
	2° Lavado	0,040	0,41		
	Total	0,305	4,73		

¹: Calculado utilizando la Ecuación 7-6.

²: Calculado utilizando la Ecuación 7-7.

Al igual que el experimento de filtración al vacío, en la agitación se observó un comportamiento similar respecto a la disminución en la coloración del caldo, aunque en menor medida respecto a la primera. En lo relacionado a la purificación, todos los bio-carbones evaluados presentaron muy buenos valores de recuperación de AL y de eliminación de proteínas.

8. Resultados y Discusiones

Esto se debió fundamentalmente a que el AL, al estar presente como lactato, presentaba carga neta negativa, lo cual generó una repulsión electrostática entre éste y los bio-carbones, permitiendo así su separación de las proteínas. **BC-Sp** logró recuperar casi el total de AL presente en el caldo, pero la capacidad de eliminar proteínas fue regular. **BC-KOH** permitió retener un mayor porcentaje de proteínas, coincidiendo así con lo observado en los experimentos de adsorción de BSA analizados en la Sección 8.2.2.2. Éste resultó ser el bio-carbón que presentó un comportamiento similar al carbón activado comercial (**CAC**), logrando separar de las proteínas un elevado porcentaje de AL. Por otro lado, **BC-350** permitió recuperar un mayor porcentaje de AL que **BC-KOH**, pero eliminó menor cantidad de proteínas.

Conocer la porosidad de los materiales carbonosos es de suma importancia para poder comprender su comportamiento frente a las moléculas estudiadas[27]. Para ello, se realizó la caracterización morfológica mediante SEM de los carbonos evaluados (Figura 8.8). Como se puede observar en la imagen, todos los bio-carbones presentaron una superficie heterogénea. La superficie de **BC-Sp**, que presentó una porosidad reducida, justificó el bajo porcentaje de eliminación de proteínas en comparación con **BC-KOH**.

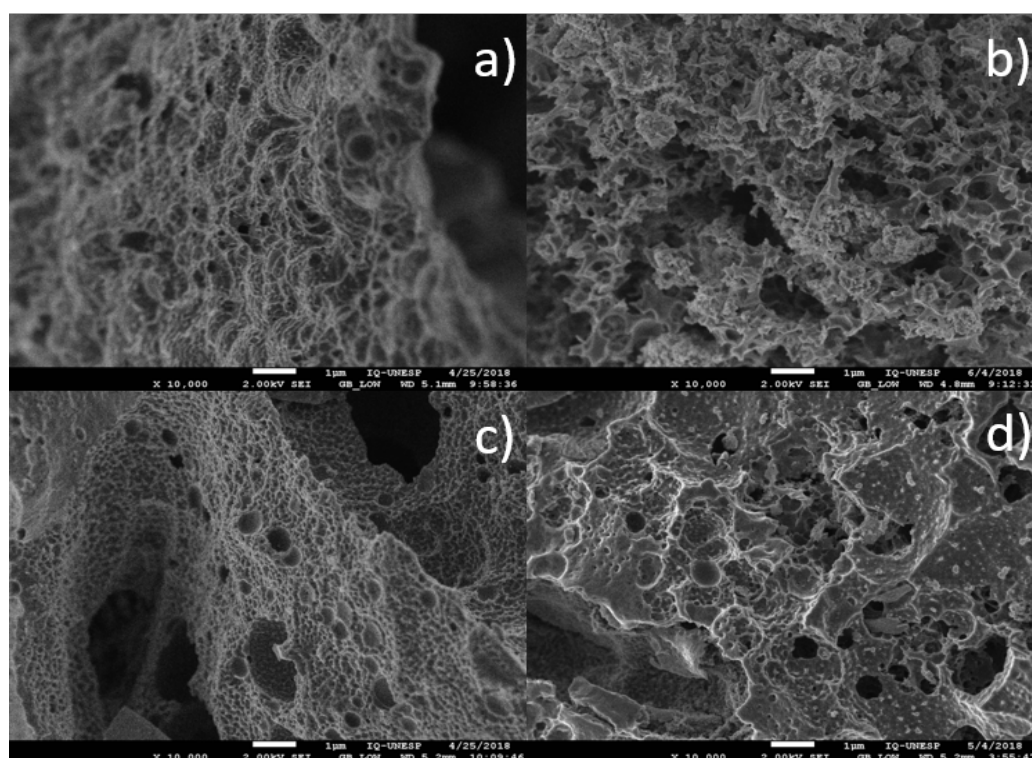


Figura 8.8.: Imágenes SEM de los bio-carbones evaluados: a) **BC-Sp**, b) **BC-KOH**, c) **BC-350** y d) **BC-400**

También se observaron estructuras porosas, con micro, mesoporos y canales de diámetro mayores, en los carbonos activados térmicamente, **BC-350** y **BC-400**. Una mayor tamaño de poro se consiguió en **BC-400**, ya que la temperatura de activación fue mayor[32]. El

menor tamaño de poro de **BC-350** permitió una recuperación similar de AL con mayor eliminación de proteínas respecto a **BC-400**. Esto pudo deberse a que el mayor tamaño de poro no consiguió retener las proteínas, y con los lavados fueron reincorporadas a la solución desde los poros. Teniendo en cuenta que este fenómeno no se observó para **BC-KOH**, que también presentó elevada porosidad, se analizaron los grupos funcionales presentes en la superficie de los bio-carbones mediante Espectroscopía Infrarroja (Figura 8.9 y Tabla 8.9).

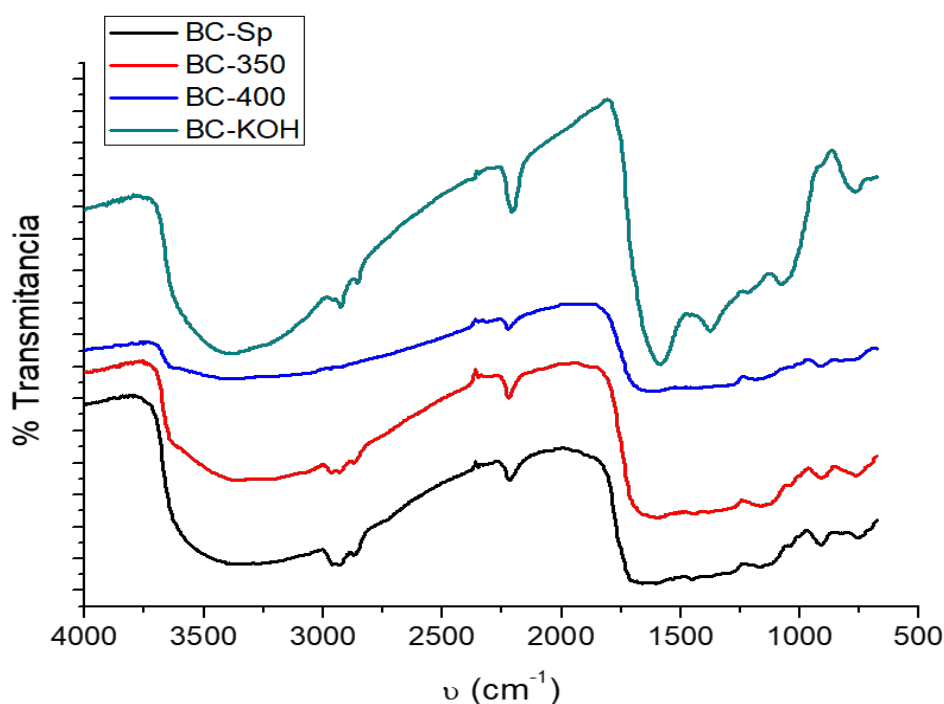


Figura 8.9.: Espectros IR de los bio-carbones evaluados.

Se observó que, el tratamiento térmico a 400 °C eliminó gran parte de los grupos funcionales, presentes en los demás materiales, generando como consecuencia una disminución en las interacciones entre **BC-400** y las proteínas, dando como resultado una reducción en la eficiencia de remoción de proteínas.

8.2.2.4. Conclusiones parciales

Se evaluó la capacidad de los bio-carbones derivados de la pirólisis de **Sp** de adsorber moléculas de interés. En la adsorción de AL puro sobre **BC-Sp**, se encontraron valores máximos de adsorción de 43,48 g g⁻¹. Al analizar los antecedentes de adsorciones de AL, se encontró que **BC-Sp** superó en 3 órdenes de magnitud la capacidad de adsorber AL respecto a otros materiales carbonosos y resinas de intercambio aniónico estudiadas, lo cual se debió a que el AL utilizado se encontraba parcialmente polimerizado.

8. Resultados y Discusiones

Tabla 8.9.: Asignación de picos de los Espectros IR

Número de onda (cm^{-1})	Descripción	Referencia
3650-3000	Estiramiento O-H	[33]
2915-2860	Estiramiento C-H simétrico y asimétrico de compuestos alifáticos	[34]
2260-2100	Estiramiento $\text{C} \equiv \text{C}$	[35]
1770-1620	Estiramiento $\text{C}=\text{O}$	[34]
1600-1450	Estiramiento $\text{C}=\text{C}$ aromático	[36]
1100-1000	Estiramiento C-O-C en éteres	[33]

En relación a la adsorción de BSA sobre **BC-Sp**, se encontró que la capacidad máxima de adsorción fue de $0,06 \text{ g g}^{-1}$ trabajando a $\text{pH} = 7,4$, y de $0,04 \text{ g g}^{-1}$ a $\text{pH} = 4,5$. Luego, se evaluó **BC-KOH** a $\text{pH} = 7,4$, demostrando tener una mayor capacidad de adsorción de BSA debido a su activación previa ($0,25 \text{ g g}^{-1}$), superando incluso a diversos materiales carbonosos derivados de biomasa reportados en bibliografía. Esto los convierte en materiales interesantes para continuar evaluando su capacidad de adsorción frente a otras proteínas de interés.

Finalmente, se decidió utilizar los bio-carbones sobre sistemas más complejos, para lo cual se estudió la purificación de caldo de fermentación bacteriana mediante la aplicación de bio-carbones. De las metodologías evaluadas, la agitación resultó ser la opción más simple, rápida y eficiente en la recuperación de AL y eliminación de proteínas, en comparación con la técnica de filtración al vacío. La caracterización morfológica realizada por SEM evidenció la heterogeneidad en la superficie de todos los bio-carbones estudiados. Los bio-carbones tratados, ya sea por metodologías físicas o químicas, presentaron mayor porosidad, una superficie más irregular y la presencia de canales, contrario a lo observado para **BC-Sp**. El estudio mediante Espectroscopía IR mostró el efecto del tratamiento térmico sobre los grupos funcionales superficiales de **BC-400**, y su efecto en la eficiencia de remoción de proteínas. Los materiales **BC-KOH** y **BC-350** resultaron los materiales más eficientes, ya que presentaron un equilibrio entre la capacidad de purificar AL y de eliminar proteínas, recuperando aproximadamente cantidades de AL superiores al 85 y 92 % respectivamente, reduciendo paralelamente el contenido de proteínas aproximadamente entre valores de 90 y 85 %, respectivamente.

8.3. Bibliografía

- [1] I. Y. Mohammed, Y. A. Abakr, S. Yusup, P. A. Alaba, K. I. Morris, Y. M. Sani, and F. K. Kazi. Upgrading of Napier grass pyrolytic oil using microporous and hierarchical mesoporous zeolites: Products distribution, composition and reaction pathways. *Journal of Cleaner Production*, 162:817–829, 2017.
- [2] R. Benini, M. V. Cortés, M. P. Monsalvo, J.C. Paladino, L. Spinelli, M. S. Tambussi, and G. Trubiano. *Programa de Fortalecimiento de Escuelas Técnicas. Una escuela hacia el futuro. Refinación del Petróleo, Parte I*. Buenos Aires, Argentina, first edition, 2011.
- [3] N. Binbuga, K. Chambers, W. P. Henry, and T. P. Schultz. Metal chelation studies relevant to wood preservation. 1. Complexation of propyl gallate with Fe^{2+} . *Holzforschung*, 59(2):205–209, 2005.
- [4] M. Zabka and R. Pavela. Antifungal efficacy of some natural phenolic compounds against significant pathogenic and toxinogenic filamentous fungi. *Chemosphere*, 93(6):1051–1056, 2013.
- [5] K. H. Kim, H. S. Jeong, J. Y. Kim, G. S. Han, I. G. Choi, and J. W. Choi. Evaluation of the antifungal effects of bio-oil prepared with lignocellulosic biomass using fast pyrolysis technology. *Chemosphere*, 89(6):688–693, 2012.
- [6] D. Mourant, D. Q. Yang, X. Lu, and C. Roy. Anti-fungal properties of the pyrolygneous liquors from the pyrolysis of softwood bark. *Wood Fiber Science*, 37(3):542–548, 2005.
- [7] P. Vasanthanathan, M. Lakshmi, M. Arockia Babu, A. K. Gupta, and S. G. Kaskhedikar. QSAR study of 3-phenyl-5-acyloxymethyl-2H,5H-furan-2-ones as antifungal agents: the dominant role of electronic parameter. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 54(4):583–587, 2006.
- [8] M. Pour, S. Marcel, P. Kubanova, M. Voprs, P. Koudelka, and H. Pourova. 3-Phenyl-5-acyloxymethyl-2H,5H-furan-2-ones : Synthesis and biological activity of a novel group of potential antifungal drugs. *Journal of Medicinal Chemistry*, pages 2701–2706, 2001.
- [9] W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, and C. Berset. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1):25–30, 1995.
- [10] G. C. Yen and P. D. Duh. Scavenging Effect of Methanolic Extracts of Peanut Hulls on Free-Radical and Active-Oxygen Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42:629–632, 1994.
- [11] S. Rajamanikandan, T. Sindhu, D. Durgapriya, D. Sophia, P. Ragavendran, and V. K. Gopalakrishnan. Radical Scavenging and antioxidant activity of ethanolic extract of

8. Resultados y Discusiones

- Mollugo nudicaulis by in vitro assays. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 45(4):310–316, 2011.
- [12] J. K. Patra, S. H. Kim, H. Hwang, J. W. Choi, and K. H. Baek. Volatile compounds and antioxidant capacity of the bio-oil obtained by pyrolysis of Japanese red pine (*Pinus densiflora* Siebold and Zucc.). *Molecules*, 20(3):3986–4006, 2015.
- [13] A. S. Gad, Y. A. Khadrawy, A. A. El-Nekeety, S. R. Mohamed, N. S. Hassan, and M. A. Abdel-Wahhab. Antioxidant activity and hepatoprotective effects of whey protein and Spirulina in rats. *Nutrition*, 27(5):582–589, 2011.
- [14] A. Georgiev, I. Karamancheva, and L. Topalova. Evaluation of the antioxidation activity of ionol and piperidone towards transformer oil using FT-IR spectroscopy. *Journal of Molecular Structure*, 797(1-3):25–33, 2006.
- [15] E. Yousif and R. Haddad. Photodegradation and photostabilization of polymers, especially polystyrene: Review. *SpringerPlus*, 2(1):1–32, 2013.
- [16] G. Przybytniak, K. Mirkowski, A. Rafalski, A. Nowicki, and I. Legocka. *International Journal of Nuclear Research*.
- [17] X. Xiao, B. Chen, Z. Chen, L. Zhu, and J. L. Schnoor. Insight into Multiple and Multilevel Structures of Biochars and Their Potential Environmental Applications: A Critical Review. *Environmental Science and Technology*, 52(9):5027–5047, 2018.
- [18] C. R. Smith, E. M. Buzan, and J. W. Lee. Potential impact of biochar water-extractable substances on environmental sustainability. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 1(1):118–126, 2013.
- [19] S. Seankham, S. Novalin, and S. Pruksasri. Kinetics and Adsorption Isotherm of Lactic Acid From Fermentation Broth. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*, 23(4):515–521, 2017.
- [20] N. Pradhan, E. R. Rene, P. N. L. Lens, L. Dipasquale, G. D’Ippolito, A. Fontana, A. Panico, and G. Esposito. Adsorption behaviour of lactic acid on granular activated carbon and anionic resins: Thermodynamics, isotherms and kinetic studies. *Energies*, 10(5):1–16, 2017.
- [21] Q. Gao, F. Liu, T. Zhang, J. Zhang, S. Jia, C. Yu, K. Jiang, and N. Gao. The role of lactic acid adsorption by ion exchange chromatography. *Public Library of Science*, 5(11), 2010.
- [22] Ş. S. Bayazit, I. Inci, and H. Uslu. Adsorption of lactic acid from model fermentation broth onto activated carbon and amberlite IRA-67. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 56(5):1751–1754, 2011.

- [23] A. Ramanjooloo, A. Bhaw-Luximon, D. Jhurry, and F. Cadet. ^1H NMR quantitative assessment of lactic acid produced by biofermentation of cane sugar juice. *Spectroscopy Letters*, 42(6-7):296–304, 2009.
- [24] A. Elmouwahidi, E. Bailón-García, A. F. Pérez-Cadenas, F. J. Maldonado-Hódar, and F. Carrasco-Marín. Activated carbons from KOH and H_3PO_4 -activation of olive residues and its application as supercapacitor electrodes. *Electrochimica Acta*, 229:219–228, 2017.
- [25] G. Lin, R. Ma, Y. Zhou, Q. Liu, X. Dong, and J. Wang. KOH activation of biomass-derived nitrogen-doped carbons for supercapacitor and electrocatalytic oxygen reduction. *Electrochimica Acta*, 261:49–57, 2018.
- [26] Y. Zhang, Y. Cong, J. Zhang, X. Li, Y. Li, Z. Dong, G. Yuan, J. Zhang, and Z. Cui. Effects of activation temperatures on the surface structures and supercapacitive performances of porous carbon fibers. *Surface and Coatings Technology*, 349:384–391, 2018.
- [27] C. Moreno-Castilla. Adsorption of organic molecules from aqueous solutions on carbon materials. *Carbon*, 42(1):83–94, 2004.
- [28] R. Gonçalves Pereira, C. Martins Veloso, N. Mendes Da Silva, L. Fariasn De Sousa, R. C. Ferreira Bonomo, A. Oliveira De Souza, M. Oliveira Da Guarda Souza, and R. Da Costa Ilhéu Fontan. Preparation of activated carbons from cocoa shells and siriguela seeds using H_3PO_4 and ZnCl_2 as activating agents for BSA and α -lactalbumin adsorption. *Fuel Processing Technology*, 126:476–486, 2014.
- [29] Inc. HORIBA Instruments. Zeta potential of bovine serum albumin (BSA) protein. *Particle Characterization Analyzer AN184- Applications Note*, pages 1–3, 2009.
- [30] S. M. H. AL-Jawad, A. A. Taha, M. M. F. Al-Halbosiy, and L. F. A. AL-Barram. Synthesis and characterization of small-sized gold nanoparticles coated by bovine serum albumin (BSA) for cancer photothermal therapy. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 21:201–210, 2018.
- [31] M. Sereych, L. Mikhalovska, S. Mikhalovsky, and Y. Gogotsi. Adsorption of Bovine Serum Albumin on Carbon-Based Materials. *Journal of Carbon Research*, 4(1):3, 2018.
- [32] N. S. Sulaiman, R. Hashim, M. H. M. Amini, M. Danish, and O. Sulaiman. Optimization of activated carbon preparation from cassava stem using response surface methodology on surface area and yield. *Journal of Cleaner Production*, 198:1422–1430, 2018.
- [33] D. Pattnaik, S. Kumar, S. K. Bhuyan, and S. C. Mishra. Effect of carbonization temperatures on biochar formation of bamboo leaves. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 338(1), 2018.

8. Resultados y Discusiones

- [34] P. Quosai, A. Anstey, A. K. Mohanty, and M. Misra. Characterization of biocarbon generated by high- and low-temperature pyrolysis of soy hulls and coffee chaff: For polymer composite applications. *Royal Society Open Science*, 5(8), 2018.
- [35] G. K. Gupta, M. Ram, R. Bala, M. Kapur, and M. K. Mondal. Pyrolysis of chemically treated corncob for biochar production and its application in Cr(VI) removal. *Environmental Progress and Sustainable Energy*, 37(5):1606–1617, 2018.
- [36] U. D. Hamza, N. S. Nasri, N. A. S. Amin, J. Mohammed, and H. M. Zain. Characteristics of oil palm shell biochar and activated carbon prepared at different carbonization times. *Desalination and Water Treatment*, 57(17):7999–8006, apr 2016.

Parte IV.

Epílogo

Capítulo 9

Conclusiones y proyecciones

9.1. Conclusiones generales

A partir de esta Tesis Doctoral, se logró aplicar la técnica de pirólisis rápida en el tratamiento de algas como biomasa de partida para obtener productos de mayor valor agregado. Se estudiaron diferentes especies y se caracterizaron los productos sólidos y líquidos obtenidos para un aprovechamiento íntegro de estos derivados de la pirólisis. En función de sus propiedades, fue posible evaluar los bio-líquidos como fuente de biocombustibles o de compuestos químicos de interés, como así también estudiar los bio-carbones como potencial material de purificación o de enmienda de suelos agrícolas.

En la Parte II de la presente Tesis Doctoral, se estudió la pirólisis rápida de diversas especies de algas, el efecto de las condiciones de reacción en la distribución de productos y posteriormente se caracterizaron estos productos obtenidos para su posterior aprovechamiento. Se logró estudiar el alga **Ph** como fuente alternativa de biomasa en pirólisis rápida, siendo el primer registro de aplicación de esta técnica sobre este tipo de alga. Se obtuvo a a 600 °C un máximo de 20 % de producto bio-líquido, siendo el solketal el compuesto mayoritario, el cual no ha sido reportado en bibliografía como posible producto de pirólisis rápida de biomasa. Este compuesto es muy valioso por sus aplicaciones como aditivo en combustibles y como agente plastificante, entre otras; y se ha obtenido mediante pirólisis en menores tiempos de reacción y con muy buenos rendimientos en comparación con las metodologías convencionales de síntesis.

Por otro lado, se evaluó el alga **Sp** y se encontró que el porcentaje de producción de bio-líquido alcanzó un 40 % a 600 °C. En su composición, 2,2,6,6-tetrametil-4-piperidona fue el producto más interesante y abundante, con aplicaciones en la industria de polímeros y como sonda en estudios espectroscópicos. La producción a nivel industrial de este compuesto es muy costosa y de rendimientos moderados, por lo cual resultó interesante poder obtenerlo de una fuente natural, en cortos tiempos y elevados porcentajes de producción.

También se estudió el alga **Bb** como potencial fuente de biocombustibles. Mediante el uso de pirólisis rápida, se encontraron porcentajes de rendimiento de bio-líquido superiores

9. Conclusiones y proyecciones

a las otras algas estudiadas en esta Tesis, e incluso a otras especies de algas publicadas en bibliografía. El mayor porcentaje de la fracción líquida se obtuvo a 500 °C, con un valor de 60 %. Entre los productos predominantes, se observaron hidrocarburos de cadena larga, en su mayoría insaturados y oxigenados (alcoholes, dienos y ácidos), siendo posible la aplicación de este bio-líquido como precursor de biocombustibles. Con estos resultados alentadores, se estudió la posibilidad de optimizar el tiempo y la cantidad de biomasa con el propósito de escalar el proceso. Fue posible trabajar con mayor cantidad de biomasa y a menores tiempos de reacción, mejorando la producción de bio-líquido y la eficiencia energética del proceso. Se caracterizó el mismo para su posible aplicación como biocombustible mediante análisis elemental. Se calculó el índice HHV a partir de estos valores y se compararon con bio-líquidos provenientes de material lignocelulósico y con un combustible fósil. Los bio-líquidos de **Bb** tuvieron mejores propiedades que los bio-líquidos lignocelulósicos, pero aún así no alcanzaron a los valores de un combustible fósil, debido principalmente al elevado contenido de oxígeno. Con la intención de eliminar el oxígeno, se evaluó la utilización de catalizadores sólidos en las reacciones de pirólisis, sin obtener resultados alentadores. Estos materiales catalíticos fueron evaluados también en experimentos sobre el bio-líquido de **Bb** para su mejoramiento posterior al proceso de pirólisis, sin obtener mejoras en las propiedades del mismo líquido, lo que indicaría que debieran explorarse más condiciones para cumplimentar este propósito. Una alternativa sería utilizar las mismas técnicas aplicadas para los combustibles fósiles, permitiendo inclusive realizar el refinado de una mezcla de ambos precursores. De esta manera, se lograría reducir la contaminación generada por los combustibles fósiles y, paralelamente, extender la vida útil de este recurso.

Por otro lado, se realizaron extracciones con solventes orgánicos del material algal para comparar las metodologías de obtención de bio-líquido. Utilizando tanto hexano como acetato de etilo, se lograron extraer principalmente aldehídos y alcoholes de cadena larga, con porcentajes de 45-53 % para el calentamiento convencional y 35-48 % para el calentamiento asistido por MO. A diferencia de la pirólisis, la extracción con solventes generó un mayor porcentaje de residuo sólido e importantes volúmenes de solvente. Comparando las metodologías, la pirólisis presentó notables ventajas respecto a las extracciones con solvente, sobre todo cuando se evalúan las consecuencias de cada metodología desde el aspecto del escalado a nivel industrial y el impacto ambiental.

La Parte III de esta Tesis se enfocó en las posibles aplicaciones de los bio-líquidos y bio-carbones provenientes de la pirólisis de las algas estudiadas. En relación a la fracción líquida, se probaron las propiedades antifúngicas y antioxidantes de los bio-líquidos derivados de **Sp**, y de **PK**, **CG** y **CM** a modo comparativo. El bio-líquido obtenido a partir de **Sp** presentó una exigua actividad antifúngica y antioxidante, mientras que de los otros bio-líquidos evaluados, los líquidos provenientes de **CG** y **CM** (biomasa lignocelulósica) presentaron una interesante actividad antifúngica contra los hongos *S. rolfsii* y *S. sclerotiorum* y un potencial antioxidante prometedor como eliminadores de radicales libres. Sin embargo, todos los bio-líquidos evaluados presentaron una actividad antioxidante reducida en relación

al inhibidor de referencia.

En relación a la fracción sólida, se evaluó la fitotoxicidad de extractos acuosos de **BC-Sp** en ensayos de germinación de *L. sativa* y se comparó con extractos obtenidos a partir de **BC-CG** y **BC-CM**, con el propósito de ser utilizados como enmienda de suelos, siendo este trabajo el primer estudio de fitotoxicidad de bio-carbones provenientes de algas. Los resultados generales muestran que **BC-CG** y **BC-CM** serían adecuados como una enmienda del suelo, mientras que los efectos inhibitorios exhibidos por **BC-Sp** indicarían que su incorporación directa al suelo como enmienda no sería aconsejable. Sin embargo, podrían ser utilizados como inhibidores de crecimiento de ciertas plantas, para lo cual se debería estudiar el efecto de los extractos sobre otras especies vegetales.

Se evaluó también la capacidad de los bio-carbones derivados de la pirólisis de **Sp** de adsorber moléculas de interés para su aplicación en la industria farmacéutica o de polímeros, entre otras. En la adsorción de AL puro sobre **BC-Sp**, se encontraron valores máximos de adsorción del orden de los 44 g g^{-1} , superando en tres órdenes de magnitud la capacidad de adsorber AL respecto a otros materiales carbonosos y resinas de intercambio aniónico estudiadas. Esto se debió a que el AL evaluado se encontraba parcialmente polimerizado, dando como resultado una cuantificación por exceso. En relación a la adsorción de BSA sobre **BC-Sp**, se logró evaluar el efecto del pH sobre la capacidad de adsorción de BSA, evidenciando el efecto de la repulsión electrostática en la capacidad del carbón de incorporar la BSA en su superficie. Luego, se evaluó **BC-KOH**, demostrando tener una mayor capacidad de adsorción de BSA, superando la capacidad de adsorción de materiales carbonosos derivados de biomasa reportados en bibliografía. Finalmente, se decidió utilizar los bio-carbones sobre matrices reales más complejas, para lo cual se estudió la purificación de caldo de fermentación bacteriana mediante la aplicación de bio-carbones. La agitación fue la metodología seleccionada por su simplicidad, rapidez y eficiencia en la recuperación de AL y eliminación de proteínas. La caracterización morfológica realizada por SEM evidenció que los tratamientos realizados sobre los bio-carbones afectaron la morfología del material, generando mayor porosidad, una superficie más irregular y la presencia de canales. Los materiales más eficientes fueron **BC-KOH** y **BC-350**, al compararlos con el material de referencia, ya que presentaron un equilibrio entre la capacidad de purificar AL y de eliminar proteínas, recuperando aproximadamente cantidades de AL superiores al 85 y 92 % respectivamente y reduciendo paralelamente el contenido de proteínas aproximadamente entre valores de 90 y 85 % respectivamente. Los experimentos de adsorción permitieron poner en evidencia la excelente capacidad de los bio-carbones derivados de **Sp** para ser utilizados en la adsorción de moléculas de interés de diferente tamaño y propiedades, siendo éste el primer trabajo de adsorción de este tipo de moléculas sobre bio-carbones provenientes de la pirólisis de algas.

De esta Tesis Doctoral se destaca la importancia del aprovechamiento de diversas especies de algas, mediante una técnica sencilla como lo es la pirólisis rápida, para la obtención de distintos productos con múltiples aplicaciones, ya sea líquidos o sólidos. Esta metodología podría ser utilizada para la transformación de algas que pueden ser abundantes, o de

9. Conclusiones y proyecciones

crecimiento desmedido debido a la eutrofización, en los cursos de agua de nuestra región; permitiendo así abordar una problemática ambiental y aprovechar esta biomasa como un recurso regional valioso.

9.2. Proyecciones

Analizando los resultados obtenidos a lo largo de esta Tesis Doctoral, se plantean numerosas proyecciones, tanto en los experimentos de pirólisis rápida como en los estudios de probables aplicaciones de los productos de pirólisis. En la pirólisis de **Sp** y **Ph** se obtuvieron interesantes productos de alto valor en química fina. Sin embargo, es necesario separarlos del crudo de reacción, por lo cual se podrían evaluar metodologías de separación y purificación, como extracciones líquido-líquido con solventes de polaridad adecuada o cromatografía en columna.

Por otro lado, debido a que los intentos de mejorar el bio-líquido de **Bb** no fueron exitosos, una de las proyecciones serían evaluar metodologías de mejoramiento similares a las utilizadas a nivel industrial para combustibles derivados del petróleo como el Hidrotratamiento[1].

Respecto a las propiedades de los bio-líquidos, sería interesante estudiar los efectos de los bio-líquidos activos contra otros hongos, o incluso contra diversos insectos, para el desarrollo de nuevos agentes para controlar enfermedades fúngicas o plagas a nivel regional. En función de los resultados alentadores obtenidos, el siguiente paso sería evaluar la fitotoxicidad de estos líquidos en plantas para evitar posibles efectos adversos en el momento de su aplicación. Por otro lado, teniendo en cuenta los valores de actividad frente a DPPH, sería de gran importancia estudiar la actividad antioxidante de los bio-líquidos mediante la aplicación de otros métodos de análisis (enzimáticos, electroquímicos, etc.), para definir así sus posibles aplicaciones. Cabe destacar que existe una gran diferencia entre la actividad antirradical y la actividad antioxidante. La actividad antirradical caracteriza la capacidad de los compuestos para reaccionar con radicales libres, mientras que la actividad antioxidante representa la capacidad de inhibir el proceso de oxidación. En consecuencia, todos los sistemas probados que utilizan un radical libre estable (DPPH, ABTS, etc.) proporciona información sobre la captación de radicales o la actividad antioxidante, aunque en muchos casos esta actividad no corresponde a la actividad antioxidante en sí[2]. También se podría realizar una separación del bio-líquido en fracciones mediante extracciones con solventes de diferente polaridad, y evaluar la actividad antioxidante de cada fracción.

En relación a las aplicaciones de los bio-carbones, **BC-Sp** presentó una inhibición importante sobre el crecimiento de *L. sativa*, por lo cual no son viables como enmienda de suelos agrícolas. Sin embargo, podrían ser utilizados como inhibidores de crecimiento de ciertas plantas, para lo cual se debería estudiar el efecto de los extractos sobre otras especies vegetales, como otros cultivos o algunas malezas. En Argentina se utilizan grandes volúmenes de herbicidas para la eliminación de malezas en las plantaciones de soja, contaminando los

suelos y produciendo daño sobre la salud de la población[3]. En este contexto, estos extractos surgen tal vez como una alternativa más amigable con el ambiente y la población.

En la aplicación de los bio-carbones como materiales de purificación, los resultados obtenidos en la purificación de AL a partir de un caldo de fermentación resultaron muy interesantes. Se podría proponer el uso de estos materiales en la purificación de moléculas de interés a partir de suero de las industrias lácteas, teniendo en cuenta que es una de las industrias más grandes de la región y que generan grandes volúmenes de suero como desecho.

9.3. Bibliografía

- [1] R. Benini, M. V. Cortés, M. P. Monsalvo, J.C. Paladino, L. Spinelli, M. S. Tambussi, and G. Trubiano. *Programa de Fortalecimiento de Escuelas Técnicas. Una escuela hacia el futuro. Refinación del Petróleo, Parte I*. Buenos Aires, Argentina, first edition, 2011.
- [2] H. A. Moharram and M. M. Youssef. Methods for Determining the Antioxidant Activity : A Review. *J . Fd . Sci . & Technol*, 11(1):31–42, 2014.
- [3] José Luis Zorzín and José Felipe Buffa. Estrategias en el control de malezas en el cultivo de soja. Technical report, INTA, 2018.

Parte V.
Apéndice

Apéndice A

Cromatogramas y tablas de productos de bio-líquidos de pirólisis



Figura A.1.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Ph** a 300 °C.

Tabla A.1.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de **Ph** a 300 °C.

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
5.491	318704	38.88	2,2-Dimetil-1,3-dioxolan-4-metanol (Solketal)
6.533	45528	5.55	Fenol
10.102	55367	6.75	2,2,6,6-Tetrametil-4-piperidinona
12.085	178212	21.74	1,4:3,6-Dianhidro- α -d-glucopiranososa
18.229	102314	12.48	Nonadecano
20.783	119668	14.60	2,6,11-Trimetil-dodecano

A. Cromatogramas y tablas de productos de bio-líquidos de pirólisis



Figura A.2.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Ph** a 400 °C.

Tabla A.2.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de **Ph** a 400 °C

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
3.724	1038067	49.90	4-Amino-4-metil-2-pentanona
5.391	157177	7.56	2,2-Dimetil-1,3-dioxolan-4-metanol (Solketal)
6.427	132218	6.36	Fenol
8.947	197842	9.51	2-Metil-fenol
10.033	265160	12.75	2,2,6,6-Tetrametil-4-piperidinona
12.035	289496	13.92	1,4:3,6-Dianhidro- α -d-glucopiranososa



Figura A.3.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Ph** a 500 °C.

Tabla A.3.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de **Ph** a 500 °C

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
5.378	1376947	85.83	2,2-Dimetil-1,3-dioxolan-4-metanol (Solketal)
12.038	227306	14.17	1,4:3,6-Dianhidro- α -d-glucopiranososa



Figura A.4.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Ph** a 600 °C.

Tabla A.4.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de **Ph** a 600 °C

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
3.732	2449346	33.33	1-Metil-piperazina
3.932	1287608	17.51	1,3-Dimetil-benceno
4.394	381057	5.18	1,2-Dimetil-benceno
5.479	1113129	15.14	2,2-Dimetil-1,3-dioxolan-4-metanol (Solketal)
6.430	187798	2.55	2,2-Dimetil-5-hidroxi-1,3-dioxano
6.527	703235	9.56	Fenol
9.019	583308	7.93	p-Cresol
10.099	118019	1.60	2,2,6,6-Tetrametil-4-piperidinona
12.083	260375	3.54	1,4:3,6-Dianhidro- α -d-glucopiranososa
12.418	132683	1.80	Benzotiazol
18.226	137143	1.86	2,6,11-Trimetil-dodecano

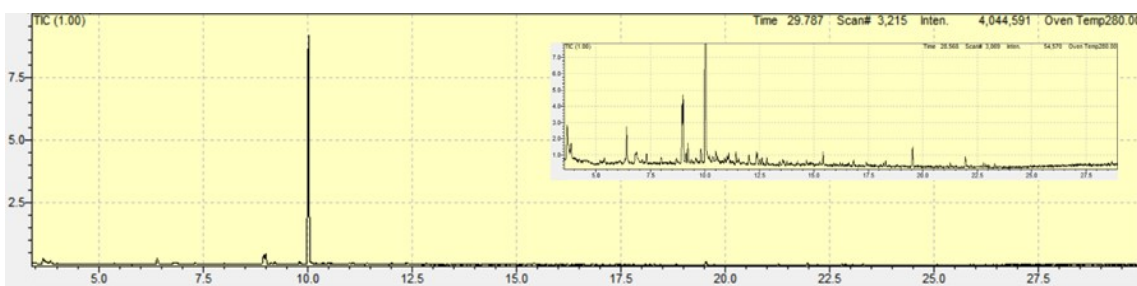


Figura A.5.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Sp** a 300 °C.

A. Cromatogramas y tablas de productos de bio-líquidos de pirólisis

Tabla A.5.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de **Sp** a 300 °C

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
3.668	908140	4.10	1-Metil-piperazina
6.410	451843	2.04	Fenol
8.956	768526	3.47	1-Metil-5-piperidinil imidazolidin-2,4-diona
9.000	879209	3.97	2,3-Dimetil-2-ciclopenten-1-ona
10.023	18646680	84.17	2,2,6,6-Tetrametil-4-piperidinona
12.021	195143	0.88	1,4:3,6-Dianhidro- α -d-glucopiranososa
15.428	145875	0.66	Bifenil éter
21.966	156812	0.71	Hexadecanonitrilo

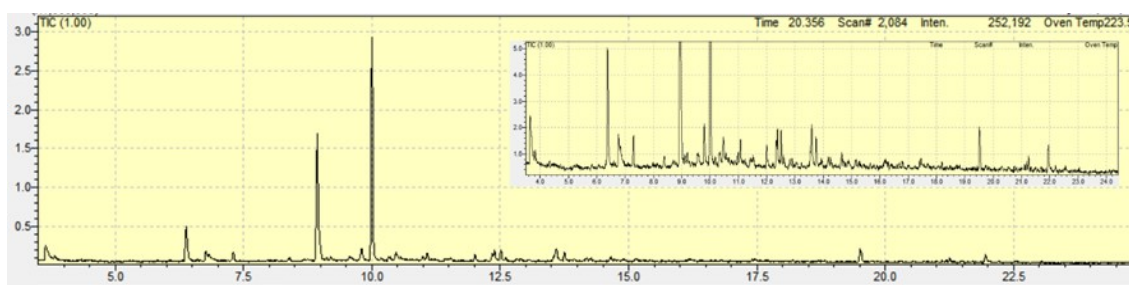


Figura A.6.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Sp** a 400 °C.

Tabla A.6.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de **Sp** a 400 °C

tr(min)	Área	% Área	Compuesto
3.646	912341	5.98	1-Metil-piperazina
6.386	1267780	8.32	Fenol
6.772	397085	2.60	2,4,6-Trimetil-piridina
6.832	171542	1.13	3-Metil-Butanamida
7.304	307739	2.02	2,2,4,5-Tetrametil-2H-imidazol
8.937	4631984	30.38	1-Metil-5-piperidinil imidazolidin-2,4-diona
10.003	6143296	40.30	2,2,6,6-Tetrametil-4-piperidinona
12.007	269484	1.77	1,4:3,6-Dianhidro- α -d-glucopiranososa
12.514	286870	1.88	Bencenpropanonitrilo
19.513	500513	3.28	2-Metiltetracosano
21.952	357045	2.34	Pentadecanonitrilo

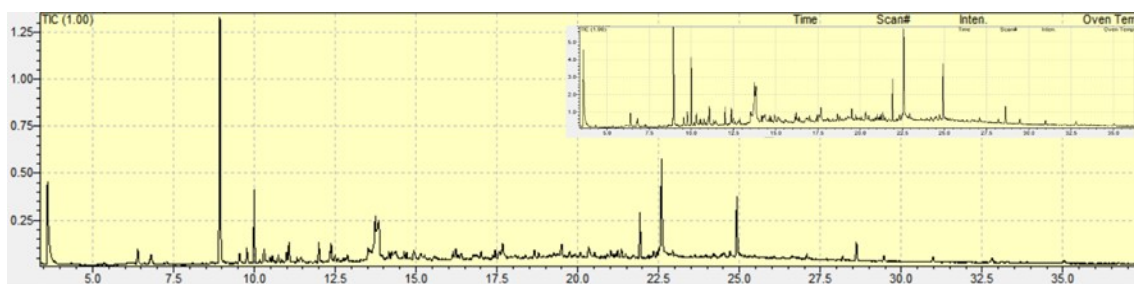


Figura A.7.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Sp** a 500 °C.

Tabla A.7.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de **Sp** a 500 °C

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
3.607	14633406	11.24	4-Amino-4-metil-2-pentanona
6.397	2047677	1.57	Fenol
6.813	1571705	1.21	3-Metil-butanamida
7.299	347199	0.27	2,2,4,5-Tetrametil-2H-imidazol
8.394	240777	0.18	2-Metil-fenol
8.937	31279862	24.05	1-Metil-5-piperidinil imidazolidin-2,4-diona
9.544	1513180	1.16	3-Metil-butanamida
9.768	1920457	1.48	Hexanamida
9.995	8423534	6.47	2,2,6,6-Tetrametil-4-piperidinona
10.174	499952	0.38	meso-4,5-Dimetil-1,3-dioxolan-2-ona
10.306	2495676	1.92	2,5-Pirrolidindiona
10.745	1171198	0.90	3-Metil-2,5-pirrolidindiona
11.319	754698	0.58	2-Piperidinona
12.000	2593915	1.99	1,4:3,6-Dianhidro- α -d-glucopiranososa
13.738	21490601	16.51	1-(Hidroximetil)-5,5-dimetil-2,4-imidazolidindiona
14.372	2279777	1.75	5-Metil-2,4-imidazolidindiona
16.226	1003849	0.77	6-Undecilamina
17.565	1694650	1.30	5-(2-Metilpropil)-2,4-imidazolidindiona
20.335	2082189	1.60	Hexahidro-pirrol[1,2-a]pirazin-1,4-diona
21.924	4665260	3.58	Pentadecanonitrilo
22.591	15873845	12.19	Ácido n-Hexadecanóico
24.914	7630498	5.86	Octadecanamida
28.192	558016	0.43	Eicosano
29.467	924619	0.71	Tetracontano
30.974	929376	0.71	Hexatriacontano

A. Cromatogramas y tablas de productos de bio-líquidos de pirólisis

32.793	888809	0.68	Tetratetracontano
35.034	667354	0.51	Eicosano

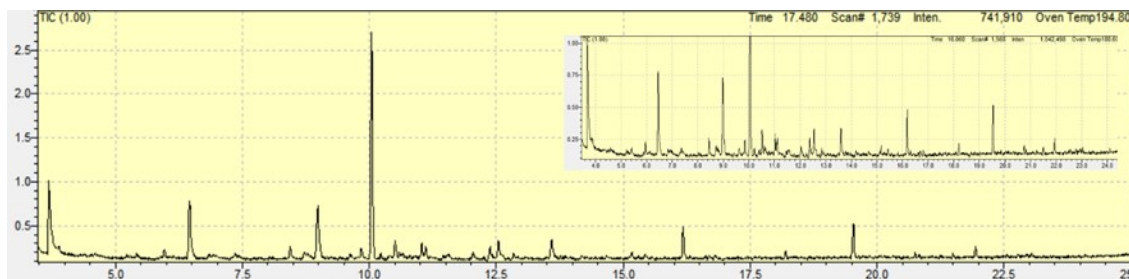


Figura A.8.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Sp** a 600 °C.

Tabla A.8.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de **Sp** a 600 °C

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
3.683	3060748	20.42	4-Amino-4-metil-2-pentanona
6.456	2031547	13.55	Fenol
8.441	283286	1.89	2-Metil-fenol
8.983	2078432	13.87	1-Metil-5-piperidinil imidazolidin-2,4-diona
10.042	5718565	38.15	2,2,6,6-Tetrametil-4-piperidinona
11.032	311129	2.08	3-Etil-fenol
12.035	168545	1.12	1,4:3,6-Dianhidro- α -d-glucopiranososa
12.543	444812	2.97	Bencenpropanonitrilo
13.594	643291	4.29	1-(Hidroximetil)-5,5-dimetil-2,4-imidazolidindiona
21.940	248351	1.66	Pentadecanonitrilo



Figura A.9.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Bb** a 300 °C.

Tabla A.9.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de **Bb** a 300 °C

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
5,57	15311	0,37	Undecano
7,42	36219	0,88	Tridecano
15,06	21473	0,52	Pentadecano
17,48	17767	0,43	Hexadecano
17,90	31648	0,77	Neofitadieno
21,13	125021	3,05	Ácido 13-docosanoico
21,39	83067	2,03	Ácido (<i>Z</i>)-9-Eicosenoico
22,37	19651	0,48	(<i>E</i>)-5-Eicoseno
23,29	96929	2,37	1-Hexadecanol
24,23	63380	1,55	18-Nonadecen-1-ol
24,28; 26,66; 26,73; 28,24	3448378	84,26	1,19-Eicosadieno e isómeros
25,40	134688	3,29	1,30-Triacontanodiol

A. Cromatogramas y tablas de productos de bio-líquidos de pirólisis

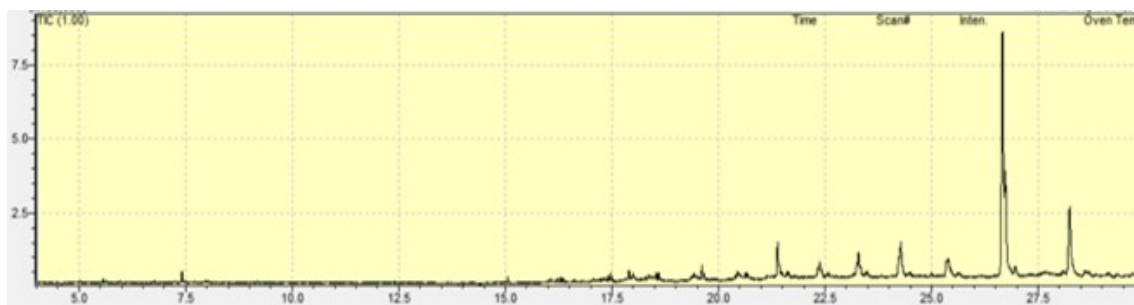


Figura A.10.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Bb** a 400 °C.

Tabla A.10.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de **Bb** a 400 °C

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
5,57	23624	0,37	Tridecano
7,41	51601	0,8	Undecano
16,06	20600	0,32	8-Heptadeceno
16,23	16266	0,25	11-Tricoseno
16,30	22625	0,35	Pentadecano
16,35	17838	0,28	3-Dodecilciclohexanona
17,41; 18,54; 20,51; 22,37	198892	3,09	(<i>E</i>)-Eicoseno e isómeros
17,48	37700	0,59	Hexadecano
17,90	50358	0,78	Neofitadieno
18,00	26571	0,41	6,10,14-Trimetil-2-pentadecanona
18,60; 19,67; 23,50	101087	1,57	2-Metiltetracosano e isómeros
19,37	28855	0,45	<i>cis</i> -9-Eicosen-1-ol
19,43; 20,45; 21,39	699352	5,42	(<i>Z</i>)-9-Octadecenal e isómeros
19,49	16549	0,26	2-Ciclohexil-dodecano
19,61	72105	1,12	Etil éster del ácido nonadecanoico
20,40	20485	0,32	18-Nonadecen-1-ol
20,63	18948	0,29	2-Metil-1-decanol
20,68; 22,58	41345	0,64	2,6,10,15-Tetrametil-heptadecano e isómeros
21,48; 22,42	64197	1	(<i>Z</i>)-9-Tricoseno e isómeros
21,65	25737	0,4	Tetratetracontano

22,33; 23,25; 24,23; 26,26; 26,73; 28,24	4371849	67,89	1,19-Eicosadieno e isómeros
23,28	165557	2,57	1-Heptadecanol
23,31	66344	1,03	1-Hexadecanol
24,28; 25,39	631154	9,8	1,30-Triacontanodiol e isómeros



Figura A.11.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Bb** a 500 °C.

Tabla A.11.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de **Bb** a 500 °C

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
4,38	15681	0,45	3-Metil-nonano
4,86	11925	0,34	2,5-Dimetil-octano
4,92; 7,42; 10,82	105097	3,02	Tridecano e isómeros
5,42	13523	0,39	1-Etil-2-heptil-ciclopropano
5,57; 9,05	133016	3,82	Undecano e isómeros
5,96	25424	0,73	2,5,5-Trimetil-heptano
7,27	21679	0,62	Octil-ciclopropano
9,18	24386	0,7	6-Etil-2-metil-decano
9,65	18778	0,54	6-Dodecino
10,70	26091	0,75	1-Trideceno
12,23; 13,65	46138	1,33	1-Tetradeceno e isómeros
12,33	13587	0,39	Pentadecano
16,06	29439	0,85	8-Heptadeceno
16,30	20843	0,6	2,6,10,15-Tetrametil-heptadecano
17,30	16344	0,47	(<i>E</i>)-3-Octadeceno

A. Cromatogramas y tablas de productos de bio-líquidos de pirólisis

17,35	14135	0,41	1,15-Pentadecanodiol
17,42; 21,49	28763	0,83	(E)-9-Eicoseno e isómeros
17,48	12153	0,35	2-Metil-5-propil-nonano
17,91	30168	0,87	Acetato de (Z,Z)-2,15-octadecediénilo
19,37	25385	0,73	Alcohol oleico
19,43	15362	0,44	Ciclododecanometanol
19,49; 20,45; 20,51; 21,43; 22,37; 22,42; 24,28	379981	10,91	1-Hexadecanol e isómeros
19,67	14620	0,42	2-Metiltetracosano
20,40; 22,33; 23,25; 24,23; 25,36; 26,67; 26,73; 28,23	2082929	59,8	1,19-Eicosadieno e isómeros
20,63	6681	0,19	1-Pentadecanol
21,38	49261	1,41	(Z,E)-2-Metil-3,13-octadecadién-1-ol
23,29; 23,33; 25,39	300916	8,64	1-Heptadecanol e isómeros

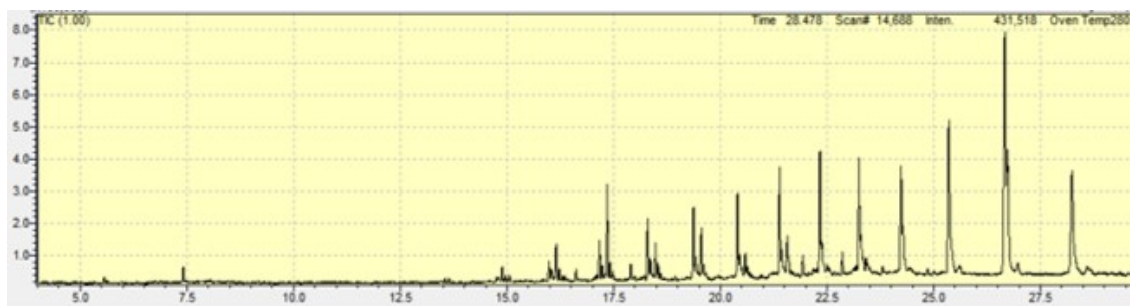


Figura A.12.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Bb** a 600 °C.

Tabla A.12.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de **Bb** a 600 °C

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
5,57; 7,42	96476	0,66	Undecano e isómeros
5,64	8887	0,06	1,2,3-Trimetil-benceno
5,96	7413	0,05	2,5,5-Trimetil-heptano

13,55	25316	0,17	1,13-Tetradecadieno
13,64; 14,97	63858	0,44	(<i>Z</i>)-3-Hexadeceno e isómeros
14,76	21356	0,15	(<i>Z</i>)-Ciclododeceno
14,79	27193	0,19	9-Octadecino
14,89	75512	0,52	(<i>Z</i>)-11-Hexadecen-1-ol
15,06	38869	0,27	Pentadecano
15,98	116645	0,8	(<i>E</i>)-7-Tetradecen-1-ol
16,05	86859	0,6	(<i>Z</i>)-14-Metil-8-hexadecen-1-ol
16,23	55018	0,38	(<i>E</i>)-3-Octadeceno
16,31; 17,48	61475	0,42	2-Metiltetracosano e isómeros
16,62	57918	0,4	4,8-Dimetil-1-nonanol
17,17	200407	1,38	(<i>Z</i>)-9-Hexadecen-1-ol
17,23; 18,23	89522	0,61	Alcohol oleico e isómeros
17,35; 18,48; 19,56; 20,59	1089108	7,51	18-Nonadecen-1-ol e isómeros
17,42; 20,63	118990	0,85	1-Heptadecanol e isómeros
17,90	77075	0,53	Neofitadieno
18,30; 20,40	812172	5,59	1,15-Hexadecadieno e isómeros
18,36; 19,43; 20,46; 21,39; 21,44; 21,57; 22,33; 23,25; 24,23; 25,35; 26,67; 26,73; 28,24	9572872	65,9	1,19-Eicosadieno e isómeros
18,54	74766	0,51	(<i>E</i>)-9-Eicoseno
19,37	435502	3	<i>cis</i> -9-Eicosen-1-ol
19,61	81355	0,56	(<i>E</i>)-3-Eicoseno
20,51	45069	0,31	Ciclododecanometanol
21,93; 22,86	234462	1,61	1,9-Ciclohexadecadieno e isómeros
22,38; 23,29; 23,42; 24,28	947658	6,53	1,30-Triacontanodiol e isómeros

A. Cromatogramas y tablas de productos de bio-líquidos de pirólisis

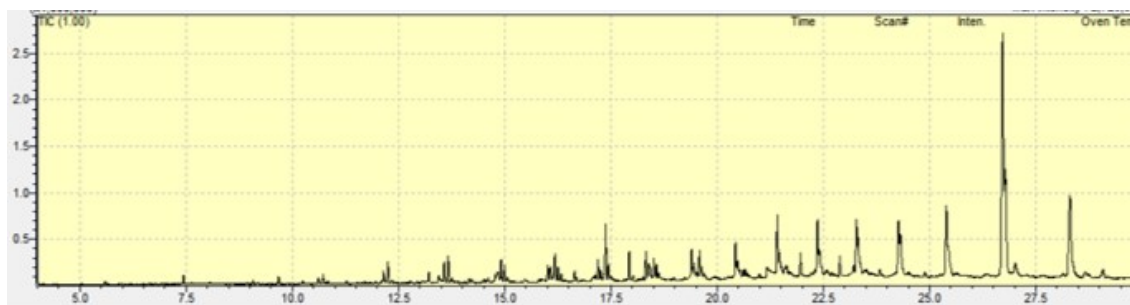


Figura A.13.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Bb** a 500 °C durante 10 minutos.

Tabla A.13.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de **Bb** a 500 °C durante 10 minutos

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
5,59; 7,44	172413	0,57	Undecano e isómeros
5,66	14538	0,05	1,2,3-Trimetil-benceno
5,98	9267	0,03	2,5,5-Trimetil-heptano
8,95	29388	0,1	1,11-Dodecadieno
9,08	62513	0,21	1-Undeceno
9,21	37730	0,12	4,6-Dimetil-undecano
9,68	131711	0,43	6-Dodecino
10,25	43111	0,14	(E,Z)-2,4-Dodecadieno
10,61	118780	0,39	(Z)-1,6-Tridecadieno
10,73; 12,25	507477	1,67	1-Trideceno e isómeros
10,80	29139	0,1	Decanal
10,85	35152	0,12	Tridecano
11,28	60120	0,2	6-Ciclodecano
11,53; 12,15; 17,19	567877	1,86	1,13-Tetradecadieno e isómeros
12,35	78814	0,26	Tetradecano
13,21	161963	0,53	1-Octil-ciclopenteno
13,45	119007	0,39	1-Pentadecino
13,58; 14,92; 16,18; 20,61	1198311	3,93	(Z)-11-Hexadecen-1-ol e isómeros
13,67	446984	1,47	(Z)-3-Hexadeceno
13,76	113099	0,37	Nonadecano
13,83	19274	0,06	Ciclopentadecano
13,90	27615	0,09	(Z)-8-Dodecen-1-ol
14,07	23214	0,08	(Z,Z)-1,5-Ciclododecadieno

14,16	62655	0,21	9-Octadecino
14,23	52484	0,17	3-Heptil-ciclohexeno
14,52; 17,26; 18,25; 18,32; 18,39; 19,46	1296125	4,26	Alcohol oleico e isómeros
14,61	44120	0,15	Ciclopentilciclohexano
14,78	54786	0,18	7-Hexadecino
14,82	183583	0,6	1-Octil-ciclohexeno
15,00	250099	0,82	1-Tetradeceno
15,08	48945	0,16	Hexadecano
15,47	50091	0,16	3-Octadecino
15,52	26955	0,09	12-Heptadecin-1-ol
16,01	277732	0,91	(<i>E</i>)-7-Tetradecen-1-ol
16,08	246658	0,81	(<i>Z</i>)-14-Metil-8-hexadecen-1-ol
16,25; 18,57; 20,66	514395	1,7	(<i>E</i>)-9-Eicoseno e isómeros
16,33	106450	0,35	2,6,10,15-Tetrametil-heptadecano
16,65	180215	0,59	4,8-Dimetil-1-nonanol
16,70	42783	0,14	(<i>E</i>)-5-Decen-1-ol
17,37	1006399	3,31	18-Nonadecen-1-ol
17,44	256173	0,84	(<i>E</i>)-3-Eicoseno
17,50; 18,63; 19,69; 20,71	258557	0,85	2-Metiltetracosano e isómeros
17,93	504691	1,66	Neofitadieno
18,02	113987	0,37	6,10,14-Trimetil-2-pentadecanona
18,51; 19,59	751210	2,47	1,15-Hexadecadieno e isómeros
19,40	460469	1,51	<i>cis</i> -9-Eicosen-1-ol
19,64; 23,32	277415	0,91	1-Heptadecanol e isómeros
20,43; 20,48; 21,42; 22,36; 23,28; 25,39; 26,72; 26,78; 28,30	16908554	55,6	1,19-Eicosadieno e isómeros
20,53; 21,47	251179	0,82	Ciclododecanometanol e isómeros
20,99	57491	0,19	9-Cicloheptadecen-1-ol
21,17	331892	1,09	Ácido (<i>Z</i>)-9-Eicosenoico
21,96; 22,89	726294	2,39	1,9-Ciclohexadecadieno e isómeros

A. Cromatogramas y tablas de productos de bio-líquidos de pirólisis

22,40; 24,27; 24,31	962568	3,16	1,30-Triacontanodiol e isómeros
23,21	110332	0,36	13-Tetradecenal

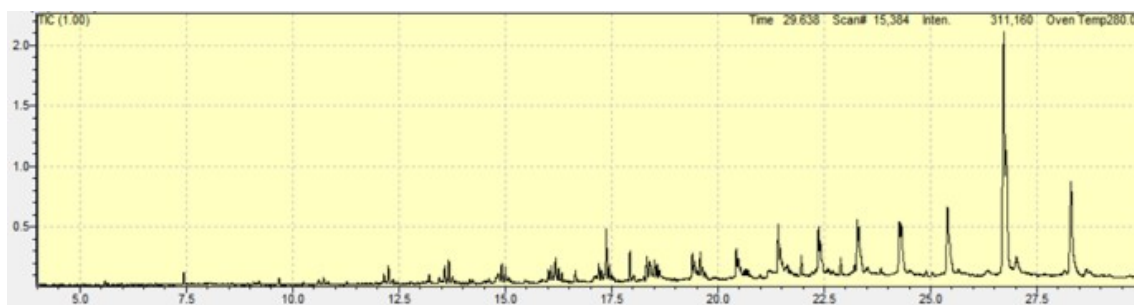


Figura A.14.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Bb** a 500 °C durante 30 minutos.

Tabla A.14.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de **Bb** a 500 °C durante 30 minutos

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
5,59; 7,44	193943	0,73	Undecano e isómeros
5,66	19807	0,07	1,2,3-Trimetil-benceno
5,99	13630	0,05	2,5,5-Trimetil-heptano
6,79	24905	0,09	5-Etil-2-metil-heptano
8,95	28637	0,11	(<i>E</i>)-Ciclododeceno
9,08	39128	0,15	1-Undeceno
9,21; 10,84	71185	0,27	Tridecano e isómeros
9,68	78205	0,29	6-Dodeceno
10,26	28833	0,11	(<i>E,Z</i>)-2,4-Dodecadieno
10,61	74759	0,28	(<i>Z</i>)-1,6-Tridecadieno
10,73; 12,25	315641	1,17	1-Trideceno e isómeros
10,80	13307	0,05	2-Undecanona
11,28	35098	0,13	(<i>Z</i>)-Ciclododeceno
12,15; 17,38; 18,51; 19,59; 20,62	1287247	4,79	1,13-Tetradecadieno e isómeros
12,36	58343	0,22	Tetradecano
12,43	20491	0,08	(<i>E</i>)-5-Tetradeceno
12,59; 15,00	204416	0,04	1-Tetradeceno e isómeros

12,77	0,76	0,06	9-Decin-1-ol
13,16	27643	0,1	Nonilciclopentano
13,22	124513	0,46	1-Heptil-ciclopenteno
13,45	74040	0,28	1-Octil-ciclohexeno
13,58	233600	0,87	1,15-Pentadecanodiol
13,67	318613	1,18	(<i>E</i>)-3-Octadeceno
13,77; 15,08	186020	0,69	Hexadecano e isómeros
13,83	26432	0,1	(<i>E</i>)-9-Octadeceno
13,90; 14,92; 16,18	545120	2,02	(<i>Z</i>)-11-Hexadecen-1-ol e isómeros
14,16	58915	0,22	7-Hexadecino
14,23	37518	0,14	1-Propil-ciclohexeno
14,61	28594	0,11	n-Nonilciclohexano
14,78	69330	0,26	(<i>Z</i>)-Ciclododeceno
14,85	177161	0,66	1-Pentadecino
16,01; 17,20; 17,26; 18,32	798468	2,97	Alcohol oleico e isómeros
16,08	211783	0,79	1-Pentadecanol
16,26; 17,44; 18,57; 19,64	557443	2,07	(<i>E</i>)-9-Eicoseno e isómeros
16,33; 17,51; 18,63; 19,69; 20,71	365663	1,36	2-Metiltetracosano e isómeros
16,65	143320	0,53	3,7,11,15-Tetrametil-2-hexadeceno
17,93	400586	1,49	Neofitadieno
18,02	89803	0,33	6,10,14-Trimetil-2-pentadecanona
18,39	376442	1,4	Pentadecanal
19,40	291321	1,08	<i>cis</i> -9-Eicosen-1-ol
19,46	169614	0,63	(<i>Z</i>)-14-Metil-8-hexadecen-1-ol
20,43; 21,42; 22,36; 23,28; 24,27; 26,72; 28,30	11316289	42,04	1,19-Eicosadieno e isómeros
20,48; 20,66	266866	1	(<i>Z</i>)-9-Octadecenal e isómeros
20,54	113058	0,42	10-Heneicoseno
21,47	232684	0,87	Ciclododecanometanol
21,96; 22,89; 23,83; 24,90	657391	2,45	1,9-Ciclohexadecadieno e isómeros

A. Cromatogramas y tablas de productos de bio-líquidos de pirólisis

22,40	277779	1,03	(Z)-9-Tricoseno
23,21	82329	0,31	(Z,E)-2-Metil-3,13-octadecadien-1-ol
23,32	374418	1,39	1-Heptadecanol
24,31	991955	3,69	1-Heneicosanol
25,40	1781207	6,62	1,30-Triacontanediol
26,78	2854768	10,62	1-Nonacoseno

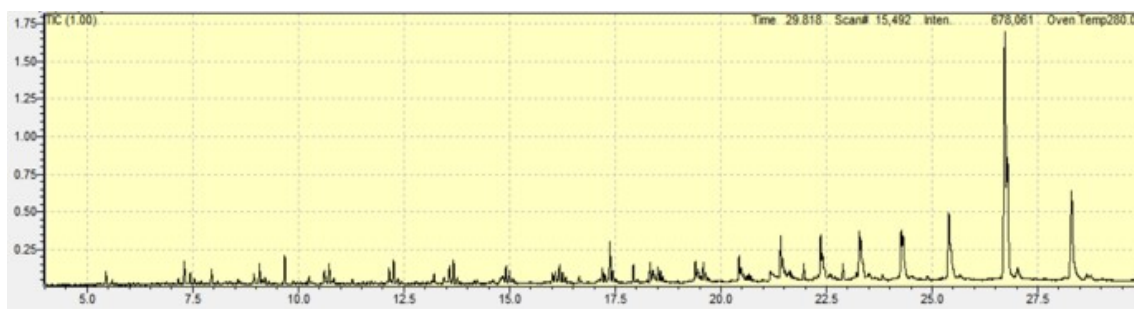


Figura A.15.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Bb** a 500 °C con 1 g de biomasa.

Tabla A.15.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de **Bb** a 500 °C con 1 g de biomasa

tr (min)	Área	% Área	Compuestos
5,31; 7,16; 9,68	342354	2,27	(Z)-1,6-Undecadieno e isómeros
5,45; 7,30	342715	2,27	1-Heptil-2-metil-ciclopropano e isómeros
5,60; 7,44; 9,21; 11,28	240973	1,59	Tridecano e isómeros
7,54; 7,70	63391	0,42	(E)-2-Undeceno e isómeros
7,63	15343	0,1	Nonanal
7,95	140592	0,93	(E)-1,4-Undecadieno
8,10; 12,15	178775	1,19	1,11-Dodecadieno e isómeros
8,57; 10,26	109379	0,72	(E,Z)-2,4-Dodecadieno e isómeros
8,95; 11,54; 13,58	301941	2	1,12-Tridecadieno e isómeros
9,08	200807	1,33	(Z)-2-Dodeceno
9,14	41082	0,27	3-Decin-2-ol
9,30	23993	0,16	(E)-4-Dodeceno
9,88	34528	0,23	(Z)-Cicloundeceno
10,61	164952	1,09	10-Undecen-1-ol

10,73; 12,25; 13,67	654398	4,33	(<i>Z</i>)-3-Tetradeceno e isómeros
10,85	45357	0,3	3,5-Dimetil-undecano
11,65	25803	0,17	1-Dodecanol
12,35; 13,76	1115373	0,77	2,6-Dimetil-heptadecano e isómeros
13,17	15909	0,11	Heneicosil-ciclopentano
13,22	85424	0,57	1-Hexil-ciclopenteno
13,45; 14,82	141928	0,94	1-Pentadecino e isómeros
14,79	19342	0,13	(<i>Z</i>)-7-Tetradecenol
14,92; 16,18; 19,46; 24,27; 24,31; 25,39; 26,72; 26,78; 28,30	7161095	47,47	1,19-Eicosadieno e isómeros
15,00	119568	0,79	2-Metil-1-undecanol
15,08	47706	0,32	3,7-Dimetil-nonano
16,01	99977	0,66	(<i>E</i>)-7-Tetradecenol
16,09	114857	0,76	1-Heptadeceno
16,26	109737	0,73	2-Metil-1-decanol
16,33; 18,63	112221	0,74	2,3,5,8-Tetrametil-decano e isómeros
16,65	71509	0,47	4,8-Dimetil-1-nonanol
17,20	149518	0,99	(<i>Z</i>)-1,6-Tridecadieno
17,26	64966	0,43	(<i>Z</i>)-10-Pentadecen-1-ol
17,38; 19,59	586446	3,89	1,15-Pentadecanodiol e isómeros
17,44	113300	0,75	(<i>E</i>)-3-Eicoseno
17,51	31991	0,21	Pentadecano
17,93	192371	1,27	Neofitadieno
18,33	205664	1,36	1,9-Tetradecadieno
18,39	140745	0,93	Pentadecanal
18,51	135665	0,9	1,13-Tetradecadieno
18,57	95143	0,63	1-Hexadeceno
19,40; 20,43; 21,42; 22,36; 23,28	1364956	9,05	18-Nonadecen-1-ol e isómeros
19,51	15132	0,1	4-Heptadecenal
19,64	75147	0,5	Ceteno
20,48	82290	0,55	(<i>E</i>)-5-Eicoseno
20,66	45192	0,3	2-Etil-1-decanol

A. Cromatogramas y tablas de productos de bio-líquidos de pirólisis

21,18	236784	1,57	Ácido (<i>Z</i>)-9-Eicosenoico
21,47	114451	0,76	(<i>E</i>)-9-Eicoseno
21,96; 22,89	298451	1,98	9,11-Dodecadien-1-ol e isómeros

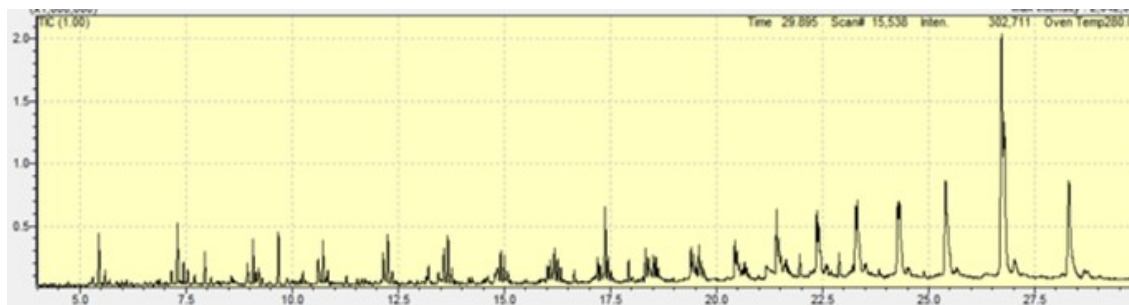


Figura A.16.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Bb** a 500 °C con 3 g de biomasa.

Tabla A.16.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de **Bb** a 500 °C con 3 g de biomasa

tr (min)	Área	% Área	Compuestos
4,72	37254	0,13	1-Butil-ciclopenteno
5,23	18649	0,06	Fenol
5,31	80094	0,27	1,9-Decadieno
5,45	585380	1,99	1-Deceno
5,59; 9,21; 10,85	504441	1,71	Tridecano e isómeros
5,70	48936	0,17	(<i>E</i>)-5-Dodeceno
5,86	47560	0,16	(<i>Z</i>)-5-Trideceno
5,99	55628	0,19	1,3-Ciclopentanodimetanol
6,10	54245	0,18	3-Propil-1,4-pentadieno
6,20	48879	0,17	4,5-Nonadieno
6,53	25305	0,09	1-Pentil-ciclopenteno
6,81; 11,97; 13,45	315734	1,07	1-Octil-ciclohexeno e isómeros
6,88	58527	0,2	10-Undecen-1-ol
7,03	37595	0,13	2-Metil-fenol
7,16	145423	0,49	1,10-Undecadieno
7,3; 9,08	1278009	4,34	1-Undeceno e isómeros
7,44	254994	0,86	Undecano

7,54	171864	0,58	(<i>E</i>)-2-Undeceno
7,71	112540	0,38	(<i>Z</i>)-6-Dodeceno
7,84	34785	0,12	Ciclohexanoetanol
7,94	418428	1,42	(<i>E</i>)-1,4-Undecadieno
8,09; 8,95; 12,15	655047	2,22	1,11-Dodecadieno e isómeros
8,23	33676	0,11	Ciclopentilciclohexano
8,57; 10,05; 10,19; 10,26	354083	1,21	(<i>E,Z</i>)-2,4-Dodecadieno e isómeros
8,62	41735	0,14	1-Pentil-ciclohexeno
9,14	104341	0,35	2-Decanono
9,30	60638	0,21	(<i>E</i>)-2-Dodeceno
9,68	622614	2,11	6-Dodecino
9,88	125895	0,43	(<i>Z</i>)-8-Dodecen-1-ol
9,98	62270	0,21	2,7-Dimetil-1,7-octadieno
10,12	49341	0,17	1-Heptil-ciclopenteno
10,61	368818	1,25	(<i>Z</i>)-1,6-Tridecadieno
10,73	504904	1,71	(<i>Z</i>)-3-Tetradeceno
10,80	48565	0,16	2-Tridecanona
11,29	106549	0,36	6-Trideceno
11,54; 17,38; 18,51; 20,61	1292942	4,39	1,13-Tetradecadieno e isómeros
11,64	64282	0,22	1-Pentadecanol
11,72	54433	0,18	1-Octil-ciclopenteno
12,25	597145	2,03	1-Trideceno
12,36	156747	0,53	Tetradecano
13,16	42997	0,15	Nonilciclopentano
13,22	206086	0,7	1-Hexil-ciclopenteno
13,58; 19,40; 19,59; 20,43	826199	6,17	(<i>Z</i>)-11-Hexadecen-1-ol e isómeros
13,67; 15,00	517837	1,76	(<i>Z</i>)-3-Hexadeceno e isómeros
13,76; 16,33; 17,51; 18,63	561728	1,91	Pentadecano e isómeros
13,83	41310	0,14	Ciclododecano
14,16	70293	0,24	7-Hexadecino
14,23	76683	0,26	1-Propil-ciclohexeno
14,52	37713	0,13	4-Ciclohexil-1-butanol
14,57	22584	0,08	1,11-Undecanodiol

A. Cromatogramas y tablas de productos de bio-líquidos de pirólisis

14,61	67437	0,23	n-Nonilciclohexano
14,78	46779	0,16	(Z)-Ciclododeceno
14,85	224431	0,76	3-Nonil-ciclohexeno
14,92; 16,18	857016	2,91	1,15-Pentadecanodiol e isómeros
15,08	119540	0,41	Hexadecano
15,47	28409	0,1	(Z)-5-Decen-1-ol
15,81	35742	0,12	cis-11-Tetradecen-1-ol
16,01	226364	0,77	(E)-7-Tetradecen-1-ol
16,08	266422	0,9	(Z)-10-Pentadecenol
16,26	276016	0,94	(E)-3-Octadeceno
16,65	165928	0,56	4,8-Dimetil-1-nonanol
17,20	301569	1,02	(Z)-9-Hexadecen-1-ol
17,26	180561	0,61	(Z)-10-Pentadecen-1-ol
17,45	256235	0,87	(E)-3-Eicoseno
17,93	274423	0,93	Neofitadieno
18,32	409320	1,39	18-Nonadecen-1-ol
18,39	206163	0,7	Pentadecanal
18,57	209655	0,71	Ciclotetracosano
19,46; 21,42; 22,36; 23,28; 24,27; 24,31; 26,72; 28,30	7367781	24,95	1,19-Eicosadieno e isómeros
19,52	69414	0,24	(E)-5-Eicoseno
19,64	175619	0,6	Tridecanol
19,69	80162	0,27	2,6,10,15-Tetrametil-heptadecano
20,48; 20,66	331428	1,13	(E)-9-Eicoseno e isómeros
21,47; 21,52	318589	1,08	(Z)-9-Octadecenal e isómeros
21,96; 22,89	555212	1,88	1,9-Ciclohexadecadieno e isómeros
22,41	245621	0,83	Ciclododecanometanol
25,40; 26,78	3151453	10,69	1,30-Triacontanodiol e isómeros

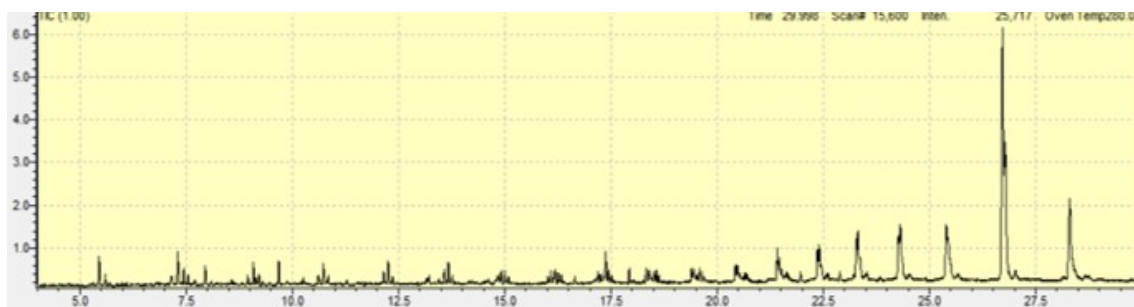


Figura A.17.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Bb** a 500 °C con 5 g de biomasa.

Tabla A.17.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de **Bb** a 500 °C con 5 g de biomasa

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
5,45	97169	1,43	1-Deceno
5,60	43728	0,64	Decano
7,15	39073	0,57	1,6-Hexanodiol
7,30	115076	1,69	1-Heptil-2-metil-ciclopropano
7,45; 9,21; 10,85; 12,36	147005	2,15	Tridecano e isómeros
7,54	31093	0,46	(<i>E</i>)-2-Undeceno
7,71	22874	0,34	(<i>Z</i>)-2-Undeceno
7,95	77008	1,13	(<i>E</i>)-1,4-Undecadieno
8,09	12159	0,18	(<i>E</i>)-12-Tetradecenal
8,95; 12,15; 13,58; 17,20; 19,58	183899	2,7	1,12-Tridecadieno e isómeros
9,08; 10,73; 13,67	233769	3,43	(<i>Z</i>)-2-Trideceno e isómeros
9,15	29653	0,44	3-Decin-2-ol
9,30	9868	0,14	(<i>E</i>)-5-Dodeceno
9,68	84565	1,24	(<i>Z</i>)-1,6-Undecadieno
10,26	21265	0,31	(<i>E,Z</i>)-2,4-Dodecadieno
10,62; 18,33	97210	1,43	(<i>Z</i>)-1,9-Tetradecadieno e isómeros
11,28	22883	0,34	Cicloocteno
12,26; 18,57	114857	1,69	(<i>Z</i>)-3-Tetradeceno e isómeros
13,22	34832	0,51	1-Octil-ciclopenteno
13,45	11420	0,17	1-Dodecino

A. Cromatogramas y tablas de productos de bio-líquidos de pirólisis

13,76	32388	0,48	Dodecano
14,85	57193	0,84	1-Tetradecino
14,92; 16,18; 19,46; 20,48	163845	2,41	(<i>E</i>)-2-Octadecadecen-1-ol e isómeros
15,00; 16,26; 17,44	110369	1,62	1-Hexadeceno e isómeros
15,09; 16,33	59854	0,88	2,6,10,14-Tetrametil-heptadecano e isómeros
16,01	23322	0,34	(<i>E</i>)-1,6-Undecadieno
16,08	41858	0,61	(<i>Z</i>)-4-Trideceno
16,65	22734	0,33	5-Metil-1-undeceno
17,26; 18,39; 19,40	118198	1,74	(<i>Z</i>)-10-Pentadecen-1-ol e isómeros
17,38	109220	1,6	(<i>E,Z</i>)-2,13-Octadecadien-1-ol
17,51; 18,63; 19,69	59759	0,88	2,3,5,8-Tetrametil-decano e isómeros
17,93	53850	0,79	1-Octadecino
18,51	31001	0,46	1,11-Dodecadieno
19,52	9274	0,14	(<i>E</i>)-2-Tridecenal
19,64; 23,32; 23,35	157511	2,32	1-Tetracosanol e isómeros
20,43; 21,42; 22,36; 23,28; 24,27; 25,40; 26,72; 28,30	2981290	43,68	18-Nonadecen-1-ol e isómeros
20,54	6301	0,09	(<i>E</i>)-9-Octadeceno
20,66	18652	0,27	2-Metil-1-undecanol
20,71	10421	0,15	2-Metiltetracosano
21,47; 22,41; 22,45	161816	2,38	1-Nonadecanol e isómeros
21,52	17729	0,26	<i>cis</i> -2-Metil-7-octadeceno
21,96	36735	0,54	9,11-Dodecadien-1-ol
22,89	26683	0,39	(<i>Z</i>)-1,6,11-Dodecatrieno
24,31; 25,41	307475	4,51	11-Tridecen-1-ol e isómeros
26,79	766013	11,24	1,19-Eicosadieno



Figura A.18.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Bb** a 300 °C con el catalizador tipo mesoporoso

Tabla A.18.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida catalítica de **Bb** a 300 °C con el catalizador tipo mesoporoso

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
7,62	22412	1,29	Nonanal
12,25; 13,67	27756	0,54	1-Hexadeceno e isómeros
12,35; 13,76	27419	1,57	Tridecano e isómeros
14,91	18938	1,09	(<i>E</i>)-2-Octadecadecen-1-ol
16,00	16056	0,92	1,12-Tridecadieno
16,07	23783	1,37	8-Heptadeceno
16,18	13151	0,76	1,11-Dodecadieno
17,37	52311	3	1,15-Pentadecanodiol
17,92	27628	1,59	Neofitadieno
18,32; 19,58; 21,40; 22,35	86600	4,97	18-Nonadecen-1-ol e isómeros
18,37	38656	2,22	Tetradecanal
18,50	14553	0,84	1,13-Tetradecadieno
19,39; 20,46	49839	2,86	(<i>Z</i>)-10-Pentadecenol e isómeros
19,45; 25,38	169331	9,73	(<i>E</i>)-5-Eicoseno e isómeros
20,77	33025	1,9	2-Hexil-tetrahidrofurano
21,45	30389	1,75	(<i>E</i>)-9-Octadeceno
21,95	38405	2,21	(<i>Z</i>)-13-Octadecenal
22,39	44296	2,54	(<i>E</i>)-9-Eicoseno
22,44	14743	0,85	9-Nonadeceno
23,30; 24,29	256549	14,74	1-Hexadecanol e isómeros
26,69; 26,75; 28,27	665342	38,19	1,19-Eicosadieno e isómeros

A. Cromatogramas y tablas de productos de bio-líquidos de pirólisis



Figura A.19.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Bb** a 400 °C con el catalizador tipo mesoporoso

Tabla A.19.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida catalítica de **Bb** a 400 °C con el catalizador tipo mesoporoso

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
5,65	19449	0,58	1,2,4-Trimetil-benceno
12,14	13185	0,39	(E,Z)-2,13-Octadecadien-1-ol
12,24	26326	0,78	(Z)-3-Tetradeceno
12,34	12462	0,37	Tetradecano
13,20	14042	0,42	1-Octil-ciclopenteno
13,57; 14,91; 16,17; 18,50	174779	5,2	1,15-Pentadecanodiol e isómeros
13,66	45027	1,34	1-Trideceno
13,75	24096	0,72	Pentadecano
14,99	35543	1,06	Cetena
15,07	21542	0,64	2,6-Dimetil-heptadecano
16,01; 17,19	51040	1,52	(Z)-9-Hexadecen-1-ol e isómeros
16,07	30389	0,91	(Z)-7-Hexadeceno
16,24	27766	0,83	1-Heptadeceno
16,31	27975	0,83	Nonadecano
16,64	15194	0,45	4,8-Dimetil-1-nonanol
17,25	22840	0,68	(Z)-10-Pentadecen-1-ol
17,37; 18,31; 19,57; 20,42; 22,35	347853	10,38	18-Nonadecen-1-ol e isómeros
17,43	29343	0,87	10-Heneicoseno
17,92	34845	1,04	Neofitadieno
18,37	92295	2,75	(Z)-14-Metil-8-hexadecen-1-ol
18,55	32082	0,96	n-Tridecan-1-ol
19,39	64070	1,91	cis-9-Eicosen-1-ol

19,45; 21,45	126386	3,77	1-Hexadecanol e isómeros
20,46	71606	2,13	<i>cis</i> -9,10-Epoxioctadecan-1-ol
20,52	19680	0,59	(<i>E</i>)-3-Eicoseno
21,40; 23,26; 24,25; 25,37; 26,69; 26,76; 28,26	1507659	44,9	1,19-Eicosadieno e isómeros
21,50	22149	0,66	1-Docosanol
21,95; 22,87	68947	2,05	1,9-Ciclohexadecadieno e isómeros
22,39; 23,30; 24,29	377787	11,26	(<i>E</i>)-5-Eicoseno e isómeros

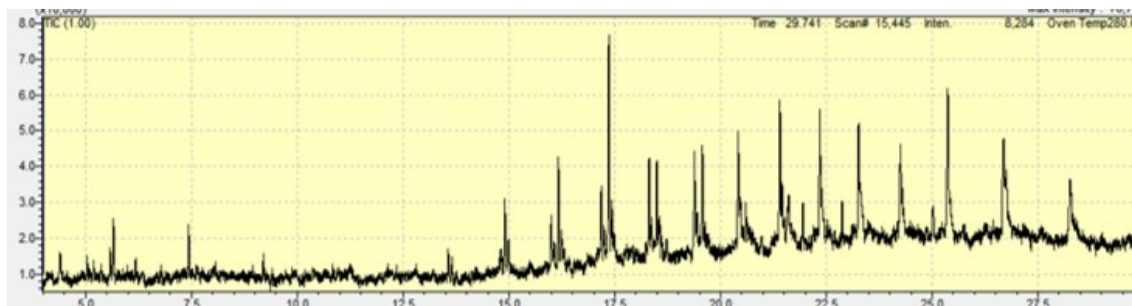


Figura A.20.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Bb** a 500 °C con el catalizador tipo mesoporoso

Tabla A.20.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida catalítica de **Bb** a 500 °C con el catalizador tipo zeolítico

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
5,58	12552	0,87	Tridecano
5,66	37302	2,57	1,2,3-Trimetil-benceno
7,43	22157	1,53	Undecano
13,57	18557	1,28	(<i>Z</i>)-11-Hexadecen-1-ol
13,66	11457	0,79	Cetena
14,91	39581	2,73	1,12-Tridecadieno
14,99	15526	1,07	1-Hexadeceno
16,00	26709	1,84	Alcohol oleico
16,06; 18,37	33410	2,3	(<i>Z</i>)-14-Metil-8-hexadecen-1-ol e isómeros
16,17	56649	3,91	1,15-Pentadecanodiol
16,25	14893	1,03	(<i>Z</i>)-3-Hexadeceno

A. Cromatogramas y tablas de productos de bio-líquidos de pirólisis

17,19	39075	2,7	1,9-Tetradecadieno
17,36; 18,50; 19,57; 20,42	250633	17,3	18-Nonadecen-1-ol e isómeros
17,43	21321	1,47	(<i>E</i>)-3-Eicoseno
18,31; 20,46	71464	4,93	(<i>E</i>)-9-Octadecen-1-ol e isómeros
19,39	57907	4	<i>cis</i> -9-Eicosen-1-ol
19,45; 20,60	35670	2,46	(<i>Z</i>)-11-Hexadecen-1-ol e isómeros
21,40; 22,35; 23,26; 24,25; 25,37; 26,69; 26,75; 28,26	573002	39,55	1,19-Eicosadieno e isómeros
21,45	20127	1,39	(<i>Z</i>)-9-Octadecenal
21,95; 22,87	46070	3,18	1,9-Ciclohexadecadieno e isómeros
22,39	44885	3,1	(<i>Z</i>)-9-Tricoseno



Figura A.21.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Bb** a 300 °C con el catalizador tipo pirocloro

Tabla A.21.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida catalítica de **Bb** a 300 °C con el catalizador tipo pirocloro

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
5,65	16778	1,15	1,2,4-Trimetil-benceno
16,07	20544	1,41	8-Heptadeceno
17,36	29833	2,04	1,15-Pentadecanodiol
17,92	28830	1,97	Neofitadieno
18,40	21483	1,47	Pentadecanal
20,46	18434	1,26	10-Heneicoseno
21,40; 21,94	60458	4,14	(<i>Z</i>)-13-Octadecenal e isómeros
21,44	20896	1,43	1-Heptadecanol

22,39	18084	1,24	(<i>Z</i>)-9-Tricoseno
23,30	91745	6,28	(<i>E</i>)-5-Eicoseno
24,25; 26,68; 26,75; 28,26	909103	62,17	1,19-Eicosadieno e isómeros
24,29	53631	3,67	1-Hexadecanol
25,41	97871	6,69	1,30-Triacontanediol

A. Cromatogramas y tablas de productos de bio-líquidos de pirólisis

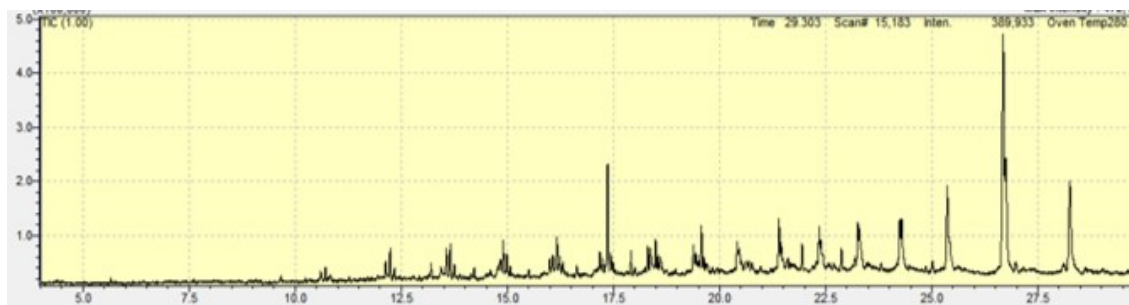


Figura A.22.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Bb** a 400 °C con el catalizador tipo pirocloro

Tabla A.22.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida catalítica de **Bb** a 400 °C con el catalizador tipo pirocloro

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
5,65	22653	0,3	1,2,3-Trimetil-benceno
9,66	17235	0,23	6-Dodecino
10,24	9664	0,13	(E,Z)-2,4-Dodecadieno
10,60	36728	0,49	(E)-9-Tetradecen-1-ol
10,71	37797	0,51	1-Undeceno
10,83	22778	0,31	2-Metil-5-propil-nonano
12,14	55728	0,75	1,12-Tridecadieno
12,24; 13,66	204656	2,76	1-Trideceno e isómeros
12,34; 13,75	84624	1,14	2-Metil-4-heptanona e isómeros
13,20	48218	0,65	1-Heptil-ciclopenteno
13,44	44110	0,59	1-Pentadecino
13,56; 17,36; 18,31; 19,57	652467	8,78	18-Nonadecen-1-ol e isómeros
14,83	59436	0,8	1-Nonil-ciclohexeno
14,90; 16,17	208279	2,81	1,15-Pentadecanodiol e isómeros
14,99	63542	0,86	1-Tetradeceno
15,07	25598	0,34	2-Metil-nonadecano
15,50	29851	0,4	1-Decil-ciclohexeno
16,00; 17,18; 18,37	232326	3,13	Alcohol oleico e isómeros
16,07	47107	0,63	1-Heptadeceno
16,24	56445	0,76	8-Heptadeceno
16,31; 17,49	66074	0,89	2-Metiltetracosano e isómeros
16,63	35544	0,48	4,8-Dimetil-1-nonanol

17,24; 19,38	149797	2,02	<i>cis</i> -9-Eicosen-1-ol e isómeros
17,43	59439	0,8	(<i>E</i>)-3-Eicoseno
17,91	79399	1,07	Neofitadieno
18,49; 21,40; 21,45; 22,35; 23,26; 24,24; 25,36; 26,68; 26,74; 28,25	3897159	52,46	1,19-Eicosadieno e isómeros
18,55	41362	0,56	(<i>E</i>)-9-Octadeceno
19,44	50519	0,68	Decil-oxirano
20,41	90647	1,22	(<i>Z</i>)-11-Hexadecen-1-ol
20,46	103529	1,39	(<i>Z</i>)-9-Octadecenal
20,52	29349	0,4	Tetradecil-oxirano
20,60	25946	0,35	1,13-Tetradecadieno
21,94; 22,87	165690	2,23	1,9-Ciclohexadecadieno e isómeros
22,39	103984	1,4	(<i>E</i>)-5-Eicoseno
22,43	52195	0,7	(<i>Z</i>)-9-Tricoseno
23,20	35147	0,47	Acetato de (<i>Z,Z</i>)-4,16-octadecadien-1-ol
23,30	224911	3,03	1-Heptadecanol
24,29	258133	3,48	1,30-Triacontanodiol

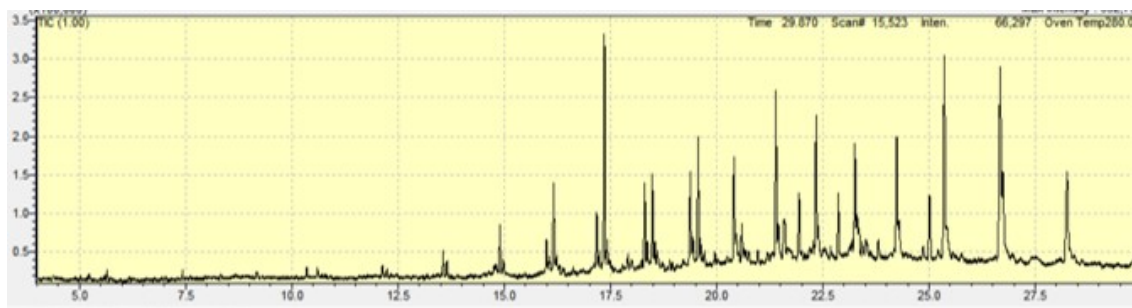


Figura A.23.: Perfil cromatográfico del bio-líquido obtenido en la pirólisis rápida de **Bb** a 500 °C con el catalizador tipo pirocloro

Tabla A.23.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida catalítica de **Bb** a 500 °C con el catalizador tipo pirocloro

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
5,65	25619	0,35	1,2,3-Trimetil-benceno
7,42	17250	0,23	Undecano

A. Cromatogramas y tablas de productos de bio-líquidos de pirólisis

10,35	20025	0,27	(<i>Z</i>)-2-Decenal
10,60	19253	0,26	trans-2-Dodecen-1-ol
12,13	23446	0,32	1,11-Dodecadieno
12,24; 13,65	55327	0,75	(<i>Z</i>)-3-Tetradeceno e isómeros
13,56	50963	0,69	(<i>Z</i>)-11-Hexadecen-1-ol
14,90; 16,16; 19,44; 20,59	445543	6,07	1,13-Tetradecadieno e isómeros
14,99	30922	0,42	1-Heptadeceno
15,99; 18,37	131689	1,8	Alcohol oleico e isómeros
16,06	29513	0,4	(<i>Z</i>)-14-Metil-8-hexadecen-1-ol
17,17	129048	1,76	(<i>Z</i>)-9-Hexadecen-1-ol
17,24	34328	0,47	(<i>E</i>)-7-Tetradecen-1-ol
17,36; 18,49; 20,46	766150	10,44	18-Nonadecen-1-ol e isómeros
17,43; 18,55	99919	0,68	1-Heptadecanol e isómeros
18,30	203155	2,77	(<i>E</i>)-9-Octadecen-1-ol
18,61	33411	0,46	Isofitol
19,38	246786	3,36	<i>cis</i> -9-Eicosen-1-ol
19,56; 20,41; 21,40; 21,45; 21,58; 22,34; 23,25; 24,24; 25,36; 26,67; 26,74; 28,25	4040323	55,04	1,19-Eicosadieno e isómeros
19,62	46609	0,63	Etil ester del ácido 9-octadecenoico
21,94; 22,86	300253	4,09	1,9-Ciclohexadecadieno e isómeros
22,39; 24,29	199643	1,23	(<i>E</i>)-5-Eicoseno e isómeros
23,30	127722	1,74	1-Eteniloxi-hexadecano
23,35	66752	0,91	Z-11-Pentadecenal

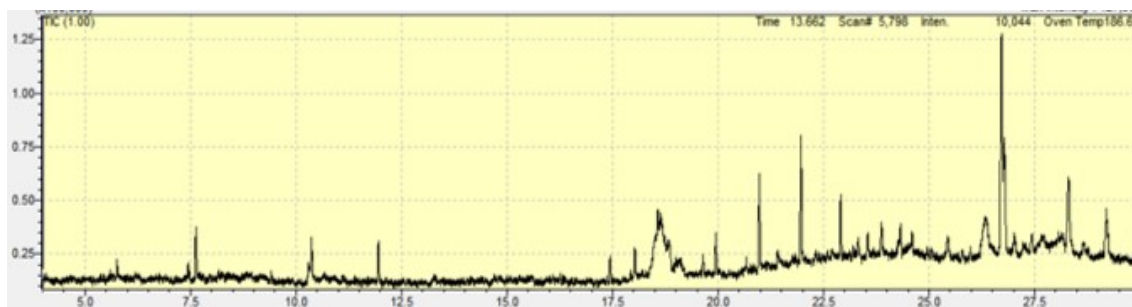


Figura A.24.: Perfil cromatográfico del líquido obtenido en la extracción con solventes de **Bb**. Condiciones: Hexano - 10 mL - 5 min

Tabla A.24.: Principales productos obtenidos en la extracción con solventes de **Bb**. Condiciones: Hexano - 10 mL - 5 min

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
5,76	14714	0,81	Octanal
7,45	10374	0,57	Undecano
7,63	43629	2,4	Nonanal
10,37	40176	2,21	(<i>Z</i>)-2-Decenal
11,95	33957	1,87	(<i>E</i>)-2-Dodecenal
17,44	21904	1,2	(<i>E</i>)-9-Octadeceno
18,03	24740	1,36	6,10,14-Trimetil-2-pentadecanona
18,57; 18,83; 20,98; 21,96; 22,90; 23,87; 29,20	804895	44,24	(<i>Z</i>)-13-Octadecenal e isómeros
19,95; 26,33	200036	11	<i>cis</i> -9,10-Epoxioctadecan-1-ol e isómeros
24,32; 26,72; 26,79	505630	27,79	1,19-Eicosadieno e isómeros
28,30	119091	6,55	18-Nonadecen-1-ol

A. Cromatogramas y tablas de productos de bio-líquidos de pirólisis

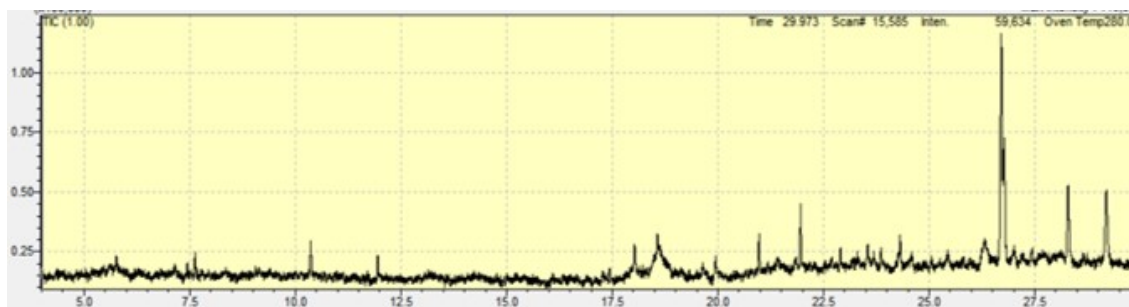


Figura A.25.: Perfil cromatográfico del líquido obtenido en la extracción con solventes de **Bb**. Condiciones: Hexano - 20 mL - 5 min

Tabla A.25.: Principales productos obtenidos en la extracción con solventes de **Bb**. Condiciones: Hexano - 20 mL - 5 min

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
7,63	18155	1,9	Nonanal
10,37	28584	2,99	(<i>Z</i>)-2-Decenal
11,95	13474	1,41	(<i>E</i>)-2-Undecenal
18,03	18090	1,89	6,10,14-Trimetil-2-pentadecanona
20,97	27716	2,9	2-Metil-(<i>Z,Z</i>)-3,13-octadecadienol
21,96; 22,90; 23,86	71362	7,47	9-Octadecenal e isómeros
24,31; 26,71	335234	35,06	18-Nonadecen-1-ol e isómeros
26,31	116940	12,23	<i>cis</i> -9,10-Epoxioctadecan-1-ol
26,77; 28,29	223028	23,32	1,19-Eicosadieno e isómeros
29,19	103501	10,83	(<i>Z</i>)-13-Octadecenal



Figura A.26.: Perfil cromatográfico del líquido obtenido en la extracción con solventes de **Bb**. Condiciones: Hexano - 10 mL - 10 min

Tabla A.26.: Principales productos obtenidos en la extracción con solventes de **Bb**. Condiciones: Hexano - 10 mL - 10 min

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
7,44	8551	2,49	Tridecano
7,63	31161	9,07	Nonanal
10,37	22522	6,55	(<i>Z</i>)-2-Decenal
11,95	24496	7,13	(<i>E</i>)-2-Undecenal
19,94; 20,97; 21,96; 22,91	117468	34,19	9-Octadecenal e isómeros
26,71; 26,77	103570	30,14	18-Nonadecen-1-ol e isómeros
28,28	35831	10,43	1,15-Pentadecanodiol

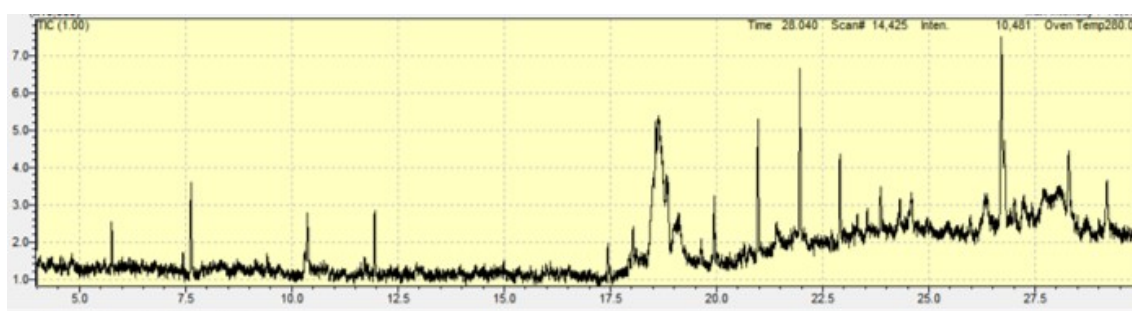


Figura A.27.: Perfil cromatográfico del líquido obtenido en la extracción con solventes de **Bb**. Condiciones: Hexano - 10 mL - 15 min

Tabla A.27.: Principales productos obtenidos en la extracción con solventes de **Bb**. Condiciones: Hexano - 10 mL - 15 min

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
5,76	18692	1,22	Octanal
7,63	46042	3,01	Nonanal
10,37	37846	2,48	(<i>Z</i>)-2-Decenal
11,95	27797	1,82	(<i>E</i>)-2-Undecenal
17,45	21232	1,39	(<i>E</i>)-15-Heptadecenal
18,03	20951	1,37	4-Metil-ciclopentadecanona
18,65; 20,98; 21,96; 24,59; 29,19	985708	64,47	(<i>Z</i>)-13-Octadecenal e isómeros
19,94	29435	1,93	9-Octadecenal
22,90	51095	3,34	2-Metil-(<i>Z,Z</i>)-3,13-octadecadienol
23,86	24068	1,57	(<i>Z</i>)-10-Pentadecen-1-ol

A. Cromatogramas y tablas de productos de bio-líquidos de pirólisis

26,71; 26,78; 28,29	266166	17,4	1,19-Eicosadieno
------------------------	--------	------	------------------



Figura A.28.: Perfil cromatográfico del líquido obtenido en la extracción con solventes de **Bb**. Condiciones: Acetato de etilo - 10 mL - 10 min

Tabla A.28.: Principales productos obtenidos en la extracción con solventes de **Bb**. Condiciones: Acetato de etilo - 10 mL - 10 min

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
5,76	11276	3,61	Octanal
7,63	40291	12,89	Nonanal
9,41	12200	3,9	Decanal
10,36	52069	16,66	(Z)-2-Decenal
11,95	29668	9,49	2-Undecenal
21,96	27656	8,85	9-Octadecenal
26,70; 26,78; 28,28	139444	44,6	18-Nonadecen-1-ol e isómeros

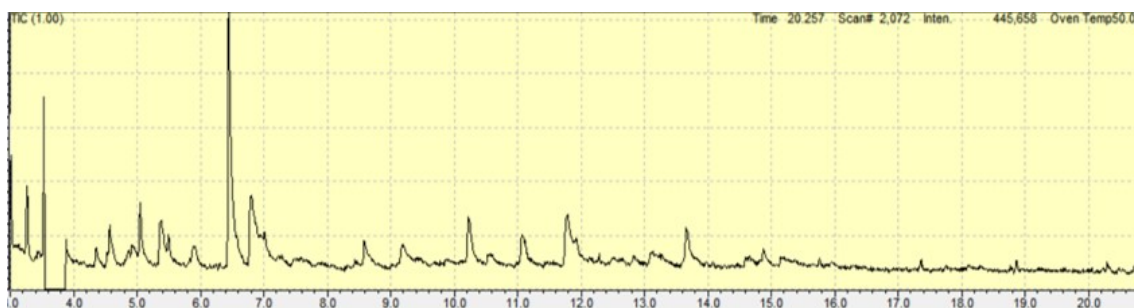


Figura A.29.: Perfil cromatográfico del líquido obtenido en la pirólisis rápida de CG a 350 °C

Tabla A.29.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de **CG** a 350 °C

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
3,27	561162	3,75	1,3-Dimetil benceno
3,53	733955	4,90	Butirolactona
4,36	213758	1,43	3-Metil-2-ciclopentenona
4,57	451361	3,01	Fenol
5,05	464383	3,10	Acetato de 3-metil-2-butanol
5,38	1052304	7,02	2-Hidroxi-3-metil-2-ciclopentenona
5,50	202675	1,35	2,3-dimetil-2-ciclopentenona
6,45	4629529	30,90	2-Metoxi fenol
6,81	2116724	14,13	Ciclopropil carbinol
8,59	346377	2,31	2-Metoxi-4-metil fenol
10,23	882373	5,89	4-Etil-2-metoxi fenol
11,79	2242804	14,97	2,6-dimetoxi fenol
13,66	1084886	7,24	<i>trans</i> -Isoeugenol

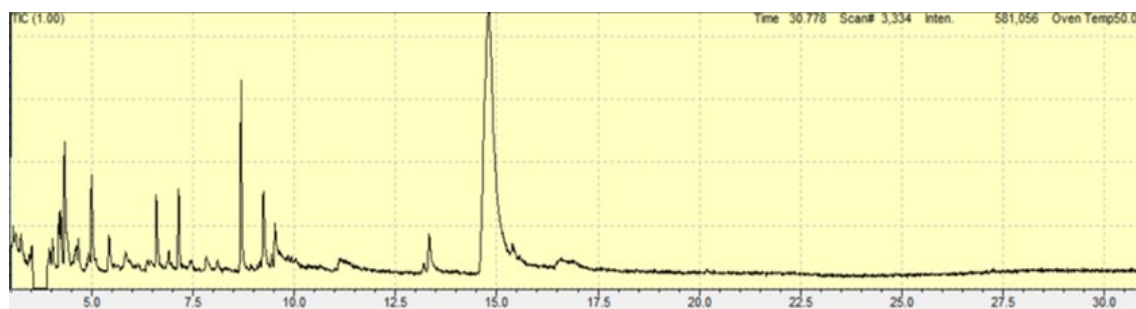


Figura A.30.: Perfil cromatográfico del líquido obtenido en la pirólisis rápida de PK a 350 °C

Tabla A.30.: Principales compuestos identificados en el bio-líquido obtenido de la pirólisis rápida de **PK** a 350 °C

tr (min)	Área	% Área	Compuesto
4,19	842719	1,59	3,3-Dimetil-2-butanona
4,23	914036	1,72	1-acetoxi-2-butanona
4,33	2085386	3,93	5-Metil-2-furancarboxialdehído
5,00	1653289	3,12	3-Metil-2,4-imidazolidindiona
5,42	731949	1,38	3-Metil-1,2-ciclopentanodiona
7,14	1480274	2,79	Levogluosenona
7,83	528276	1,00	2,3-Dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4-piranona

A. Cromatogramas y tablas de productos de bio-líquidos de pirólisis

8,68	4027932	7,60	4-Metil-2-oxopentanitrilo
9,23	1774852	3,35	1,4:3,6-Dianhidro- α -d-glucopiranososa
9,53	1376147	2,60	3,4-Anhidro-d-galactosan
13,33	1144342	2,16	1,6-Anhidro-2,3-O-isopropiliden- β -d-manopiranososa
14,80	36440492	68,76	1,6-Anhidro- β -d-glucopiranososa (levoglucosan)

Apéndice B

Curvas de calibración de experimentos de adsorción y purificación

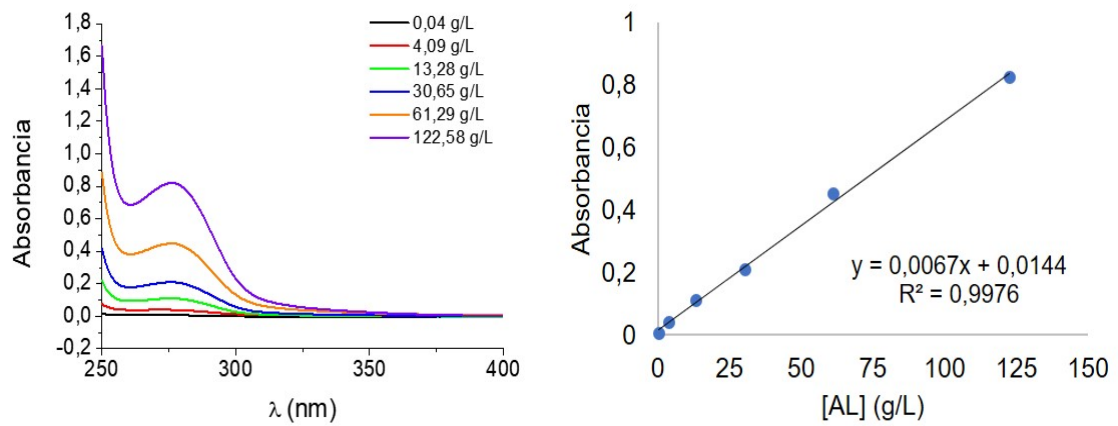


Figura B.1.: Curva de calibración de AL

B. Curvas de calibración de experimentos de adsorción y purificación

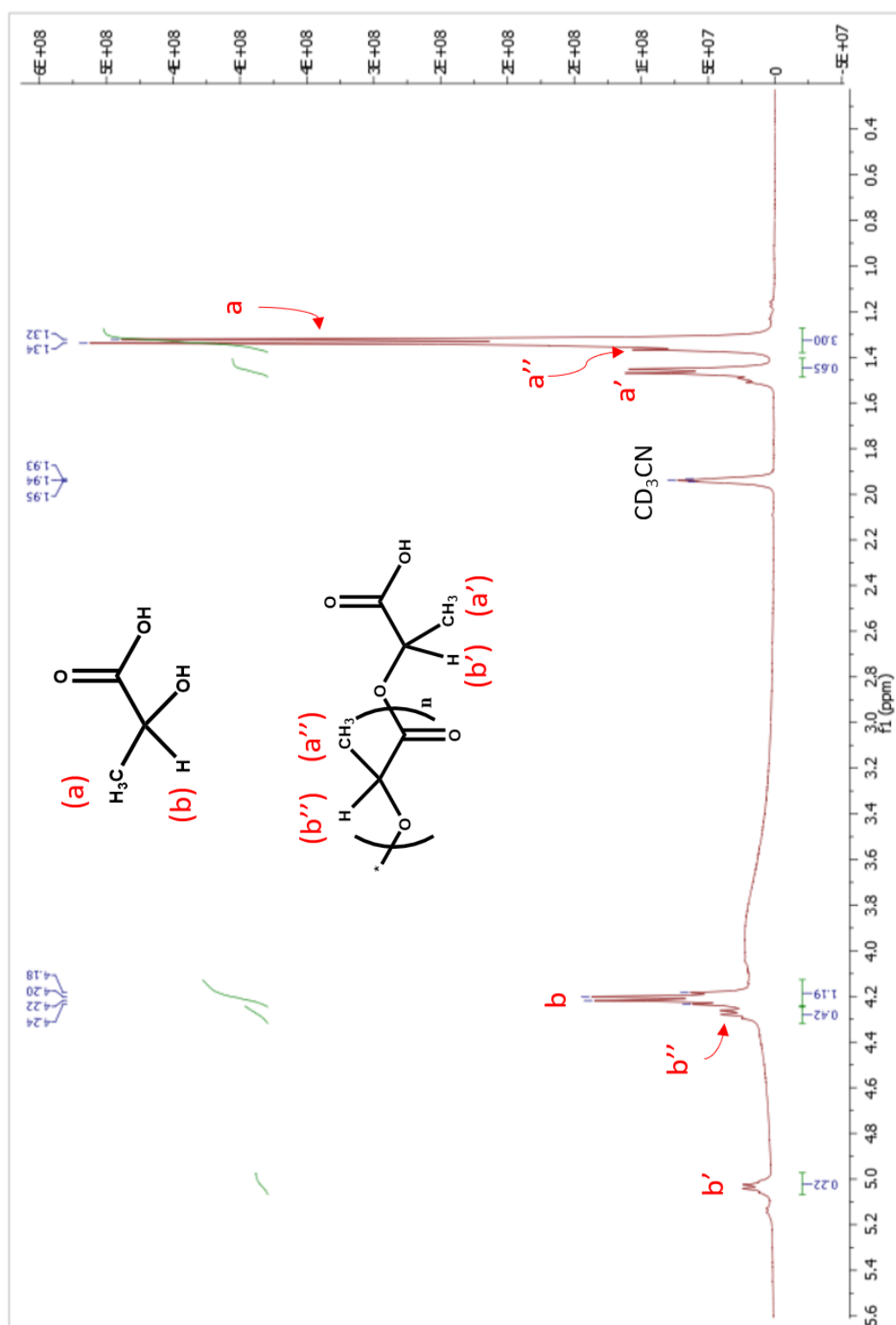


Figura B.2.: Espectro de RMN del AL utilizado en los experimentos de adsorción.

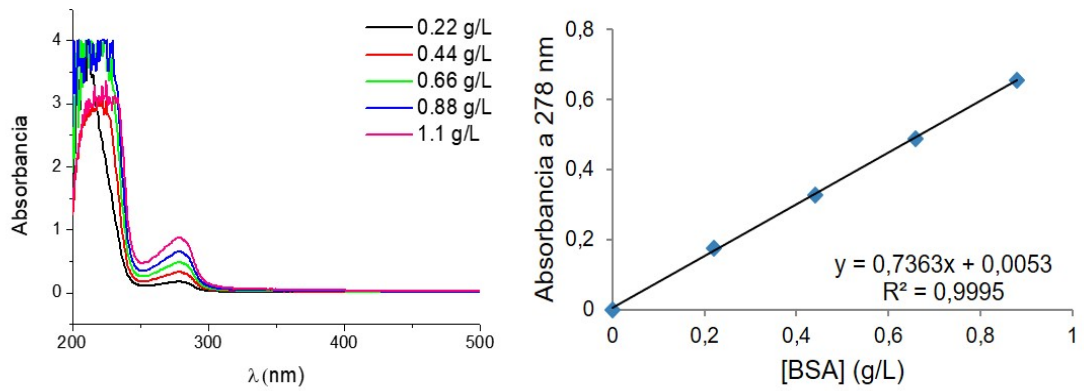


Figura B.3.: Curva de calibración de BSA a pH=7,4 para **BC-Sp**

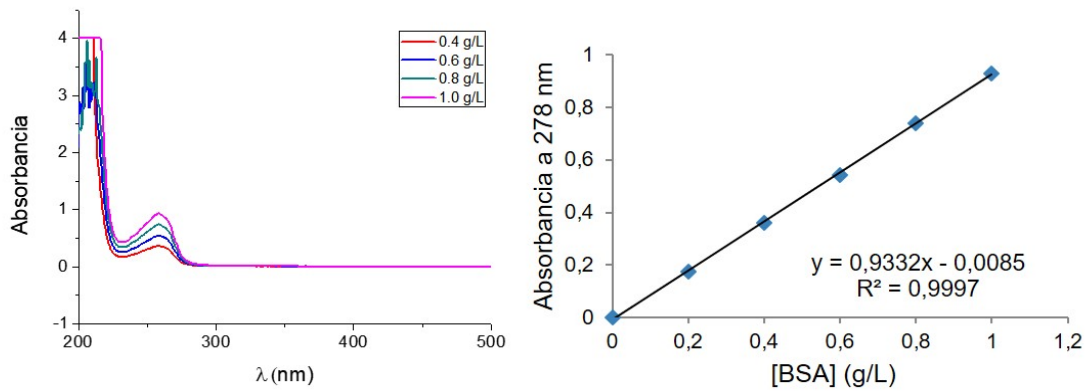


Figura B.4.: Curva de calibración de BSA a pH=4,5 para **BC-Sp**

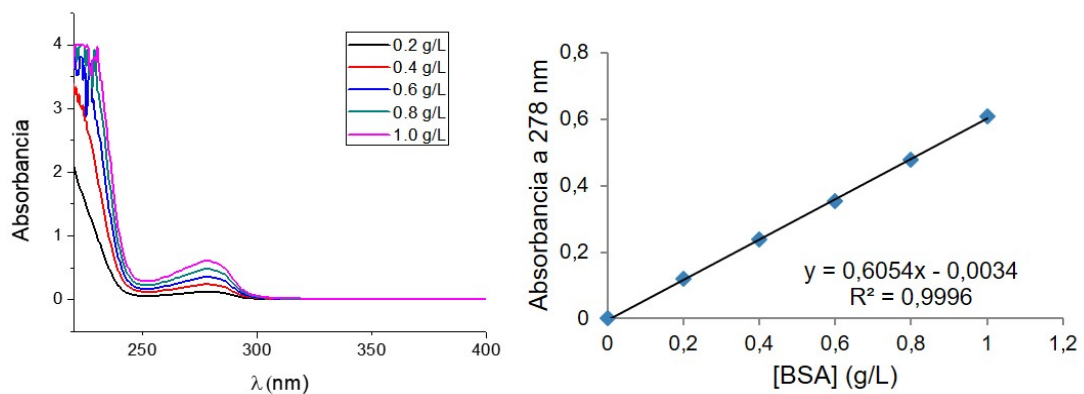


Figura B.5.: Curva de calibración de BSA a pH=7,4 para **BC-KOH**