

Optimización del método organosolv para extracción de lignina desde racimos de fruto vacíos de
la palma de aceite

Lizza Mariel López Mosquera

Trabajo de Grado para Optar al Título de Química

Director

Marianny Yajaira Combariza Montañez

Química PhD

Codirector

Jesús Andrés Oñate Gutiérrez

Químico MSc

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Bucaramanga

2025

Dedicatoria

Dedico este trabajo a Dios, cuya guía y sabiduría han sido fundamentales en mi formación y en la culminación de este estudio, ya que sin él no hubiese sido posible. A mi familia, cuyo apoyo incondicional y valores inculcados han sido pilares esenciales en mi desarrollo académico y personal. Su confianza en mí ha sido mi fortaleza. A la memoria de mi padre y hermano, quienes me inculcaron el coraje y la determinación para soñar en grande. Este trabajo es un homenaje a la inspiración que me brindaron.

Agradecimientos

A Dios, por darme la sabiduría y fortaleza necesarias para afrontar cada uno de los desafíos encontrados en este camino. Sin su amor y guía, este logro no habría sido posible.

A mi familia, que ha sido mi apoyo en todo momento. Su compañía, comprensión y palabras de aliento en los momentos más difíciles han sido la fuerza que me impulsó a seguir adelante.

A mi directora y codirector, Marianny Yajaira Combariza Montañez y Jesús Andrés Oñate Gutiérrez, por su acompañamiento a lo largo del desarrollo de este trabajo. Su conocimiento, disposición y apoyo han sido esenciales tanto para la realización de esta investigación como para mi crecimiento académico.

Al grupo de investigación CEIAM y GIFTEX, en especial a mis compañeros, por su apoyo constante, sus consejos y por compartir conmigo este proceso de aprendizaje. Agradezco, además, por permitirme acceder a los equipos e insumos necesarios para el desarrollo experimental de este estudio.

Agradezco a la Universidad Industrial de Santander por brindarme la formación académica y el acompañamiento de mis profesores, cuyo apoyo fue esencial para el éxito de este proyecto.

Tabla de Contenido

	Pág.
Introducción	13
1. Planteamiento del problema.....	15
2. Objetivos	18
2.1 Objetivo General.....	18
2.2 Objetivos Específicos.....	18
3. Justificación	19
4. Hipótesis	20
5. Marco teórico	21
5.1 Estructura de la lignina	21
5.2 Biosíntesis de la lignina	22
5.3 Métodos de extracción de lignina	25
5.4 Mecanismo de deslignificación.....	29
5.5 Extracción asistida por microondas	31
5.6 Aplicaciones de la lignina.....	32
6. Antecedentes.....	34
7. Metodología	37
7.1 Pretratamiento de los RFV	37
7.1.1 Determinación humedad en biomasa	38
7.1.2 Determinación de cenizas	38
7.1.3 Determinación de solubilidad de la biomasa en etanol-tolueno	39
7.1.4 Análisis de lignina soluble e insoluble en ácido en biomasa.....	39

7.1.5	Determinación de celulosa.....	40
7.1.6	Determinación de holocelulosa.....	40
7.2	Extracción de lignina organosolv y diseño experimental	41
7.3	Análisis fisicoquímico	43
7.3.1	Análisis estadístico.....	44
7.3.2	Contenido de cenizas	44
7.3.3	Análisis de resonancia magnética nuclear (RMN).....	44
7.3.4	Análisis por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)	45
7.3.5	Solubilidad de la lignina en diferentes solventes	45
7.3.6	Determinación de carbohidratos estructurales y lignina en biomasa:.....	45
8.	Resultados y discusión.....	46
8.1	Optimización del proceso organosolv.....	48
8.2	Características de la lignina	54
8.2.1	Estructura y composición de la lignina	55
8.2.2	Solubilidad de la lignina	60
8.2.3	Carbohidratos residuales	62
9.	Conclusiones.....	65
10.	Recomendaciones	66
	Referencias Bibliográficas	67
	Apéndices.....	81

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1 Especificaciones de métodos químicos para la extracción de lignina.	26
Tabla 2 Matriz de diseño experimental (DoE) para calentamiento convencional.	42
Tabla 3 Análisis composicional de los RFV antes de realizar el tratamiento organosolv.	47
Tabla 4 Variables del diseño experimental (DoE) y rendimiento de extracción de lignina organosolv.....	48
Tabla 5 Análisis de varianza (Minitab) del rendimiento de extracción.	52
Tabla 6 Resultados del análisis NREL/TP-510-42618 para la fracción sólida (FS), rica en celulosa, y una fracción líquida (FL), compuesta principalmente por lignina, obtenidas a 60% EtOH, 1,5% p/v de H ₂ SO ₄ y 200 °C después del tratamiento organosolv.....	63

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1 Estructura de la lignina: Monómeros (p-hidroxifenil (H), guaiacil (G) y siringil (S)) y enlaces (éter y carbono-carbono).....	22
Figura 2 Ruta de biosíntesis de la lignina. En la figura se identifican las enzimas involucradas en este proceso: la fenilalanina amonía liasa (PAL) y el alcohol cinamílico dehidrogenasa (CAD). 23	23
Figura 3 Reacciones secuenciales de formación y acoplamiento de radicales para polimerización de lignina.....	24
Figura 4 Ilustración del mecanismo de deslignificación a través de la escisión del enlace α -O-4.	30
Figura 5 Mecanismo de reacción de la ruptura del enlace α -O-4 en medio acuoso.	31
Figura 6 Diagrama del pretratamiento organosolv para los RFV de la palma aceitera.	43
Figura 7 Gráficas de superficie del rendimiento de extracción.	50
Figura 8 Diagrama de Pareto de efectos estandarizados para el rendimiento de extracción de lignina organosolv.....	51
Figura 9 Espectros FTIR de las ligninas obtenidas a 1,5% p/v de H ₂ SO ₄ y 200 °C, con concentraciones de EtOH del 60% y 80%, así como de la lignina obtenida con 60% EtOH, 1,5% p/v de H ₂ SO ₄ y 110 °C mediante calentamiento por microondas.	55
Figura 10 Región alifática oxigenada del espectro 2D-HSQC correspondiente a la lignina organosolv obtenida (60% EtOH, 1,5% p/v de H ₂ SO ₄ y 200 °C) a partir de racimos de fruto vacíos (RFV) de palma de aceite. En el espectro se identifican las principales estructuras presentes en la lignina: (A) alquil-aril éteres β -O-4, (C) fenilcumaranos, (I) grupos terminales de alcohol cinamílico y (X) enlaces β -D-xilopiranosido.....	57

- Figura 11 Región aromática del espectro 2D-HSQC correspondiente a la lignina organosolv obtenida (60% EtOH, 1,5% p/v de H₂SO₄ y 200 °C) a partir de racimos de fruto vacíos (RFV) de palma de aceite. En el espectro se identifican las principales estructuras presentes en la lignina: (S) unidades de siringil, (G) unidades de guaiacil, (p-CE) p-cumaratos y (I) grupos terminales de alcohol cinamílico..... 59
- Figura 12 Ensayo de solubilidad para lignina organosolv obtenida a 60% EtOH, 1,5% p/v de H₂SO₄ y 200 °C a partir de racimos de fruto vacíos (RFV) de palma de aceite. 61
- Figura 13 Resultados del análisis NREL/TP-510-42618 para la fracción sólida (FS), rica en celulosa, y una fracción líquida (FL), compuesta principalmente por lignina, obtenidas a 60% EtOH, 1,5% p/v de H₂SO₄ y 200 °C después del tratamiento organosolv..... 64

Lista de Apéndices

	pág.
Apéndice A. Valores experimentales obtenidos en el diseño de experimentos (DoE).....	81
Apéndice B. Asignación de bandas en espectros FTIR de la lignina extraída.	82
Apéndice C. Asignación de picos en los espectros HSQC de la lignina extraída.	83
Apéndice D. Espectro de RMN de protones (¹ H-RMN) correspondiente a la lignina organosolv obtenida (60% EtOH, 1,5% p/v de H ₂ SO ₄ y 200 °C) a partir de racimos de fruto vacíos (RFV) de palma de aceite.....	84
Apéndice E. Cromatograma de HPLC de la fracción sólida (FS), rica en celulosa, obtenida a 60% EtOH, 1,5% p/v de H ₂ SO ₄ y 200 °C después del tratamiento organosolv.....	85
Apéndice F. Cromatograma de HPLC de la fracción líquida (FL), compuesta principalmente por lignina, obtenida a 60% EtOH, 1,5% p/v de H ₂ SO ₄ y 200 °C después del tratamiento organosolv.	86
Apéndice G. Cromatograma de HPLC de los estándares de recuperación de azúcar (SRS) de D- (+)glucosa y D-(+)xilosa.....	87

Glosario

Biomasa residual: conjunto de desechos orgánicos generados a partir de la actividad humana.

Deslignificación: proceso que implica la eliminación total o parcial de la lignina presente en la madera u otros materiales vegetales. Este proceso puede realizarse mediante tratamientos químicos o enzimáticos.

Hidrólisis: reacción química que ocurre cuando el agua descompone un compuesto o molécula, dando lugar a la separación de sus elementos constituyentes.

Lignocelulósico: término que hace referencia a los materiales vegetales compuestos principalmente por lignina, celulosa y hemicelulosa. Estos componentes son fundamentales en la estructura de las paredes celulares vegetales.

Productos de valor agregado: productos que han sido modificados o transformados mediante procesos físicos, químicos o biotecnológicos con el objetivo de aumentar su utilidad, calidad o valor comercial.

Racimos de fruto vacíos (RFV): biomasa residual voluminosa y fibrosa que queda después de extraer los frutos de la palma de aceite.

Resumen

Título: Optimización del método organosolv para extracción de lignina desde racimos de fruto vacíos de la palma de aceite.

Autor: Lizza Mariel López Mosquera

Palabras Clave: Extracción de lignina, organosolv, palma de aceite, valorización de residuos agroindustriales, microondas, sostenibilidad.

Descripción:

El proceso productivo del aceite de palma genera una cantidad considerable de residuos, los cuales pueden aprovecharse para la obtención de productos de alto valor agregado si se desarrollan métodos que permitan separar eficientemente los componentes de estos materiales lignocelulósicos. En este estudio, se optimizó el proceso de extracción de lignina a partir de racimos de fruto vacíos (RFV) de palma de aceite mediante el método organosolv. Se evaluó la influencia de la temperatura (170 y 200 °C), la relación de solvente (60 y 80 % v/v EtOH) y la concentración del catalizador (0,5 y 1,5 % p/v H₂SO₄) en el rendimiento del proceso. La optimización se realizó mediante un diseño de experimentos (DoE), y se exploró el calentamiento por microondas como alternativa para mejorar la eficiencia del tratamiento. Asimismo, se estudiaron las características estructurales y fisicoquímicas de la lignina extraída mediante FTIR, 2D-RMN, pruebas de solubilidad y análisis de pureza por HPLC. Los resultados estadísticos indicaron que la concentración del catalizador y la temperatura fueron los factores más determinantes en la extracción de lignina. El mejor rendimiento de extracción (54,46%) se obtuvo empleando 185 °C, 1% p/v de H₂SO₄ y 70% de EtOH. El análisis estructural permitió la identificación de unidades monoméricas de guaiacil y siringil, así como la presencia de carbohidratos residuales, predominantemente hemicelulosa. La lignina organosolv presentó una mayor solubilidad en hidróxido de sodio (NaOH) y dimetilsulfóxido (DMSO). La pureza del biopolímero fue elevada, con valores de 0,95% de xilosa residual y 0,09% de cenizas. Estos hallazgos aportan información clave para la optimización del proceso organosolv y la valorización de la lignina en aplicaciones industriales.

Trabajo de Grado

Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Química. Director: Marianny Yajaira Combariza Montañez. Química PhD. Codirector: Jesús Andrés Oñate Gutiérrez. Químico M.Sc.

Abstract

Title: Optimization of the organosolv method for lignin extraction from empty fruit bunches (EFB) of oil palm.

Author: Lizza Mariel López Mosquera

Key Words: lignin extraction, organosolv, oil palm, valorization of agro-industrial residues, microwaves, sustainability.

Description:

The palm oil production process generates a considerable amount of waste, which can be exploited to obtain high value-added products if methods are developed to efficiently separate the components of these lignocellulosic materials. This study optimized the lignin extraction process from palm oil empty fruit bunches (EFB) using the organosolv method. The impact of temperature (170 and 200 °C), solvent ratio (60 and 80% v/v EtOH), and catalyst concentration (0.5 and 1.5% w/v H₂SO₄) on extraction yield was assessed. Optimization was conducted using an experimental design (DoE), and microwave heating was investigated as an alternative to enhance treatment efficiency. Furthermore, the structural and physicochemical properties of the extracted lignin were analyzed using FTIR, 2D-NMR, solubility tests, and purity analysis with HPLC. Statistical results indicated that catalyst concentration and temperature were the most significant factors in lignin extraction. The highest extraction yield (54.46%) was achieved under the conditions: 185 °C, 1% w/v H₂SO₄, and 70% EtOH. Structural analysis allowed for the identification of guaiacyl and syringyl monomeric units, along with the detection of residual carbohydrates, mainly hemicellulose. The organosolv lignin showed increased solubility in sodium hydroxide (NaOH) and dimethyl sulfoxide (DMSO). This biopolymer demonstrated high purity, with a residual xylose content of 0.95% and an ash content of 0.09%. These findings offer crucial insights for optimizing organosolv pulping and valorizing lignin for industrial applications.

Faculty of Sciences.

School of Chemistry. Chemistry. Advisor: Marianny Yajaira Combariza Montañez, Ph.D. in Chemistry. Co-advisor: Jesús Andrés Oñate Gutiérrez, M.Sc. in Chemistry.

Introducción

La palma de aceite es el segundo cultivo con mayor extensión en Colombia después del café. Para el año 2024 el país produjo 1,72 millones de toneladas de aceite de palma crudo (Fedepalma, 2025). Los racimos de fruto vacíos (RFV), que contienen celulosa, hemicelulosa y lignina, son uno de los subproductos o residuos que deja esta actividad (Rinaldi et al., 2016). Otros desechos son: el cuesco, el mesocarpio y los efluentes, que suelen ser usados en diversas aplicaciones como fertilizantes, combustible para calderas y materia prima para la elaboración de papel, entre otras (Garcés & Sánchez, 1997). Entre los residuos generados se ha estudiado la valorización y el aprovechamiento de los RFV para la generación de nuevos productos de valor agregado, biomateriales y biopolímeros (Álvarez et al., 2017). Sin embargo, la producción de celulosa o azúcares a partir de los RFV, uno de sus principales usos, presenta ciertos desafíos entre los que se destaca el pretratamiento del material para la extracción de lignina. En esta etapa, se usan procesos tradicionales de extracción que generan ligninas con un alto contenido de azufre, cenizas e impurezas, lo que limita su aplicabilidad.

Los procesos de extracción de lignina en biomásas ricas en este componente persiguen la ruptura de los enlaces covalentes y de hidrógeno que conectan la celulosa y la hemicelulosa con la lignina en el complejo lignocelulósico usando principios físicos, químicos, fisicoquímicos o biológicos. Por ejemplo, en el caso de un pretratamiento químico, es necesario emplear agentes químicos o solventes que provoquen el fraccionamiento de los componentes de la biomasa (Rincón, 2020). Generalmente, la lignina es un desecho de la industria de pulpa y papel, y su procesamiento implica riesgos ambientales. La razón por la cual no se utiliza ampliamente en otras

aplicaciones es la complejidad de su estructura, caracterizada por alta polidispersidad y baja solubilidad (C. Liu et al., 2019). Como resultado, solo un pequeño porcentaje de la lignina extraída, que además contiene altas cantidades de azufre e impurezas, se quema para producir energía y calor o se emplea en productos agrícolas, ladrillos, cerámica, entre otros (Lora & Glasser, 2002). Diversos pretratamientos químicos de relevancia son empleados en la extracción de lignina, destacando entre ellos el método Kraft, sulfito, soda y organosolv. Otras técnicas modernas incluyen metodologías o disolventes más ecológicos, tales como líquidos iónicos y disolventes eutécticos profundos.

El método organosolv ofrece ligninas con un alto grado de pureza y con buen rendimiento de extracción, lo que las hace ideales para aplicaciones donde se prefiere un bajo contenido de carbohidratos, cenizas, entre otros (Huijgen et al., 2014). Se han estudiado aplicaciones potenciales para las ligninas como resinas fenólicas (da Silva et al., 2013), poliuretanos (Lora & Glasser, 2002), resinas epoxi (Lora & Glasser, 2002) y fibras de carbono (Pan & Saddler, 2013). Por otro lado, este proceso genera ligninas con gran cantidad de grupos hidroxilo fenólicos y grupos oxidados que benefician su integración a estructuras poliméricas y su modificación química (Kubo & Kadla, 2004).

El objetivo de este trabajo es optimizar la extracción de lignina a partir de residuos de racimos de fruto vacíos (RFV) de la palma de aceite. Los residuos de RFV de palma de aceite serán sometidos a un tratamiento organosolv mediante calentamiento convencional. El impacto de parámetros experimentales que afecten el rendimiento y la pureza del extracto se determinará mediante un diseño de experimentos (DoE). Las variables del proceso de extracción de lignina por el método organosolv incluyen: temperatura ($^{\circ}\text{C}$), concentración del catalizador ácido (% p/v de H_2SO_4) y relación etanol/agua (% v/v). El DoE incluirá las tres variables en dos niveles (2^3). La

fracción líquida obtenida después del filtrado se destilará para recuperar el etanol. También, se llevará a cabo una prueba en un sistema de calentamiento por microondas, con el propósito de investigar su impacto en el rendimiento y las características químicas de la lignina extraída. Debido a la naturaleza compleja de la lignina, se requiere la aplicación de diversas técnicas analíticas para su caracterización. En contexto, se llevará a cabo un análisis mediante resonancia magnética nuclear (RMN) y espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). Asimismo, se estudiará la solubilidad de la lignina obtenida y se analizará su pureza mediante la identificación de carbohidratos estructurales residuales con cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), lignina Klason, humedad y cenizas.

1. Planteamiento del problema

Durante el proceso de producción de aceite de palma se generan diversos residuos como los racimos de fruto vacíos (RFV), el cuesco, el mesocarpio y los efluentes, que eventualmente se convierten en un problema ambiental debido a sus grandes volúmenes de producción lo que compromete su uso y correcta disposición. Actualmente, algunos de esos residuos son usados en aplicaciones de bajo valor, principalmente como combustible para calderas y materia prima en la industria papelera (Garcés & Sánchez, 1997).

En los últimos años, los residuos lignocelulósicos agroindustriales han sido el foco de atención por su alta disponibilidad, bajo costo y potencial aplicación en otros procesos de la industria como los biocombustibles, productos farmacéuticos, biopolímeros, construcción, entre otros. La celulosa y la hemicelulosa, una vez despolimerizadas, pueden convertirse en etanol u otros productos utilizando métodos químicos y biológicos (Rabelo et al., 2023). No obstante, los

esfuerzos para valorizar la lignina han sido menos exitosos, optando generalmente por quemarla para la obtención de calor y energía. La extracción de lignina es un proceso clave en la valorización de la biomasa lignocelulósica. No obstante, los métodos comerciales más utilizados, como los procesos Kraft y sulfito, presentan desafíos medioambientales significativos debido a la generación de residuos altamente contaminantes (Huang et al., 2020). En respuesta a esta problemática, el proceso organosolv ha surgido como una alternativa más sostenible, permitiendo la obtención de ligninas de alta calidad, con bajo contenido de azufre, cenizas y otros residuos (Huijgen et al., 2014). Organosolv es un método de pulpeo químico empleado para solubilizar, de manera parcial o total, la lignina y la hemicelulosa, lo que permite la separación de la celulosa de la biomasa lignocelulósica (Baruah et al., 2018). Este procedimiento emplea solventes orgánicos, en algunos casos combinados con un catalizador ácido o básico, para facilitar la ruptura de los enlaces de hidrógeno y covalentes presentes en los complejos lignina-carbohidrato (LCC) (Lou et al., 2023). Posteriormente, la lignina sufre un proceso de despolimerización mediante la ruptura de los enlaces éter y carbono-carbono, lo que favorece su solubilización en el medio de reacción. Finalmente, la lignina solubilizada puede recuperarse mediante precipitación.

En los últimos años, ha crecido el interés por la lignina organosolv, dado su potencial en diversas aplicaciones industriales, como el desarrollo de adhesivos ecológicos (Gendron et al., 2022), membranas (Prochukhan et al., 2022), fibras de carbono (Fan et al., 2022), supercapacitores (Wu et al., 2022) y su combinación en matrices poliméricas (Choi et al., 2022). Sin embargo, su aprovechamiento a gran escala sigue siendo limitado debido a que la mayoría de las biorrefinerías se enfocan en la recuperación de celulosa, dejando de lado el estudio y la optimización de las condiciones de tratamiento necesarias para obtener lignina de alta pureza y óptima recuperación.

Una de las ventajas del proceso organosolv frente a los métodos convencionales es la posibilidad de recuperar los disolventes empleados mediante columnas de destilación y evaporadores, lo que permite su reutilización dentro del mismo proceso. No obstante, esta recuperación requiere un elevado consumo energético y condiciones de operación estrictamente controladas, lo que representa un desafío técnico y económico a escala industrial (Rabelo et al., 2023). En este contexto, es fundamental desarrollar estrategias que permitan reducir el consumo de energía sin afectar la eficiencia de la extracción de lignina. Una de las alternativas más prometedoras para abordar este problema es el uso del calentamiento por microondas, el cual ha demostrado mejorar la eficiencia de los tratamientos, optimizar el tiempo de reacción y disminuir el impacto ambiental del proceso (Baruah et al., 2018).

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

Optimizar un método organosolv para extracción de lignina proveniente de racimos de fruto vacíos (RFV) de palma de aceite.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar las variables que influyen en el proceso organosolv para la extracción de lignina.
- Caracterizar la estructura y propiedades fisicoquímicas de la lignina extraída.

3. Justificación

La creciente demanda de alternativas sostenibles para el aprovechamiento de residuos agroindustriales ha impulsado la investigación en el desarrollo de procesos eficientes y ecológicos que reemplacen los tradicionales. En este contexto, la lignina, un biopolímero presente en la biomasa lignocelulósica, representa un recurso de gran potencial para diversas aplicaciones industriales. Sin embargo, su extracción y aprovechamiento siguen siendo limitados debido a la predominancia de métodos que priorizan la recuperación de celulosa (Rabelo et al., 2023).

Colombia, como uno de los principales productores de aceite de palma a nivel mundial, genera grandes volúmenes de residuos lignocelulósicos, dentro de los cuales los racimos de fruto vacíos (RFV) constituyen un subproducto con escasas aplicaciones industriales. En este proyecto se explora la extracción de lignina mediante el método organosolv como una alternativa para la valorización de los residuos generados en esta industria.

El método organosolv ha demostrado ser una alternativa prometedora para la extracción de lignina, ya que permite obtener un biopolímero con alta pureza y baja presencia de contaminantes, como azufre y cenizas (Huijgen et al., 2014). Sin embargo, la optimización de este proceso es esencial para mejorar su eficiencia y viabilidad a escala industrial. En este estudio, se evaluarán diferentes parámetros específicos (temperatura, relación de solvente y concentración de catalizador) mediante un diseño de experimentos (DoE), lo que permite una evaluación más detallada del impacto de cada variable en el rendimiento del proceso. Además, se explora el uso de calentamiento por microondas como una alternativa para mejorar la eficiencia de la extracción (Baruah et al., 2018), un enfoque poco estudiado en la valorización de la lignina de racimos de

fruto vacíos (RFV) de palma de aceite. Asimismo, este estudio busca no solo optimizar la obtención de lignina de alta pureza, sino también caracterizar sus propiedades estructurales y fisicoquímicas con técnicas analíticas como FTIR, 2D-NMR y HPLC que proporcionen información clave para determinar sus potenciales aplicaciones.

Los hallazgos de esta investigación podrán contribuir al desarrollo de estrategias para la implementación de procesos más eficientes en biorrefinerías y otras industrias que busquen alternativas sostenibles en la obtención de productos de valor agregado (Rabelo et al., 2023). Además, este estudio tiene un impacto positivo en el ámbito ambiental, ya que promueve la reducción del uso de reactivos contaminantes y del consumo energético, favoreciendo la transición hacia modelos de producción más sostenibles y circulares.

4. Hipótesis

El proceso organosolv consiste en el fraccionamiento de la biomasa lignocelulósica mediante el uso de disolventes orgánicos, con o sin catalizadores. Durante la reacción, se escinden los enlaces lignina-carbohidrato (LCC) y la lignina sufre despolimerización, lo que favorece su solubilización. Posteriormente, la lignina se recupera por precipitación. Si los parámetros experimentales que controlan la eficiencia del proceso de extracción de lignina mediante el método organosolv son la temperatura, concentración del solvente y catalizador, entonces su optimización permitirá mejorar el rendimiento de extracción de lignina proveniente de los racimos de fruto vacíos de la palma de aceite. Además, la caracterización molecular de la lignina obtenida por este método permitirá determinar sus potenciales aplicaciones industriales.

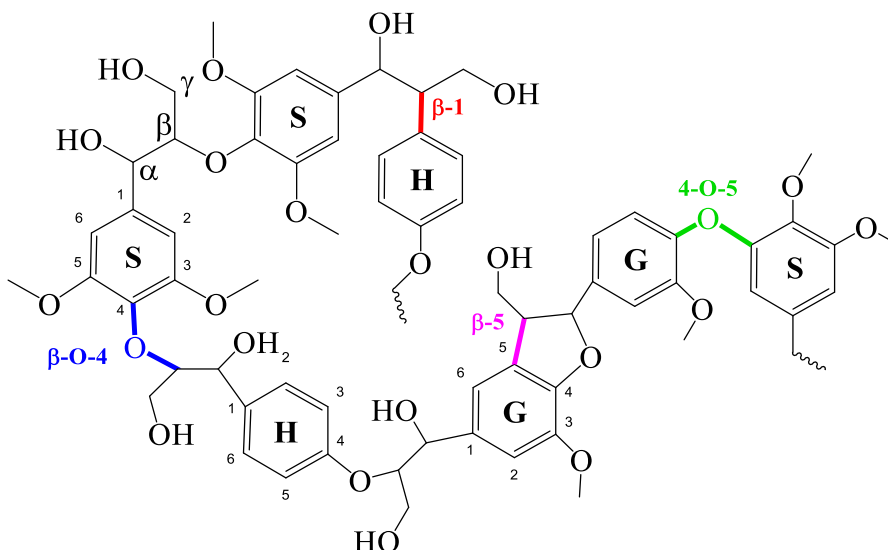
5. Marco teórico

5.1 Estructura de la lignina

La lignina, uno de los principales componentes de las paredes celulares de las plantas, confiere fuerza y rigidez al tejido vegetal. Además de servir como material estructural, la lignina facilita el transporte de agua a través de redes vasculares conductoras del xilema mediante interacciones hidrofóbicas, de igual forma le da permeabilidad a la pared celular porque es menos hidrófila que los polisacáridos y estabilidad térmica por su aromaticidad. También ayuda a proteger el tejido leñoso del ataque microbiano y fúngico e igualmente lo hace resistente a la degradación (Faruk & Mohini, 2015). La lignina es uno los principales compuestos aromáticos renovables y el segundo polímero natural más abundante del planeta (Holladay et al., 2007). El contenido y la estructura de la lignina varía dependiendo del origen de la biomasa, es decir, depende de especies de plantas, tejidos, tipos de células y capas de la pared celular (Parajuli et al., 2015). Químicamente, la lignina es un biopolímero tridimensional aromático compuesto de tres unidades principales, grupos *p*-hidroxifenil (H), guaiacil (G) y siringil (S), que corresponden a los monómeros o monolignoles fenilpropanoides conocidos como alcohol *p*-cumarílico, alcohol coniferílico y alcohol sinapílico respectivamente (Del Río et al., 2020), que son sintetizados en el citoplasma a través de la “ruta del Shikimato”.

Figura 1

*Estructura de la lignina: Monómeros (*p*-hidroxifenil (H), guaiacil (G) y siringil (S)) y enlaces (éter y carbono-carbono).*



Los monolignoles son anillos fenólicos con una cadena lateral (que parte del carbono C1 del anillo fenólico) de tres carbonos (C_α , C_β y C_γ) y finaliza con un grupo hidroxilo primario en el carbono C_γ , mientras que los carbonos C_α y C_β se encuentran unidos a través de un enlace insaturado, además los anillos fenólicos en ocasiones están metoxilados dependiendo de la especie, es decir, el alcohol coniferílico y alcohol sinapílico tienen uno y dos grupos metoxi en los carbonos C3 y C5 de anillo respectivamente, mientras que el alcohol *p*-cumarílico no tiene (Faruk & Mohini, 2015; Kubo & Kadla, 2004). Dentro de la estructura tridimensional los monómeros se encuentran conectados a través de enlaces éter (β -O-4', α -O-4' y 4-O-5') y carbono-carbono (β -5, β - β' , β -1', 5-5, entre otros) (Abdelaziz et al., 2016).

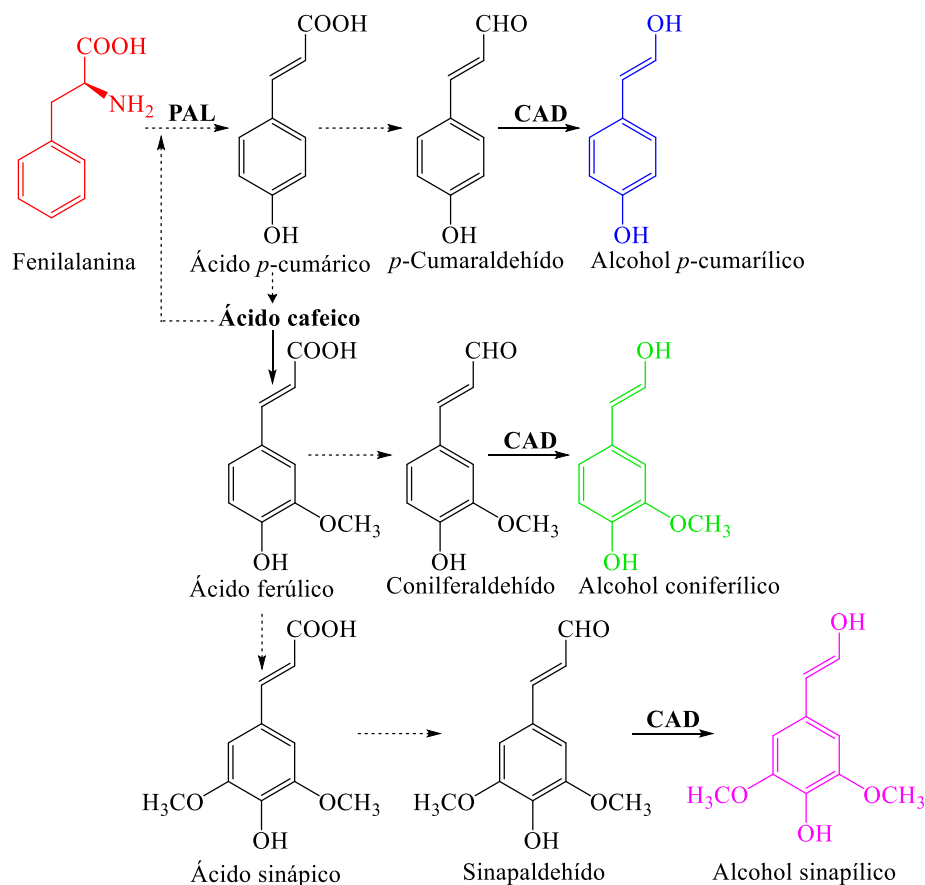
5.2 Biosíntesis de la lignina

Los monómeros de lignina se producen o derivan de la síntesis del fenilpropanoide. Al inicio de la reacción de polimerización ocurre la desaminación de la fenilalanina (o tirosina), que

posteriormente sufre reacciones secuenciales de hidroxilación del anillo aromático, después una O-metilación fenólica y por último la reducción del grupo ácido carboxilo en la cadena lateral a un aldehído hasta la obtención de un alcohol, todos estos procesos se encuentran a cargo de enzimas, dando como resultado los alcoholes fenilpropanólicos (Del Río et al., 2020; Vanholme et al., 2019).

Figura 2

Ruta de biosíntesis de la lignina. En la figura se identifican las enzimas involucradas en este proceso: la fenilalanina amonía liasa (**PAL**) y el alcohol cinámico dehidrogenasa (**CAD**).

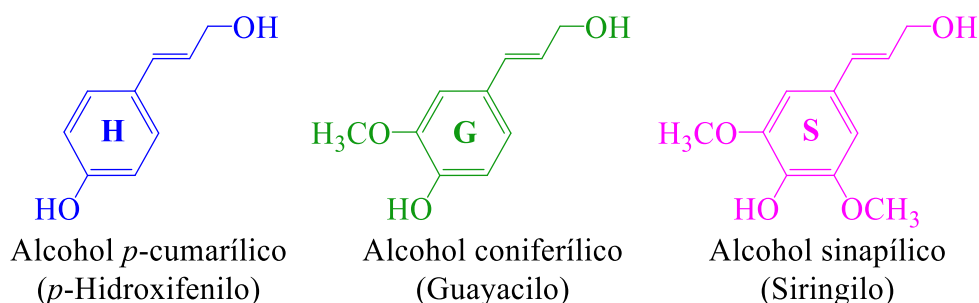


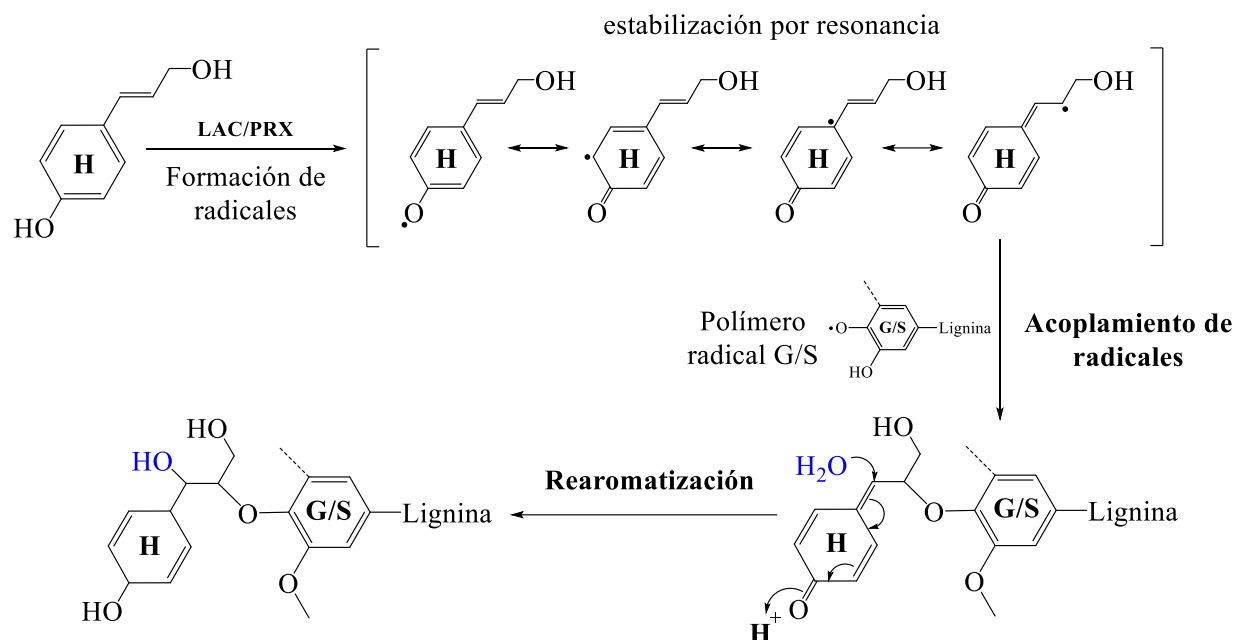
Nota. La representación gráfica de la ruta de biosíntesis de la lignina fue adaptada de Barros et al., 2019.

La polimerización final de la lignina se activa por medio de sistemas de oxidación ubicados en la pared celular, en los cuales enzimas como la peroxidasa y/o lacasa promueven la formación de radicales que facilitan la incorporación de numerosos monolignoles a la estructura polimérica en diferentes combinaciones, inicialmente la enzima extrae un átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo del anillo fenólico en el monolignol para formar un radical libre fenoxi, que luego se deslocalizará por resonancia en los átomos de carbono del anillo aromático y la cadena lateral (Faruk & Mohini, 2015). En medio de un acoplamiento cruzado el radical del monolignol oxidado reacciona y se une con el radical formado en los extremos fenólicos del polímero de lignina en formación, seguidamente ocurre una rearomatización de metiluro de quinona y comienza nuevamente el ciclo con la formación del radical fenoxi por medio de la oxidación enzimática (Tobimatsu & Schuetz, 2019). El hidroxilo del carbono C_γ no reacciona durante la polimerización, se mantiene a través del proceso, confiriéndole a la estructura una propiedad hidrofílica (Faruk & Mohini, 2015).

Figura 3

Reacciones secuenciales de formación y acoplamiento de radicales para polimerización de lignina.





Nota. La representación esquemática de las reacciones secuenciales de formación y acoplamiento de radicales fueron adaptadas de Tobimatsu & Schuetz, 2019.

5.3 Métodos de extracción de lignina

Las técnicas más usadas en la industria para el procesamiento de lignina son los métodos Kraft y sulfito. Además de estos, se han explorado y desarrollado procesos alternativos, como el método soda y organosolv, con el propósito de obtener ligninas libres de azufre. El proceso Kraft es uno de los más usados y comerciales para la producción de pulpa de papel, sin embargo, la lignina extraída o licor negro es utilizado como fuente de energía para la misma fabricación, debido a que la pureza de la lignina obtenida es baja (Huang et al., 2020). En este método se emplea una solución acuosa de hidróxido de sodio (NaOH) y sulfuro de sodio (Na₂S) para la extracción y la lignina obtenida presenta altas cantidades de azufre (Rishikesh et al., 2021). La lignina sulfito es otro método de extracción comercial, en este proceso se obtienen ligninas con un gran contenido de azufre y cenizas. Las condiciones requeridas para este pretratamiento son prolongadas, costosas y complejas, lo que limita la eficiencia del proceso, obteniéndose ligninas de baja pureza y con

aplicaciones restringidas. Estas limitaciones han llevado a una disminución en la valoración e implementación de este método en la industria (Fatehi & Chen, 2016). La fabricación de lignina sulfito o lignosulfonato se produce a partir de la mezcla de dióxido de azufre (SO₂) con una solución básica (Rishikesh et al., 2021).

Por otro lado, la lignina que se obtiene por medio del método soda no contiene azufre y se caracteriza por tener una similitud con la lignina nativa, a pesar de ser un proceso de extracción eficiente presenta desventajas como el gran consumo de álcali, rendimiento bajo, poca recuperación de los álcalis añadidos, control estricto de tiempo y temperatura (Huang et al., 2020). Los reactivos alcalinos más usados son el hidróxido de sodio, potasio, calcio y amonio. Sin embargo, se ha observado que la eficiencia de reacción es mayor cuando se emplea hidróxido de sodio (Kim et al., 2016). El proceso consiste en una reacción de saponificación que provoca el rompimiento de los enlaces intermoleculares de la hemicelulosa y la lignina (Baruah et al., 2018).

Tabla 1

Especificaciones de métodos químicos para la extracción de lignina.

<i>Método de extracción</i>	<i>Condiciones</i>	<i>PM de la lignina (Da)</i>	<i>Características de la lignina</i>
<i>Kraft</i>	NaOH y/o Na ₂ S, 170 °C, 2h.	1000-15000	Contenido de azufre: 1-3% en peso Baja pureza
<i>Sulfito</i>	1-30% Na ₂ SO ₃ , 120-180 °C, 1-5 h.	1000-50000	Contenido de azufre: 4-8% en peso Baja pureza
<i>Soda</i>	13-16% NaOH, 140-170 °C, 5-60 min.	1000-3000	No contiene azufre Alta pureza

<i>Organosolv</i>	Disolventes orgánicos mezclados con agua y en ocasiones un catalizador, 170-210 °C, 60-90 min.	500-5000	No contiene azufre Alta pureza
-------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------	----------	-----------------------------------

Nota. Los datos presentados en esta tabla fueron tomados de Figueiredo et al., 2018. El peso molecular (PM) de cada tipo de lignina se expresa en daltons (Da).

El organosolv es un método más amigable con el medio ambiente que los tradicionales, con el cual se obtienen ligninas de alta calidad y con buen rendimiento. Sin embargo, su aplicación principal se limita actualmente a la investigación de laboratorio y a la producción industrial a pequeña escala. Además, el método permite recuperar fácilmente los disolventes añadidos mediante destilación, posibilitando su reciclaje e incorporación de nuevo al proceso. No obstante, la recuperación de los solventes debe ser en gran medida, lo que implica un alto consumo energético y condiciones altamente controladas debido a la volatilidad e inflamabilidad de estos compuestos (Baruah et al., 2018). El objetivo de este método es optimizar una metodología ecológica y sostenible para la obtención de ligninas con alta eficiencia de separación, pureza elevada y una estructura asemejada a la nativa. Asimismo, es necesario determinar las mejores condiciones para llevar a cabo el proceso, evaluando la influencia de variables clave, tales como la concentración del solvente, temperatura, tiempo de reacción y catalizador.

En el proceso organosolv, se provoca la hidrólisis de los enlaces internos (covalentes y de hidrógeno) entre la celulosa, hemicelulosa y lignina mediante el uso de solventes orgánicos. Frecuentemente, se emplea un catalizador que permite reducir la temperatura del pretratamiento y aumentar la eficiencia en la deslignificación, resultando en la solubilización de la hemicelulosa y lignina en fragmentos de bajo peso molecular, dejando un residuo sólido de celulosa relativamente puro (Baruah et al., 2018). La lignina puede recuperarse mediante un proceso de precipitación,

mientras que los azúcares derivados de la hemicelulosa permanecen en la fracción líquida, donde también presentan potencial para diversas aplicaciones industriales (Zhao et al., 2009).

Los catalizadores más usados son ácidos inorgánicos; como el ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, ácido fosfórico y bases; como hidróxido de sodio, cal y amoníaco (Borand & Karaosmanoğlu, 2018). Los solventes más comunes que se han empleado son alcoholes alifáticos (metanol, etanol y butanol), polioles (etilenglicol y propilenglicol), ácidos orgánicos (ácidos fórmico y acético), cetonas y éteres, entre otros (Rabelo et al., 2023). Se ha demostrado que la extracción con etanol es altamente eficiente para la obtención de ligninas con alto grado de pureza, gracias a su bajo punto de ebullición y menor toxicidad en comparación con otros solventes. Estudios recientes indican que la variación en la concentración de etanol afecta significativamente el rendimiento final de la extracción; en particular, un aumento en la concentración del solvente se asocia con una reducción en el contenido de carbohidratos en la lignina obtenida (Huang et al., 2020). Sin embargo, concentraciones elevadas de etanol requieren mayor cantidad de agua para diluir la solución y favorecer la precipitación de la lignina. Además, el etanol presenta ventajas económicas, siendo un disolvente orgánico accesible y de bajo costo (Bauer et al., 2012). El método organosolv a base de etanol ofrece ventajas medioambientales en comparación con los procesos comerciales, como Kraft y sulfito, ya que produce extractos libres de azufre y opera sin generar emisiones atmosféricas (Pazzaglia et al., 2023).

El tipo y la concentración de disolvente empleado son variables cruciales en el proceso organosolv, ya que un aumento en la polaridad y acidez del medio incrementa la velocidad de reacción. A medida que el enlace O-H del disolvente (por ejemplo, etanol o metanol) se polariza más, este se convierte en un nucleófilo más eficiente y, a su vez, estabiliza eficazmente el carbocatión intermediario. El etanol reduce efectivamente la viscosidad del agua y mejora la

penetración del disolvente en la pared celular (Thoresen et al., 2020). Por otro lado, la presencia de agua es necesaria para facilitar la liberación de la lignina del complejo lignocelulósico, ya que esta provoca la ruptura de los enlaces éter del complejo lignina-carbohidrato a través de reacciones de hidrólisis, lo que implica que la concentración de disolvente afecta la cantidad de lignina extraída del material celular (Jasiukaitytė-Grojzdek et al., 2020). Además, como se mencionó anteriormente, el agua participa en el mecanismo de deslignificación, favoreciendo la incorporación de grupos hidroxilo en la estructura polimérica en crecimiento.

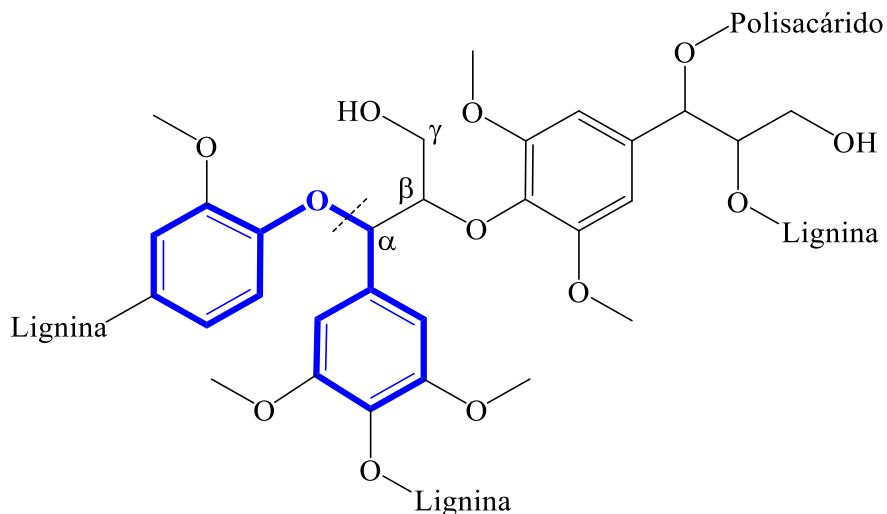
5.4 Mecanismo de deslignificación

La lignina durante el tratamiento organosolv sufre en su mayoría una depolimerización debido a la escisión de los enlaces α -O-aril éter, que a diferencia de los enlaces β -O-aril éter tienen una menor energía de disociación de enlace ($BDE(\alpha\text{-O-4}) = 215 \text{ kJ mol}^{-1}$; $BDE(\beta\text{-O-4}) = 290 \text{ kJ mol}^{-1}$) (Jin et al., 2015). También es posible que algunas condiciones del tratamiento provoquen la ruptura de los enlaces β -O-aril éter, lo que resulta en la formación de cetonas de Hibbert a través de intermediarios enol/enediol (Rabelo et al., 2023).

Para explicar el mecanismo de reacción por el cual se produce la ruptura del enlace α -O-4 en la investigación de Jasiukaitytė-Grojzdek et al., 2020 eligieron el bencil fenil éter (BPE) como compuesto modelo.

Figura 4

Ilustración del mecanismo de deslignificación a través de la escisión del enlace α -O-4.

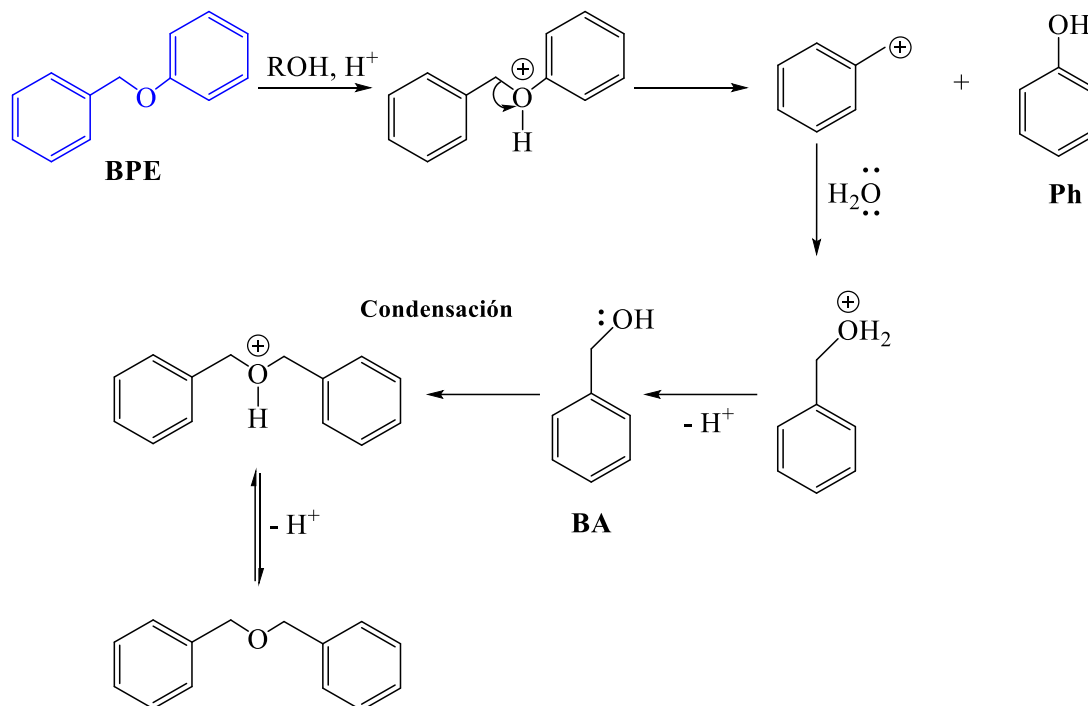


Nota. La representación esquemática de la escisión del enlace α -O-4 adaptada de Jasiukaitytė-Grojzdek et al., 2020.

La escisión del enlace éter sigue los mecanismos de sustitución nucleofílica S_N1 y S_N2 cuando el sistema se encuentra en un medio ácido. Sin embargo, la ruta que predomina en el proceso es la S_N1 . Inicialmente, el oxígeno del grupo éter en el compuesto BPE se protona debido a las condiciones ácidas del medio, luego el enlace se disocia a través del mecanismo S_N1 produciendo un carbocatión de bencilo y fenol. A partir de este punto, la reacción puede seguir distintas rutas. En medios acuosos, el carbocatión de bencilo reacciona con el agua, formando un alcohol bencílico protonado, el cual luego se desprotona para dar alcohol bencílico (BA). Finalmente, se producen reacciones de condensación hasta formar nuevamente el polímero (Jasiukaitytė-Grojzdek et al., 2020). Además, durante el método organosolv ocurren otro tipo de reacciones como la hidrólisis de los enlaces glicosídicos en hemicelulosa y dependiente del proceso también ocurren en celulosa y degradación de los monosacáridos (Sannigrahi & Ragauskas, 2013). Todo el mecanismo se representa en la **Figura 5**.

Figura 5

Mecanismo de reacción de la ruptura del enlace α -O-4 en medio acuoso.



Nota. La representación esquemática del mecanismo de escisión del enlace α -O-4 fue adaptada de Jasiukaitytė-Grojzdek et al., 2020.

5.5 Extracción asistida por microondas

El calentamiento para un pretratamiento organosolv normalmente ocurre a temperaturas entre 160 y 210 °C (Carvalho et al., 2022) siendo esta una de las variables más importantes en el proceso. Se ha investigado que, a bajas temperaturas, la deslignificación es menor; sin embargo, al aumentar la temperatura por encima de 210 °C en calentamientos convencionales, podría promover la generación de inhibidores (Borand & Karaosmanoğlu, 2018). La asistencia de calentamiento por microondas es un método no convencional para el pretratamiento de materiales lignocelulósicos bajo un campo electromagnético, y se ha posicionado como uno de los más utilizados debido a sus diversas ventajas, como la facilidad de operación, eficiencia energética,

formación mínima de inhibidores y capacidad de calentamiento en periodos cortos de tiempo (Baruah et al., 2018) En el proceso, la polarización dieléctrica genera colisiones moleculares y energía térmica que provoca la ruptura estructural del material lignocelulósico (Aguilar-Reynosa et al., 2017). Otra ventaja de utilizar irradiación con microondas es el calentamiento más uniforme y rápido, lo cual conduce a reacciones más específicas y selectivas (Duan et al., 2018).

5.6 Aplicaciones de la lignina

En los últimos años, ha surgido un creciente interés en la valorización de la lignina debido a su disponibilidad y estructura química versátil. En particular, la lignina obtenida mediante el proceso organosolv presenta ventajas sobre otros tipos de lignina comercialmente disponibles, como la Kraft y la soda. La lignina organosolv se caracteriza por la ausencia de azufre, un bajo contenido de azúcares (1.0–3.0% en peso) y cenizas ($\approx 1.7\%$ en peso), además de un peso molecular relativamente bajo (hasta 5.000 g/mol), en contraste con la lignina Kraft y soda, que pueden alcanzar pesos moleculares de hasta 25.000 g/mol y 15.000 g/mol, respectivamente (Eraghi Kazzaz & Fatehi, 2020). Diversos estudios han destacado el potencial de esta macromolécula en múltiples aplicaciones industriales. Entre ellas se incluyen el desarrollo de adhesivos ecológicos (Gendron et al., 2022), membranas (Prochukhan et al., 2022), fibras de carbono (Fan et al., 2022), supercapacitores (Wu et al., 2022) y su combinación en matrices poliméricas (Choi et al., 2022). Sin embargo, la extracción y el procesamiento de la lignina inducen modificaciones estructurales que pueden afectar su reactividad y funcionalidad, lo que representa un desafío para su aprovechamiento. En este sentido, el contenido de enlaces β -O-4 es un parámetro clave, ya que influye en su posterior conversión y puede variar significativamente según la fuente vegetal (Jasiukaityté-Grojzdek et al., 2020).

Desde una perspectiva funcional, la lignina presenta propiedades antioxidantes derivadas de sus diversos grupos funcionales, lo que la hace atractiva para aplicaciones en materiales bioquímicos y nutricionales (Lizundia et al., 2020). Además, su uso en la producción de materiales avanzados ha cobrado relevancia en los últimos años, incluyendo la preparación de resinas fenólicas y epoxi, espumas de poliuretano e hidrogeles (Vásquez-Garay et al., 2021). Otra alternativa prometedora es la generación de nanopartículas de lignina (X. Liu et al., 2022), las cuales han demostrado aplicaciones versátiles en emulsiones, protectores solares, remediación de agua, biocatálisis y encapsulación de moléculas. En el ámbito biomédico, estas nanopartículas han sido empleadas en apósitos para heridas y en ingeniería de tejidos (Schneider et al., 2021).

El proceso de fraccionamiento organosolv también permite la obtención de una fracción sólida rica en celulosa con alto valor agregado, la cual puede ser empleada para la producción de monómeros de azúcares, biocombustibles de segunda generación, ácidos orgánicos, productos farmacéuticos y nanocelulosa, entre otros (Rabelo et al., 2023). En particular, la producción de biocombustibles derivados de la celulosa organosolv ha sido ampliamente investigada, con múltiples propuestas que optimizan las condiciones de pretratamiento, incluyendo variaciones en el tipo de solventes, catalizadores, tiempo de reacción y temperatura del proceso (Soltaninejad et al., 2022; Abdou Alio et al., 2020).

6. Antecedentes

Desde 1893 se tiene información de los primeros trabajos para la deslignificación utilizando disolventes orgánicos. Se comenzó con la separación de los componentes de la madera y el estudio de la estructura de la lignina, celulosa y hemicelulosa. Klason inició esta tarea empleando etanol y ácido clorhídrico como reactivos para el proceso de pasteado. Hacia 1918, Pauly y otros investigadores usaron ácido fórmico y ácido acético para este propósito (Rincón, 2020). El pretratamiento de biomasa lignocelulósica mediante el proceso organosolv fue inventado por Theodor Kleinert en 1968, desarrollado como una alternativa más respetuosa con el medio ambiente en comparación con los procesos tradicionales de Kraft y sulfito, los cuales generaban contaminación en el aire y el agua (Kleinert, 1968).

Sin embargo, fue hasta la década de 1980 cuando comenzaron a investigarse procesos para la fabricación de pulpa mediante el método organosolv, empleando disolventes de bajo punto de ebullición (como el etanol), como alternativa a los procesos tradicionales en la industria papelera, los cuales presentaban limitaciones importantes: olores desagradables, elevada contaminación, bajos rendimientos, deficiente blanqueamiento de la pulpa, y altos consumos de agua, energía y reactivos, entre otros. Originalmente, el proceso fue desarrollado como pulpa Alcell® para madera dura, utilizando etanol como disolvente y aplicando temperaturas entre 190 y 200 °C.

En los últimos años, se ha avanzado en el aprovechamiento y valorización de los racimos de fruto vacíos (RFV) para su conversión en biocombustibles y bioproductos químicos. El etanol (EtOH) se ha consolidado como el solvente orgánico más usado para el pretratamiento organosolv de RFV, mientras que el ácido sulfúrico (H_2SO_4) es uno de los catalizadores preferidos para la

deslignificación debido a su eficacia en la remoción de lignina. A continuación, se presentan investigaciones recientes que exploran el proceso organosolv aplicado a RFV.

En el estudio desarrollado por Goh y colaboradores (2011), se investigó el pretratamiento organosolv aplicado a los RFV de palma aceitera en Malasia, utilizando una metodología de superficie de respuesta basado en un diseño compuesto central de tres variables y los parámetros de severidad combinados. El procedimiento se realizó con EtOH acuoso al 65% y H₂SO₄ como catalizador. Las variables de proceso consideradas fueron la concentración de ácido sulfúrico (0,5–2,0%), la temperatura de reacción (160–200 °C) y el tiempo de residencia (45–90 min). Los resultados indicaron que las condiciones óptimas para el pretratamiento fueron una concentración de ácido sulfúrico de 2,0% p/p, una temperatura de 160 °C y un tiempo de 78 min, valores que coincidieron estrechamente con los predichos por el modelo experimental propuesto (Goh et al., 2011).

Mondylaksita y colaboradores (2020) se enfocaron en el desarrollo y obtención de fracciones de lignina con alta pureza y celulosa digerible. Para ello, evaluaron una variedad de parámetros en el pretratamiento organosolv de RFV de palma aceitera, incluyendo el tipo y concentración de ácido, la temperatura, el tiempo de retención y la relación sólido/líquido (S/L). En el estudio, utilizaron etanol como disolvente (50% v/v), catalizado con ácido (ácido sulfúrico y ácido acético), y aplicaron calentamiento en reactores colocados en un baño de aceite. Las condiciones de pretratamiento incluyeron temperaturas de 180, 210 y 220 °C; tiempos de retención de 30, 60, 90 y 120 min; y las relaciones S/L de 1:20, 1:10 y 1:5. Los resultados mostraron que el ácido sulfúrico (0,07% g/g) fue más eficaz como catalizador, logrando un rendimiento óptimo con una pureza de lignina significativamente superior ($68,25 \pm 3,50\%$) y una recuperación de lignina del $48,00 \pm 2,91\%$, en comparación con el ácido acético. Las condiciones óptimas encontradas

fueron una temperatura de 210 °C, un tiempo de retención de 90 min y una relación S/L de 1:10 (Mondylaksita et al., 2020).

Los investigadores Ong y colaboradores (2016) realizaron un estudio de pretratamiento organosolv en RFV de palma para evaluar el efecto de la concentración de solvente (35, 55 y 75% vol de EtOH), la temperatura de reacción (80, 100 y 120 °C) y el tiempo de reacción (30, 60 y 90 min) en el rendimiento total de azúcares, con el propósito de utilizarlos en la conversión a bioetanol. El experimento se llevó a cabo en una proporción sólido-líquido de 1:10, y los mejores resultados se obtuvieron a una concentración de 55% vol de EtOH y un tiempo de reacción de 60 min a 120 °C, para la obtención de azúcares totales de 98,89 mg/L. También se realizó una hidrólisis ácida para optimizar el rendimiento total de azúcares con 0,5% vol H₂SO₄, tiempo de reacción 45 min y temperatura de 100 °C (Nurfahmi et al., 2016).

La extracción de lignina con etanol, combinada con otros métodos, mejora el rendimiento y la pureza de la lignina. Por ejemplo, Florian y colaboradores (2019) demostraron que el uso de calentamiento asistido por microondas proporciona ventajas como la reducción del tiempo de calentamiento y una alta selectividad en los extractos. Además, al emplear ácido sulfúrico como catalizador, se mejoró significativamente la pureza de la lignina, reduciendo el contenido de cenizas, carbohidratos y otros residuos (Florian et al., 2019).

En la investigación realizada por Pazzaglia y colaboradores (2023), se sometieron residuos de madera a un pretratamiento mediante el proceso organosolv, utilizando un Diseño de Experimento (DoE) con el objetivo de producir una pulpa rica en celulosa para la fabricación de envases. En el proceso, se consideraron tres variables: temperatura 120-160 °C, concentración de H₂SO₄ 0,5-1,5% p/p y concentración de etanol 0,4-0,8 p/p, y el calentamiento se realizó por microondas. Las mejores condiciones para los tres factores investigados incluyeron una solución

acidificada de etanol y agua con 2% p/p H_2SO_4 y una concentración de EtOH de 0.8 p/p, durante 15 min a 160 °C. La mezcla obtenida luego de la filtración se destiló para reciclar los disolventes y recuperar la lignina, logrando aproximadamente 95 % (v/p) de etanol purificado. En promedio, el contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina obtenido en diferentes tipos de madera fue de 75,85%, 19,02% y 6,10%, respectivamente (Pazzaglia et al., 2023).

Adicionalmente, en el ámbito de la investigación, Lee y sus colaboradores (2020) estudiaron la eficiencia del método organosolv asistido por ultrasonido para el pretratamiento de RFV de palma aceitera. Los parámetros más significativos en el proceso fueron la temperatura, el tiempo y la potencia de sonicación, las cuales se analizaron mediante redes neuronales artificiales. En el experimento, se evaluaron temperaturas entre 40 °C y 60 °C, potencia ultrasónica entre el 60% (210 W) y el 100% (350 W), y concentración de etanol del 20% al 80% (v/v). Como resultado, se obtuvo un máximo de azúcares reductores de 356 mg/g de biomasa (7,12 g/L) en condiciones optimizadas de 48,2 °C, 30 minutos y 55 % (192,5 W) de potencia de sonicación (Lee et al., 2020).

7. Metodología

Durante el desarrollo experimental de este trabajo se utilizaron racimos de fruto vacíos (RFV) de palma de aceite provenientes del híbrido OxG y de *Elaeis guineensis*, suministrados por la empresa Oleoflores S.A., ubicada en Codazzi, Cesar, Colombia.

7.1 Pretratamiento de los RFV

En primer lugar, los RFV se lavaron con agua a temperatura ambiente para eliminar residuos e impurezas presentes en el material. Posteriormente, se secaron en un deshidratador

(Lassele, Corea del Sur) a 40 °C durante 3 horas. Una vez lavados y secados, los RFV se trituraron en un molino de cuchillas (SM 2000, Retsch, Alemania), y las fibras resultantes se tamizaron hasta un tamaño de aproximadamente 2 mm. Luego, se almacenaron en bolsas plásticas y se conservaron a 4 °C.

Antes de proceder con la extracción de lignina mediante el método organosolv, se realizó un análisis composicional de la biomasa que fue lavada, secada y triturada. Este análisis incluyó:

7.1.1 Determinación humedad en biomasa

Se aplicó la metodología descrita en la norma NREL/TP-510-42621 (Sluiter, Hames, Hyman, et al., 2008) para la cuantificación de la humedad en la biomasa. Según la norma, en un crisol vacío, previamente secado a 105 ± 3 °C durante 4 horas y luego pesado, se colocaron aproximadamente 0,7 g de RFV. Posteriormente, el crisol con la muestra fue llevado al horno durante 4 horas a 105 ± 3 °C. Finalizado este tiempo, se retiró del horno y se dejó enfriar en un desecador antes de ser nuevamente pesado. Este procedimiento se repitió hasta alcanzar un peso constante. El análisis se realizó por triplicado.

7.1.2 Determinación de cenizas

La cantidad de cenizas se determinó siguiendo el procedimiento establecido en la norma NREL/TP-510-42622 (Sluiter, Hames, Ruiz, Scarlata, Sluiter, & Templeton, 2008). En primer lugar, se secó un crisol en una mufla a 575 ± 25 °C durante 4 horas. Posteriormente, se dejó enfriar en un desecador y se pesó. Una vez tarado el crisol, se añadieron aproximadamente 0,8 g de RFV y se introdujo nuevamente en la mufla a 575 ± 25 °C durante 24 ± 6 horas. Al finalizar, se retiró de la mufla, se dejó enfriar en un desecador y se volvió a pesar. Este procedimiento se repitió hasta alcanzar un peso constante. El análisis se realizó por duplicado.

7.1.3 *Determinación de solubilidad de la biomasa en etanol-tolueno*

Se utilizó la metodología estipulada en la norma ASTM D1107-96 (ASTM International, 2013) para evaluar la solubilidad de la biomasa en una mezcla de etanol-tolueno. Se pesaron 4 g de RFV, los cuales se colocaron en una bolsa elaborada con papel filtro y se introdujeron en un equipo de extracción Soxhlet. La extracción se realizó con 150 mL de una solución etanol-tolueno, manteniéndose en ebullición durante 6 a 8 horas. Finalizado este tiempo, la muestra fue retirada y secada en un desecador hasta alcanzar un peso constante. El disolvente del matraz de extracción se evaporó mediante rotavapor y, una vez seco el residuo, se colocó el matraz en un horno a 105 °C durante 1 hora, se enfrió en un desecador y se pesó. Este procedimiento se repitió hasta obtener un peso constante. El análisis se realizó por duplicado.

7.1.4 *Análisis de lignina soluble e insoluble en ácido en biomasa*

El análisis de lignina soluble e insoluble en ácido se realizó de acuerdo con los métodos para biomasa establecidos en las normas TAPPI 222 (om-02) (Tappi, 2006) y NREL/TP-510-42618 (Sluiter, Hames, Ruiz, Scarlata, Sluiter, Templeton, et al., 2008). Se pesaron $2,0 \pm 0,1$ g de RFV, los cuales se añadieron a un vaso de precipitado que contenía 40 mL de una solución fría de ácido sulfúrico. El vaso se colocó en un baño a 2 ± 1 °C, y la solución ácida se incorporó gradualmente, agitando y macerando la biomasa durante el proceso. Una vez dispersa la muestra, se cubrió el vaso y se mantuvo en un baño a 20 ± 1 °C durante 2 horas, mezclando el contenido con frecuencia. Posteriormente, se adicionaron 1540 mL de agua destilada en un matraz de 2000 mL y se transfirió el contenido del vaso al matraz. La mezcla se llevó a ebullición durante 4 horas, manteniéndose el volumen constante mediante la adición de agua caliente. Finalizada la hidrólisis, se dejó reposar y se filtró al vacío con un embudo Büchner. La lignina retenida fue lavada con agua caliente y secada en un horno a 105 ± 3 °C durante 2 horas. Después del secado, se enfrió en

un desecador y se pesó la lignina insoluble en ácido. El proceso de secado se repitió hasta obtener un peso constante. El análisis se realizó por duplicado.

La lignina soluble en ácido se determinó mediante espectrofotometría UV-Visible. Para ello, se tomó una alícuota del filtrado, la cual se diluyó hasta alcanzar una absorbancia en el rango de 0,7–1,0. La medición se realizó a una longitud de onda de 240 nm.

7.1.5 *Determinación de celulosa*

Se llevó a cabo la determinación de celulosa conforme a la norma de Kurschner y Hoffer (Hessler & Merola, 1949; (Verónica Hernao & Antonio Giraldo, 2009), excluyendo el paso de adición de una solución saturada de acetato de sodio ($C_2H_3NaO_2$). En primer lugar, se pesó aproximadamente 1 g de RFV y se mezcló con 20 mL de etanol y 5 mL de ácido nítrico. Posteriormente, la mezcla fue calentada bajo reflujo durante 2 horas. Finalizado el tiempo de reacción, se extrajo la solución y se lavó la muestra con 100 mL de agua destilada caliente. La suspensión resultante se filtró al vacío y la biomasa fue lavada nuevamente con 500 mL de agua destilada. Finalmente, el residuo se secó en un horno a 105 °C, se dejó enfriar en un desecador y se pesó. El procedimiento de secado se repitió hasta alcanzar un peso constante. El análisis se realizó por duplicado.

7.1.6 *Determinación de holocelulosa*

La holocelulosa se determinó utilizando la metodología del Método Jayme-Wise (Wise et al., 1946;Konrád et al., 2018). La hemicelulosa se calculó indirectamente por diferencia, utilizando el valor de la celulosa obtenida en el análisis previo. Para este análisis, se pesaron 2,5 g de RFV en un vaso de precipitado y se adicionaron 150 mL de una solución de clorito de sodio al 1,5 % junto con 10 gotas de ácido acético concentrado. La mezcla se cubrió con un vidrio de reloj y se calentó en baño maría a 70 °C durante 45 minutos, con agitación ocasional. Posteriormente, se

retiró la solución y se repitió el procedimiento con nuevas porciones del reactivo hasta que la muestra se observó blanca. Luego, el material fue filtrado y lavado con agua destilada. Finalmente, se secó a 105 °C, se enfrió en un desecador y se pesó. El secado se repitió hasta alcanzar un peso constante. El análisis se realizó por duplicado.

7.2 Extracción de lignina organosolv y diseño experimental

La metodología de pretratamiento organosolv utilizada en este trabajo se basó en el protocolo de (Pazzaglia et al., 2023), con las adaptaciones necesarias para cumplir los objetivos específicos del estudio. El pretratamiento se llevó a cabo en un reactor de acero inoxidable de 125 mL de capacidad (modelo 4748, Parr Instrument Company, EE. UU.). Como disolvente, se emplearon agua destilada y etanol, y se utilizó ácido sulfúrico (H_2SO_4) como catalizador. La elección de disolvente y catalizador fue basada en estudios previos (Mondylaksita et al., 2020; Nurfahmi et al., 2016; Pazzaglia et al., 2023), que reportan una mayor eficiencia en la deslignificación bajo estas condiciones. La relación sólido-líquido fue 1:8, seleccionada con base en los resultados reportados por (Mondylaksita et al., 2020; Nurfahmi et al., 2016).

El estudio de la influencia de las variables experimentales en el proceso de extracción de lignina por el método organosolv se realizó mediante un diseño experimental (DoE). Para el DoE se consideraron como variables experimentales la temperatura (°C), la concentración de ácido (% p/v de H_2SO_4) y la relación etanol/agua (% v/v). Se implementó un diseño factorial de tres variables en dos niveles (2^3). Los niveles bajos y altos (-1 y +1) de cada factor se seleccionaron según datos reportados en la literatura para procesos organosolv con calentamiento convencional (Mondylaksita et al., 2020), en los cuales se observaron rendimientos óptimos.

Tabla 2

Matriz de diseño experimental (DoE) para calentamiento convencional.

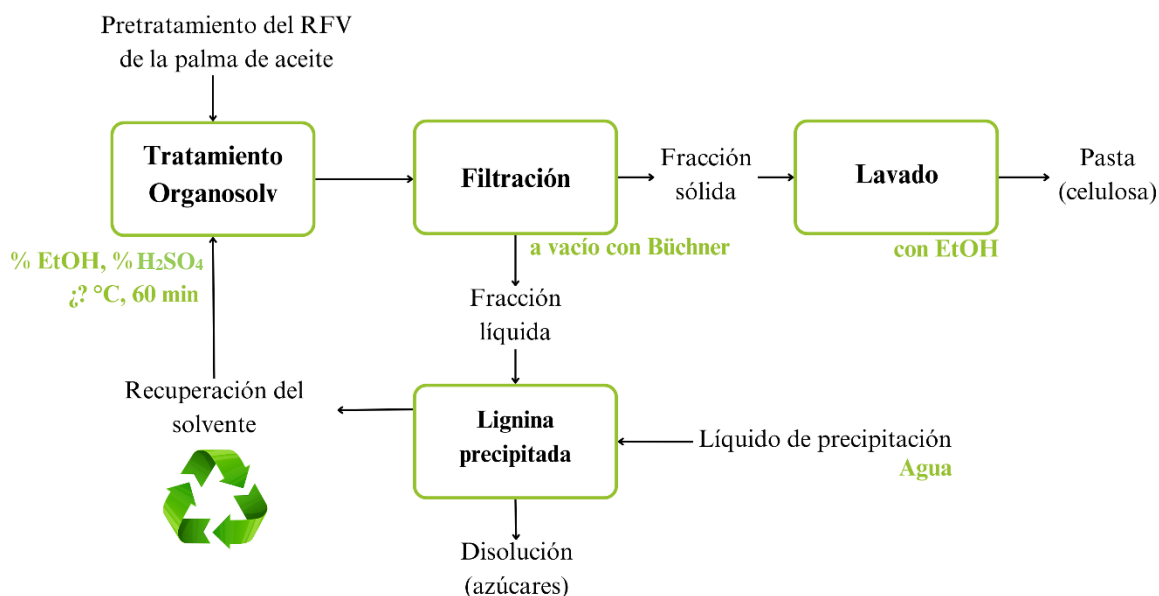
<i>Nivel</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>% H₂SO₄ (%p/v)</i>	<i>EtOH/H₂O (%v/v)</i>
-1	170	0,5	60
+1	200	1,5	80

Nota. La tabla presenta las variables experimentales utilizadas en el Diseño de Experimentos (DoE), especificando los valores correspondientes a los niveles alto y bajo: temperatura (°C), la concentración de ácido (% p/v de H₂SO₄) y concentración de etanol (% v/v).

El proceso de extracción organosolv con calentamiento convencional involucró depositar el RFV molido junto con el disolvente y el catalizador (en las concentraciones planteadas en el DoE) en un recipiente de PTFE, el cual fue introducido en un reactor de acero inoxidable y posteriormente sellado. Los pasos metodológicos siguientes se adaptaron del protocolo descrito en (Mondylaksita et al., 2020). El reactor se colocó en una estufa universal (UN30, Memmert™, Alemania) a las temperaturas establecidas en el DoE, con un tiempo de reacción de 60 minutos. Finalizada la reacción, la solución se dejó enfriar a temperatura ambiente y se realizó una filtración (papel filtro de poro 10 - 15µm) al vacío con un embudo Büchner. Para maximizar la extracción de lignina, se siguieron las etapas descritas por (Rincón, 2020) en los siguientes pasos. Durante la filtración, el material sólido fue lavado con una solución tibia de EtOH al 89%, y la lignina fue precipitada mediante la adición de tres volúmenes de agua destilada. Finalmente, la lignina extraída se recuperó por centrifugación a 7500 rpm durante 10 minutos a 25 °C y se secó en horno a 45 °C durante aproximadamente 15 horas, o hasta alcanzar un peso constante. Posteriormente, se destiló la fracción líquida para recuperar el etanol empleado, utilizando un rotoevaporador (Heidolph, EE. UU.). Los ensayos correspondientes al DoE se realizaron en duplicado para garantizar la reproducibilidad de los datos.

Figura 6

Diagrama del pretratamiento organosolv para los RFV de la palma aceitera.



Por otro lado, se realizó un ensayo en un sistema de calentamiento por microondas (Initiator⁺ Microwave System, Biotage[®], Suecia). Para ello, se agregó el RFV molido en un vial de reacción de 5 mL para microondas junto con una solución de 60% EtOH y 1,5% p/v de H₂SO₄. La temperatura se fijó en 110 °C, el tiempo de reacción fue de 20 minutos, y la relación sólido-líquido se estableció en 1:8, parámetros seleccionados en base a los resultados óptimos reportados por (Avelino et al., 2018). Después del calentamiento, se realizaron las etapas finales del Diseño de Experimentos (DoE) previamente descrito, incluyendo la filtración, precipitación, recuperación y secado de la lignina extraída.

7.3 Análisis fisicoquímico

Se evaluó el rendimiento de extracción de lignina obtenida mediante el proceso organosolv. Para ello, se aplicó la ecuación propuesta por (Marques et al., 2022):

$$R_{LE} = \left(\frac{m_{LE}}{m_L} \right) \times 100$$

donde R_{LE} es el rendimiento de lignina extraída en base seca (%), m_{LE} es la lignina recuperada obtenida después del pretratamiento en base seca (g) y m_L es la masa inicial (en base seca) de lignina en la biomasa antes del proceso (g).

7.3.1 *Análisis estadístico*

Se llevó a cabo un diseño experimental utilizando el software MINITAB[®] 22 (Minitab Ltd., Coventry, Reino Unido), para optimizar la extracción de lignina. El diseño generó un total de ocho ensayos, cada uno con duplicados, además de un punto central para evaluar la reproducibilidad del proceso.

7.3.2 *Contenido de cenizas*

El contenido de cenizas de la lignina se determinó siguiendo la norma NREL/TP-510-42622 implementada previamente. Inicialmente, el crisol se secó y pesó hasta alcanzar un peso constante. Luego, se añadieron entre 90 y 100 mg de lignina extraída en el crisol, el cual se sometió a calcinación en una mufla a 575 °C durante 18 horas. Posteriormente, las cenizas se almacenaron en un desecador durante 1 hora y se registró el peso obtenido. El contenido de cenizas de la muestra de lignina se calculó como el porcentaje de residuo en el crisol tras la combustión.

7.3.3 *Análisis de resonancia magnética nuclear (RMN)*

Para el análisis, se preparó una solución de la muestra compuesta por 759 μ L de dimetilsulfóxido (DMSO) y 40 mg de lignina organosolv. Los espectros de HSQC fueron obtenidos utilizando resonancia magnética nuclear bidimensional (2D-RMN) (UltraShield 400 MHz, Bruker, EE. UU.). El análisis de datos se realizó utilizando MestReNova v. 14.3.

7.3.4 Análisis por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

Se llevó a cabo el análisis utilizando un espectrofotómetro FT-IR (FT/IR-4X Spectrometer, JASCO Inc., Japón). Los parámetros instrumentales fueron seleccionados siguiendo las especificaciones de (Marques et al., 2022). La región espectral explorada abarcó de 4000 a 400 cm^{-1} y con una resolución de 4 cm^{-1} . Los datos FTIR se procesaron y analizaron utilizando el software Spectra Manager™ Suite (JASCO Inc., Japón).

7.3.5 Solubilidad de la lignina en diferentes solventes

Para evaluar la solubilidad de la lignina organosolv, se disolvió 1 mg de muestra en 1 ml de diferentes solventes, incluyendo agua destilada, etanol, una solución al 10% de hidróxido de sodio, ácido sulfúrico, diclorometano, heptano y tolueno. Esta selección de solventes permite caracterizar la solubilidad de la lignina en medios de diversas polaridades y pH.

7.3.6 Determinación de carbohidratos estructurales y lignina en biomasa:

La composición de carbohidratos estructurales, lignina, humedad y cenizas fueron determinados tanto en la lignina extraída como en la pulpa de celulosa residual tras el proceso organosolv, de acuerdo con los procedimientos especificados en la norma NREL/TP-510-42618 (Sluiter, Hames, Ruiz, Scarlata, Sluiter, Templeton, et al., 2008).

Para el análisis de carbohidratos estructurales, se modificaron las condiciones del análisis por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) (Shimadzu, Japón). La separación de carbohidratos y ácidos orgánicos presentes en las muestras fue realizada utilizando una columna SUPELCOGEL™ C-610H (Sigma-Aldrich Co. LLC, EE. UU.). Las condiciones experimentales incluyeron un volumen de inyección de 10 μL , con ácido fosfórico al 0.1% como fase móvil, un flujo de 0,6 mL/min y una temperatura de columna de 30 °C, con un tiempo de ejecución total de

15 minutos. Se utilizó un detector de índice de refracción (RID-20A, Shimadzu, Japón) para cuantificar los compuestos.

8. Resultados y discusión

Esta investigación se enfocó en la optimización del proceso organosolv para la obtención de lignina, mientras que los factores que influyen en la recuperación de celulosa y hemicelulosa fueron menos estudiados. El tratamiento organosolv involucra múltiples parámetros, entre ellos el tipo y la concentración del solvente, la adición, concentración y tipo de catalizador, la temperatura, el tiempo de calentamiento, la relación sólido/líquido, el tamaño de partícula de la biomasa y el diseño del reactor de pretratamiento. Sin embargo, dado que estudios previos ya han evaluado la mayoría de estos factores en racimos de fruto vacíos (RFV) de palma de aceite, en este trabajo solo se analizaron la temperatura, la concentración del solvente y la del catalizador, cuyos efectos no habían sido estudiados en dicho trabajo (Mondylaksita et al., 2020).

El etanol se seleccionó como disolvente debido a su amplio uso en procesos organosolv, atribuido a su baja toxicidad, asequibilidad y capacidad de recuperación. Además, estudios previos han reportado tasas de deslignificación entre 45 y 96%, lo que demuestra su eficacia en el procesamiento de diferentes biomásas, incluidos residuos agroindustriales (Rabelo et al., 2023). A nivel industrial, la recirculación del etanol en sistemas organosolv es viable mediante columnas de destilación y evaporadores; sin embargo, su bajo punto de ebullición y su inflamabilidad representan desafíos operacionales, requiriendo estrictas medidas de seguridad para prevenir accidentes. Asimismo, el uso de reactores de alta presión incrementa significativamente los costos

de inversión (Rabelo et al., 2023). Alternativamente, disolventes con puntos de ebullición elevados presentan dificultades en su recuperación, lo que limita su aplicación a escala industrial.

El método organosolv representa una estrategia prometedora para la valorización de los RFV de palma de aceite. No obstante, aún presentan grandes desafíos para que el proceso pueda consolidarse a escala industrial. Uno de los principales obstáculos radica en la determinación de condiciones de fraccionamiento que permitan la valorización eficiente de todas las fracciones obtenidas. La mayoría de los estudios se han centrado en la recuperación de celulosa, mientras que las condiciones óptimas para maximizar la pureza y recuperación de lignina han sido menos exploradas.

La composición de los RFV se presenta en la **Tabla 3**. El contenido de lignina medido en este trabajo es de 21,39%, un valor consistente con los reportados en la literatura para esta biomasa.

Tabla 3

Análisis composicional de los RFV antes de realizar el tratamiento organosolv.

<i>Componente</i>	<i>Porcentaje (%)</i>	<i>Porcentaje (%) registrado en la literatura</i>	<i>Referencia</i>
<i>Humedad</i>	8,08	7	(Mondylaksita et al., 2020)
<i>Residuos Sólidos</i>	91,92	-	-
<i>Cenizas</i>	1,92	3,72 ± 0,07	(Mondylaksita et al., 2020)
<i>Extractivos</i>	5,62	6.3 ± 0.9	(Avelino et al., 2019)
<i>Celulosa</i>	33,68	40,09 ± 0,01	(Mondylaksita et al., 2020)
<i>Hemicelulosa</i>	29,31	23,94 ± 0,02	(Mondylaksita et al., 2020)
<i>Lignina insoluble</i>	21,39	21,77 ± 0,27	(Mondylaksita et al., 2020)
<i>Lignina soluble</i>			

8.1 Optimización del proceso organosolv

Los resultados del rendimiento de extracción de la lignina obtenida mediante el proceso organosolv y las variables estudiadas en el diseño de experimentos (DoE) se resumen en la **Tabla 4**. El análisis estadístico de los datos de rendimiento de extracción fue realizado con el software Minitab[®], y los resultados se presentan en **Tabla 5**.

Tabla 4

Variables del diseño experimental (DoE) y rendimiento de extracción de lignina organosolv.

<i>Experimento</i>	<i>Variables</i>			<i>Rendimiento de extracción (%)</i>
	T (°C)	H ₂ SO ₄ (% p/v)	EtOH (% v/v)	
<i>1</i>	170	0,5	60	19,68 ± 8,37
<i>2</i>	200	0,5	60	17,91 ± 4,06
<i>3</i>	170	1,5	60	41,04 ± 7,42
<i>4</i>	200	1,5	60	51,65 ± 0,06
<i>Centro</i>	185	1	70	54,46 ± 7,11
<i>5</i>	170	0,5	80	9,26 ± 0,66
<i>6</i>	200	0,5	80	32,36 ± 6,26
<i>7</i>	170	1,5	80	12,50 ± 3,81
<i>8</i>	200	1,5	80	49,54 ± 7,78
<i>Microondas</i>	110	1,5	60	50,45 ± 4,35

Nota. Todos los experimentos fueron realizados por duplicado, y se reporta el valor promedio junto con la desviación estándar.

En la **Tabla 4** se observa la desviación estándar en el rendimiento de extracción, la cual refleja la magnitud de los errores aleatorios en el experimento. Estos pueden originarse por diversos factores, como variaciones en las condiciones experimentales y diferencias en la manipulación por parte del operador. En este caso, las mayores desviaciones se presentaron en los ensayos donde el proceso de precipitación de la lignina fue más complejo, probablemente debido a condiciones no óptimas que dificultaron su separación efectiva (Mondylaksita et al., 2020). Esto

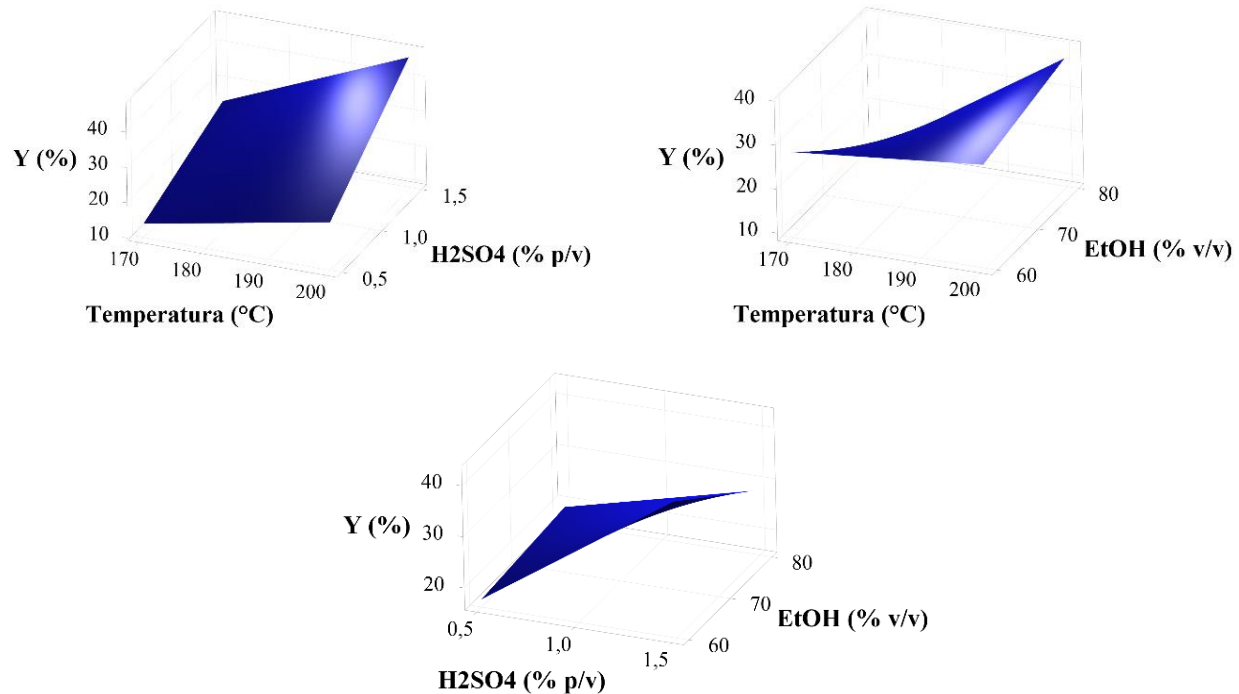
sugiere que la variabilidad en los resultados está asociada tanto a la sensibilidad del proceso como a posibles inconsistencias durante su ejecución. Por ejemplo, en los ensayos por debajo del punto central (experimentos 1 y 3), se observó un aumento en la desviación bajo condiciones no óptimas de concentración de ácido y temperatura, lo cual coincidió con una mayor complejidad en el proceso de precipitación de la lignina.

En este estudio, el coeficiente de determinación (R^2) para el rendimiento de extracción fue de 0,95, con un intervalo de confianza del 95% ($\alpha = 0,05$). Este valor indica un ajuste significativo del modelo y una alta capacidad predictiva, lo que permite describir con buena precisión las tendencias observadas en los datos experimentales.

El análisis de los parámetros del tratamiento organosolv reveló que la concentración de ácido y la temperatura influyeron significativamente en el rendimiento de extracción de lignina a partir de RFV de palma de aceite. En particular, la temperatura mostró un efecto lineal positivo, evidenciando que su incremento favoreció la extracción de lignina. Informes previos han reportado que la temperatura óptima depende del tipo y concentración del solvente empleado (Rincón, 2020). Los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con investigaciones previas. Mondylaksita et al., 2020 reportaron un aumento en la recuperación de lignina al incrementar la temperatura de 180 a 210 °C utilizando etanol al 50% (v/v) y ácido sulfúrico como catalizador. Sin embargo, no se observaron mejoras significativas en la extracción cuando la temperatura se incrementó a 220 °C.

Figura 7

Gráficas de superficie del rendimiento de extracción.

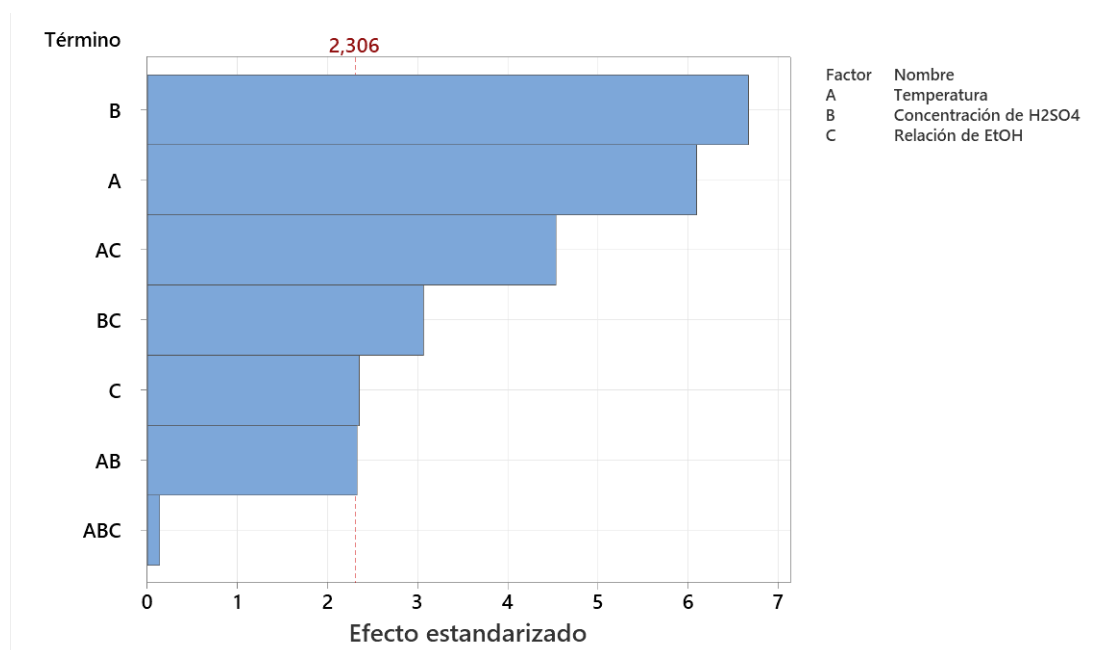


Nota. La figura muestra los efectos de las variables de temperatura (°C), la concentración de ácido (% p/v de H₂SO₄) y la concentración de etanol (% v/v) en el rendimiento (Y) de extracción de lignina organosolv.

Asimismo, la concentración de ácido presentó un efecto lineal positivo y se identificó como la variable con mayor impacto en el rendimiento, en comparación con las demás. Esto sugiere que la eficiencia del proceso está altamente correlacionada con la cantidad de ácido presente como catalizador. La **Figura 7** muestra el diagrama de Pareto, donde se observa que esta variable jugó el papel más importante en la extracción de lignina al tener el efecto mayor. En este diagrama se observa el umbral de significancia estadística, representado por la línea de referencia (línea vertical roja), para los efectos con mayor y menor influencia en el proceso.

Figura 8

Diagrama de Pareto de efectos estandarizados para el rendimiento de extracción de lignina organosolv.



En contraste, la concentración de etanol exhibió un efecto cuadrático negativo, lo que indica la presencia de un punto óptimo dentro del intervalo evaluado. Se observó que concentraciones moderadas de etanol favorecieron el rendimiento de extracción hasta un punto crítico, a partir del cual su incremento produjo una disminución en la recuperación de lignina. Investigaciones anteriores han señalado que concentraciones de etanol superiores al 70% en mezclas con agua reducen la solubilidad de la lignina, mientras que concentraciones inferiores aumentan la actividad del agua, junto con la concentración de iones hidronio, promoviendo la hidrólisis ácida de los enlaces de la lignina y la hidrólisis de carbohidratos (Asadi & Zilouei, 2017). Se ha reportado que el parámetro de solubilidad de la lignina se asemeja al de soluciones de etanol y agua cuando la concentración de etanol se encuentra alrededor del 70% (Ni & Hu, 1995). Este comportamiento fue evidenciado en el presente estudio, donde el mayor rendimiento (54,46%) se

obtuvo bajo las condiciones experimentales de 185 °C, 1% p/v de H₂SO₄ y 70% de EtOH. En este experimento, la concentración de etanol pudo haber tenido una influencia predominante, posiblemente debido a un aumento en la solubilidad del disolvente con la lignina.

El análisis estadístico evidenció que la concentración de ácido y la temperatura tienen un impacto significativamente mayor en el rendimiento de extracción en comparación con la concentración de etanol. Esta tendencia se confirmó mediante los valores de *p* obtenidos (*p* = 0,000; **Tabla 5**), lo que indica una influencia estadísticamente significativa de estos parámetros en el proceso. Además, se observó que cuando el parámetro de solubilidad de la lignina es más cercano al del solvente empleado, el rendimiento de extracción aumenta. Esto sugiere que la solubilidad de la lignina en el disolvente desempeña un papel clave en la eficiencia del tratamiento organosolv.

Tabla 5

Análisis de varianza (Minitab) del rendimiento de extracción.

<i>Fuente</i>	<i>GL</i>	<i>SC Ajust.</i>	<i>MC Ajust.</i>	<i>Valor F</i>	<i>Valor p</i>
<i>Modelo</i>	8	3775,89	471,99	17,65	0,000
<i>Lineal</i>	3	2330,84	776,95	29,06	0,000
<i>Temperatura</i>	1	993,2	993,2	37,14	0,000
<i>EtOH</i>	1	147,74	147,74	5,53	0,047
<i>H₂SO₄</i>	1	1189,91	1189,91	44,5	0,000
<i>Interacciones de 2 términos</i>	3	944,86	314,95	11,78	0,003
<i>Temperatura*EtOH</i>	1	549,2	549,2	20,54	0,002
<i>Temperatura*H₂SO₄</i>	1	144,6	144,6	5,41	0,049
<i>EtOH*H₂SO₄</i>	1	251,06	251,06	9,39	0,015
<i>Interacciones de 3 términos</i>	1	0,51	0,51	0,02	0,893
<i>Temperatura*EtOH*H₂SO₄</i>	1	0,51	0,51	0,02	0,893
<i>Curvatura</i>	1	499,67	499,67	18,69	0,003
<i>Error</i>	8	213,91	26,74		
<i>Total</i>	16	3989,8			

Nota. Esta tabla muestra los grados de libertad (**GL**), suma de cuadrados (**SC**), cuadrados medios (**MC**), el valor F que mide la relación entre la variabilidad y valor p que evalúa la probabilidad de obtener un resultado igual o más extremo que el observado.

Por otro lado, se observó que una fracción de lignina se perdió durante las etapas de precipitación y centrifugación, lo cual podría estar relacionado con las propiedades químicas de esa fracción. La eficiencia del disolvente utilizado en la precipitación puede ser específico para ciertas fracciones de la lignina (Mondylaksita et al., 2020). Se ha informado que ligninas de menor peso molecular, con altos contenidos de grupos metoxilo e hidroxilo fenólico, presentan una menor eficiencia de precipitación en presencia de antidisolventes como el agua (Zhu et al., 2014). Esto es consistente con observaciones previas que indican que condiciones de tratamiento más severas pueden fragmentar la lignina en estructuras de menor tamaño y mayor solubilidad (Asadi & Zilouei, 2017). En futuras investigaciones, se recomienda considerar este parámetro para optimizar la recuperación de lignina.

Finalmente, se evaluó la eficiencia de extracción bajo condiciones de calentamiento por microondas. Se obtuvo un rendimiento del 50,45% utilizando 60% EtOH, 1,5% p/v de H₂SO₄ y 110 °C durante 20 minutos. Este resultado es comparable con el rendimiento del 51,65% obtenido bajo condiciones similares, pero empleando calentamiento convencional a 200 °C durante 60 minutos (experimento 4). En comparación con métodos tradicionales de calentamiento por convección en horno o baño de aceite, la irradiación por microondas se presenta como una alternativa prometedora para la extracción de lignina. Este método se perfila como una estrategia sostenible, ya que permite reducir el tiempo de reacción y el consumo energético, sin comprometer la eficiencia del proceso.

8.2 Características de la lignina

Para el desarrollo de estrategias de valorización de la lignina, es fundamental determinar su estructura y composición. Estas propiedades dependen tanto de la fuente de origen (madera blanda, madera dura o biomasa herbácea) como del método de extracción utilizado. La recuperación de lignina desde su matriz natural implica la aplicación de reactivos básicos/ácidos, solventes o enzimas que inducen la ruptura de enlaces químicos, favoreciendo la solubilización del polímero. Este proceso modifica la estructura nativa y genera alteraciones químicas en la estructura por lo que la lignina resultante se denomina lignina técnica.

La composición monomérica de la lignina varía según la fuente vegetal. La lignina extraída de gimnospermas (maderas blandas) está constituida principalmente por unidades de guaiacil, caracterizadas por un bajo contenido de grupos metoxi y una estructura altamente condensada (Vaidya et al., 2022). En contraste, la lignina de angiospermas (maderas duras) contiene una proporción variable de unidades de guaiacil y siringil. Por otro lado, la lignina de biomasa herbácea presenta una composición más heterogénea, integrada por unidades de *p*-hidroxifenil, guaiacil y siringil, con una mayor presencia de unidades *p*-hidroxifenil (Suota et al., 2021). Se ha demostrado que la presencia de unidades metoxiladas de siringil en la lignina de angiospermas incrementa su susceptibilidad a la hidrólisis durante los procesos de deslignificación (Chiang & Funaoka, 1990).

En este estudio, la lignina fue extraída de racimos de fruto vacíos (RFV) de palma de aceite, una especie perteneciente a la familia de las monocotiledóneas dentro del grupo de angiospermas. Investigaciones previas han demostrado que la lignina acetosolv obtenida a partir de RFV de palma de aceite está compuesta principalmente por unidades de siringil y guaiacil (YAAKOB et al., 2021). Adicionalmente, Marques et al., 2022 caracterizaron la lignina etanosolv extraída de la fibra

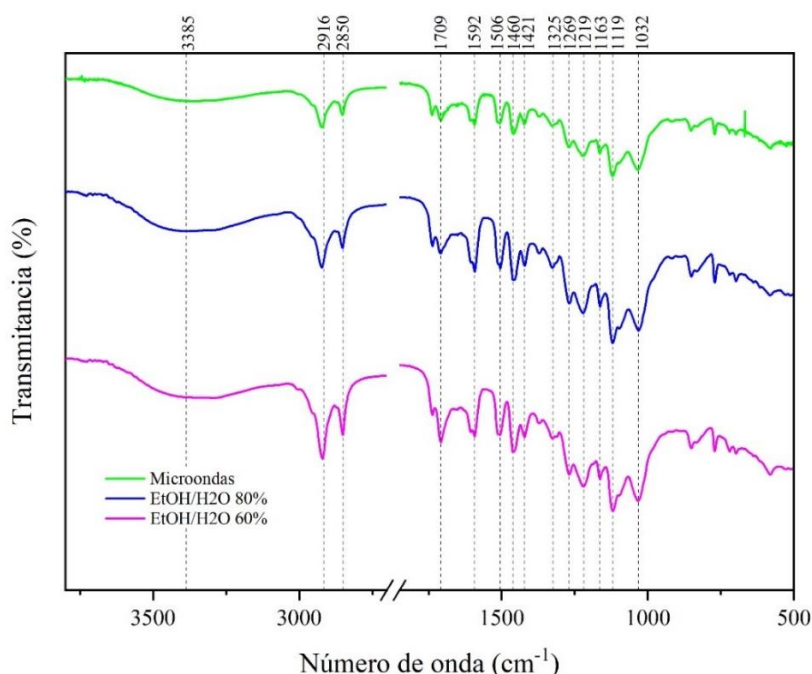
de mesocarpio de palma de aceite mediante espectroscopia bidimensional 2D-HSQC, determinando que su composición monomérica relativa correspondía a 55,9% guayacilo (G), 24,0% siringil (S) y 20,1% *p*-hidroxifenil (H).

8.2.1 Estructura y composición de la lignina

La caracterización estructural de las ligninas obtenidas se realizó inicialmente mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). La **Figura 9** muestra los espectros FTIR de las ligninas organosolv extraídas bajo condiciones de 200 °C, 1,5% p/v de H₂SO₄ y diferentes concentraciones de EtOH: 60% (línea rosada), 80% (línea azul) y 60% con calentamiento por microondas a 110 °C (línea verde).

Figura 9

Espectros FTIR de las ligninas obtenidas a 1,5% p/v de H₂SO₄ y 200 °C, con concentraciones de EtOH del 60% y 80%, así como de la lignina obtenida con 60% EtOH, 1,5% p/v de H₂SO₄ y 110 °C mediante calentamiento por microondas.



El análisis espectral reveló una banda ancha en 3385 cm^{-1} , atribuida a las vibraciones de estiramiento O-H de grupos hidroxilo alifáticos y fenólicos. Las señales en 2916 y 2850 cm^{-1} correspondieron a las vibraciones de tensión C-H de grupos metilo y metileno, y a las del grupo metoxi, respectivamente. Adicionalmente, se identificaron bandas en 1709 y 1163 cm^{-1} , asociadas al estiramiento C=O de cetonas no conjugadas, carbonilos, ésteres, aldehídos y ácidos carboxílicos conjugados (Bauer et al., 2012). La presencia de estas señales sugiere la retención de carbohidratos residuales en la lignina, formando complejos lignina-carbohidrato (LCC) mediante enlaces éster (Avelino et al., 2019). En concordancia, El Hage et al., 2010 atribuyeron la señal en 1705 cm^{-1} a la formación de cetonas de Hibbert, generadas por reacciones de deshidratación en la cadena lateral bajo condiciones de alta severidad en el proceso organosolv.

Se detectaron señales características de la lignina en 1592 , 1506 y 1421 cm^{-1} , correspondientes a vibraciones en los anillos aromáticos, mientras que el estiramiento C-C, C-O y C=O del anillo se identificó en 1219 cm^{-1} . Además, se registraron vibraciones de deformación C-H en 1460 cm^{-1} , junto con señales de vibraciones del anillo aromático en unidades S y G condensadas a 1325 cm^{-1} y unidades G a 1269 cm^{-1} . Las deformaciones de flexión C-H en el plano de los anillos aromáticos de los monómeros S y G se localizaron en 1119 y 1032 cm^{-1} , respectivamente.

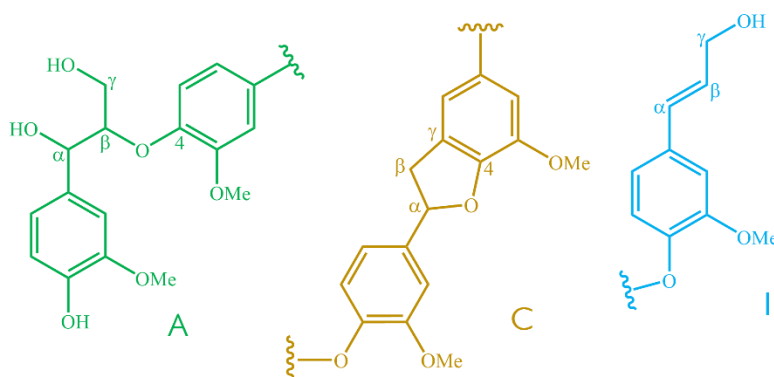
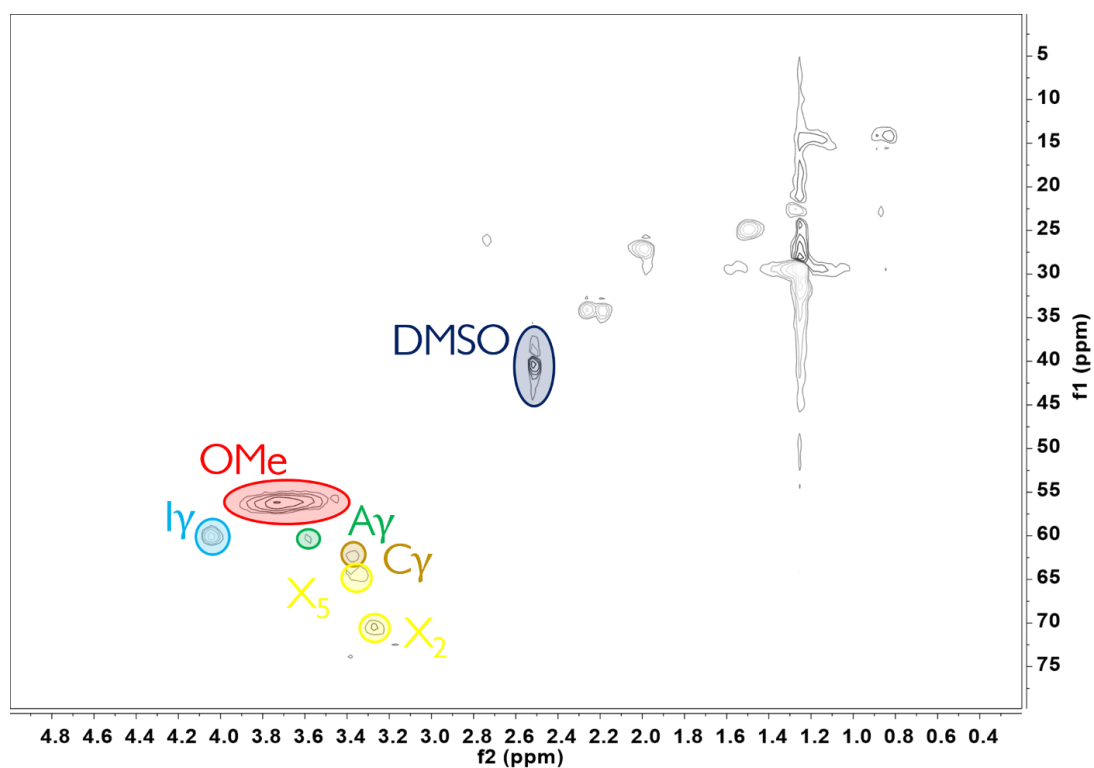
Los espectros FTIR de las ligninas obtenidas con diferentes concentraciones de EtOH mostraron una alta similitud, sin diferencias significativas en las bandas asociadas a las estructuras de los monómeros S y G, lo que sugiere una relación G/S comparable. No obstante, se observó un incremento en la intensidad de las bandas ubicadas en 1709 y 1163 cm^{-1} en las ligninas extraídas mediante calentamiento convencional, particularmente en la obtenida con 60% EtOH. Este comportamiento sugiere una posible mayor retención de carbohidratos residuales en estas

condiciones. Por otro lado, la lignina obtenida bajo calentamiento por microondas a 110 °C mostró una menor intensidad en dichas bandas, lo que indica que este método genera ligninas con menor contenido de residuos. Estos resultados demuestran que la técnica de extracción influye en la composición y pureza de las ligninas obtenidas.

La lignina organosolv también se analizó mediante RMN de coherencia cuántica única heteronuclear bidimensional (2D-HSQC). La caracterización permitió identificar las unidades estructurales de la lignina mediante la correlación de desplazamientos químicos de protones y carbonos (^1H - ^{13}C). La información estructural para la región alifática oxigenada ($\delta_{\text{C}}/\delta_{\text{H}}$ 75–50/4,2–3,2 ppm) se muestra en la **Figura 10**. En esta región se identificaron señales correspondientes a metoxilos (**OMe**) y enlaces β -O-4'. Se detectaron enlaces β -aril éter no acetilado (**A γ**), señales de enlaces C γ -H γ en fenilcumarano (**C γ**) y en los grupos terminales del alcohol cinamílico (**I γ**).

Figura 10

Región alifática oxigenada del espectro 2D-HSQC correspondiente a la lignina organosolv obtenida (60% EtOH, 1,5% p/v de H₂SO₄ y 200 °C) a partir de racimos de fruto vacíos (RFV) de palma de aceite. En el espectro se identifican las principales estructuras presentes en la lignina: (A) alquil-aril éteres β -O-4, (C) fenilcumaranos, (I) grupos terminales de alcohol cinamílico y (X) enlaces β -D-xilopiranosido.



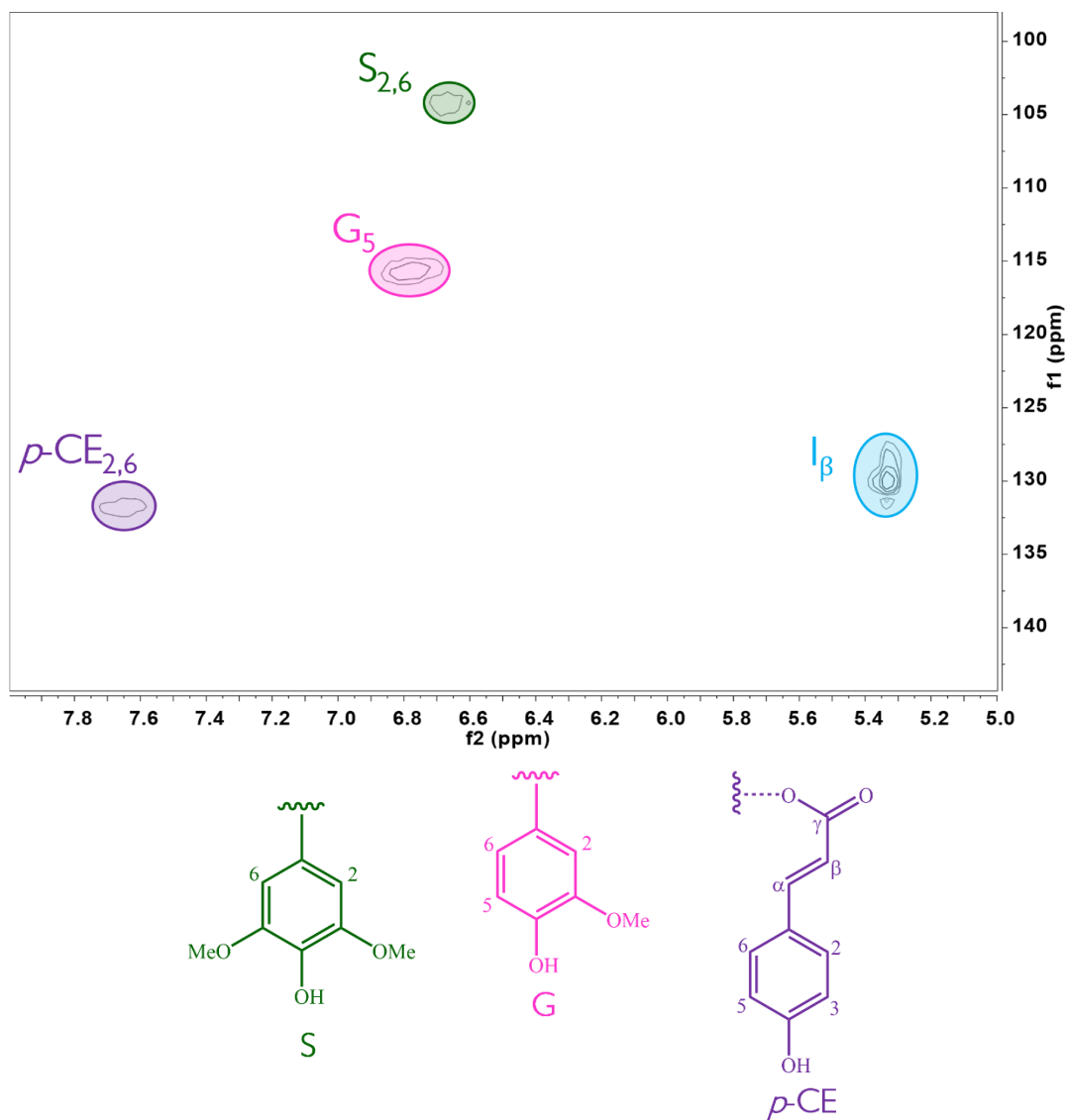
En la región de δ_C/δ_H 71–62/3,4–3,2 ppm, dominada por correlaciones de hemicelulosa, se identificaron dos señales representativas de los enlaces β -D-xilopiranosido en C₅-H₅ y C₂-H₂, asociados al complejo lignina-carbohidrato (LCC). Estos resultados sugieren que la delignificación no fue completa y que el xilano permaneció ligado a la lignina mediante enlaces covalentes. Señales similares se observaron en el estudio de Jiang et al., 2018, donde se presentaron

correlaciones C₂-H₂, C₃-H₃ y C₄-H₄ de β-D-xilopiranosido en X₂ (δ_C/δ_H 72,6/3,05), X₃ (δ_C/δ_H 73,8/3,25) y X₄ (δ_C/δ_H 75,4/3,53) en cáscaras de Ginkgo.

En la **Figura 11** se muestra la región aromática (δ_C/δ_H 135–100/8,0–6,0 ppm), donde se identificaron señales correspondientes a anillos aromáticos y cadenas laterales insaturadas de unidades guaiacil (**G**) y siringil (**S**). Además, se detectó una señal asociada a estructuras *p*-cumarato (**p-CE**), cuya presencia confirmó la existencia de carbohidratos ligados a la lignina (Marques et al., 2022). Se observaron también grupos terminales de alcohol cinámico (**I_β**), pero en esta ocasión se detectaron los enlaces C_β-H_β provenientes de las cadenas laterales insaturadas.

Figura 11

*Región aromática del espectro 2D-HSQC correspondiente a la lignina organosolv obtenida (60% EtOH, 1,5% p/v de H₂SO₄ y 200 °C) a partir de racimos de fruto vacíos (RFV) de palma de aceite. En el espectro se identifican las principales estructuras presentes en la lignina: (**S**) unidades de siringil, (**G**) unidades de guaiacil, (**p-CE**) *p*-cumaratos y (**I**) grupos terminales de alcohol cinámico.*



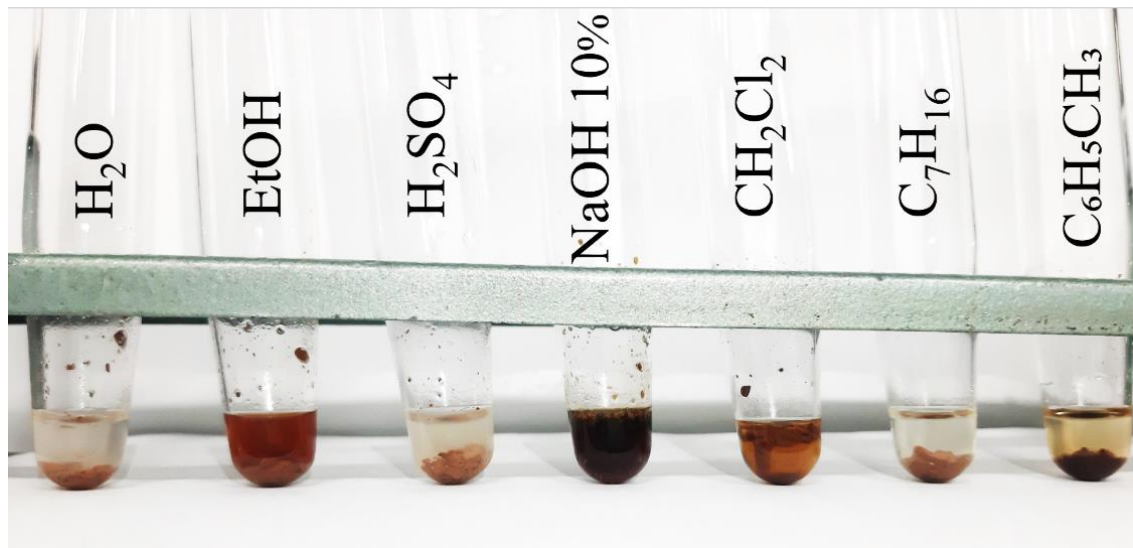
8.2.2 Solubilidad de la lignina

La lignina es de naturaleza anfifílica, caracterizada por la presencia de regiones alifáticas, hidroxilos y grupos éter, entre otros. Debido a esta estructura, los solventes pueden interactuar tanto con las regiones polares como con las no polares de la macromolécula, lo cual ha sido estudiado mediante simulaciones de dinámica molecular (Smith et al., 2016). Además, la naturaleza amorfa de la lignina puede afectar significativamente las interacciones intermoleculares con los solventes, disminuyendo así su solubilidad. Dependiendo del solvente, las interacciones π -

π , interacciones hidrofóbicas, enlaces de hidrógeno y fuerzas de van der Waals pueden ser responsables de la agregación y ensamblaje de las estructuras de lignina (Mishra & Ekielski, 2019). En particular, los enlaces de hidrógeno débiles parecen ser determinantes en el ensamblaje de las moléculas de lignina (Nishio, 2011).

Figura 12

Ensayo de solubilidad para lignina organosolv obtenida a 60% EtOH, 1,5% p/v de H₂SO₄ y 200 °C a partir de racimos de fruto vacíos (RFV) de palma de aceite.



La solubilidad de la lignina depende de su tipo, así como de los solventes y reactivos empleados durante el proceso de deslignificación. La lignina organosolv presenta en su estructura grupos hidroxilos tanto en fenoles como en cadenas alifáticas, además de grupos metoxilo. Estos grupos pueden formar interacciones con disolventes polares (como etanol, acetona y metanol), facilitando su disolución (Schieppati et al., 2023). Por esta razón, la lignina organosolv es prácticamente insoluble en disolventes no polares (como heptano y tolueno) debido a los oxígenos y grupos polares presentes en su estructura. En medios ácidos, la lignina organosolv tiende a

precipitar, mientras que en medios alcalinos su solubilidad aumenta debido a la ionización de los grupos fenólicos, lo que incrementa su afinidad por el medio acuoso. La lignina organosolv muestra una alta solubilidad en dimetilsulfóxido (DMSO), Vermaas et al., 2020 cuantificaron la relación entre la expansión de los biopolímeros y la polaridad del solvente a temperatura ambiente, demostrando que una polaridad intermedia, comparable a la del DMSO, favorece la expansión y solvatación del polímero.

8.2.3 Carbohidratos residuales

La lignina se encuentra conectada principalmente a través de enlaces covalentes (éster fenílico (γ -éster), éter bencílico (BE) y glicósido fenílico (PhGly)) con la hemicelulosa. Por lo tanto, el paso más crítico en la extracción de lignina es la escisión de los complejos lignina-carbohidrato (LCC) (Lou et al., 2023). Como se ha mencionado, la obtención de lignina requiere la disrupción de la estructura lignocelulósica; sin embargo, esta tarea es desafiante debido a que la lignina es un polímero altamente complejo y reticulado, con sitios de polimerización aleatorios entre monómeros sin una estructura fija. Además, se encuentra entrelazada con hemicelulosa y celulosa a través de enlaces de hidrógeno y covalentes, lo que puede inducir cambios estructurales durante el tratamiento.

El tratamiento organosolv da como resultado una fracción sólida rica en celulosa y una fracción líquida compuesta principalmente por lignina. Dependiendo de las condiciones del tratamiento, los polisacáridos de celulosa y hemicelulosa son hidrolizados en oligosacáridos y monosacáridos, lo que provoca que ambas fracciones presenten distintas concentraciones de celulosa, hemicelulosa y lignina (Rabelo et al., 2023). La **Tabla 6** presenta los porcentajes de composición de carbohidratos estructurales, lignina, humedad y cenizas tanto en la lignina extraída como en la pulpa de celulosa residual tras el proceso.

Tabla 6

Resultados del análisis NREL/TP-510-42618 para la fracción sólida (FS), rica en celulosa, y una fracción líquida (FL), compuesta principalmente por lignina, obtenidas a 60% EtOH, 1,5% p/v de H₂SO₄ y 200 °C después del tratamiento organosolv.

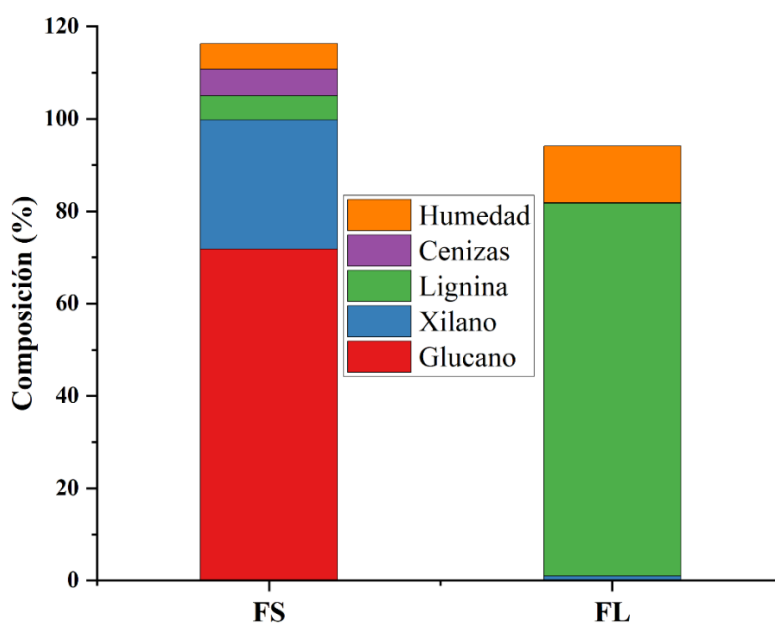
Compuesto	FS (%)	FL (%)	Referencia (Mondylaksita et al., 2020)	
			FS (%)	FL (%)
Glucano	71,82 ± 3,56	-	74,16 ± 0,52	10,11 ± 0,08
Xilano	27,94 ± 0,21	0,95 ± 0,11	8,28 ± 0,06	7,79 ± 0,06
Lignina	5,26 ± 1,30	80,78 ± 1,10	5,09 ± 0,48	70,56 ± 4,48
Cenizas	5,69 ± 0,03	0,09 ± 0,04	3,23 ± 0,34	1,87 ± 0,00
Humedad	5,55±0,50	12,28±1,44	-	-

El tratamiento organosolv promueve la solubilización de la lignina y de la hemicelulosa, compuesta principalmente por xilosa, razón por la cual gran parte se encuentra en la fracción líquida. En este estudio, se observó un contenido de xilano del 0,95% en la lignina obtenida, mientras que no se detectó glucano, lo que sugiere que algunos enlaces covalentes entre la lignina y los carbohidratos permanecieron después de la extracción. La presencia de estos residuos se confirmó mediante espectroscopia FTIR, observándose bandas en 1709 y 1163 cm⁻¹, atribuidas a estiramientos C=O de grupos éster, y mediante espectroscopia 2D-HSQC, identificándose enlaces β-D-xilopiranosido en la región de δ_C/δ_H 71–62/3,4–3,2 ppm y estructuras *p*-cumarato. Para esta fracción rica en lignina también se cuantificó un contenido de cenizas del 0,09% y una humedad del 12,28%, lo que indica un alto grado de pureza y sugiere su viabilidad para aplicaciones específicas. Por otro lado, la hemicelulosa soluble no se recupera completamente mediante una sola técnica debido a las variaciones en su tamaño molecular, lo que hace que su procesamiento posterior sea económicamente inviable (Rabelo et al., 2023).

Gran parte de la celulosa permanece en la fracción sólida debido a su alta estabilidad estructural, conferida por su organización cristalina y su protección dentro de las paredes celulares de la planta por la hemicelulosa, pectina y lignina (Rincón, 2020). Como se mencionó anteriormente, la recuperación de celulosa no fue el objetivo de este estudio; sin embargo, se determinó un contenido de glucano del 71,82%, xilano del 27,94% y lignina del 5,26% en la fracción sólida. En tratamientos organosolv más severos, el contenido de celulosa aumenta. Pazzaglia et al., 2023 estudiaron el tratamiento organosolv aplicado a residuos de madera con el propósito de producir una pulpa rica en celulosa, encontrando que en condiciones más suaves la extracción de lignina, hemicelulosa, cenizas y extractivos es menor, lo que se traduce en un menor enriquecimiento en celulosa.

Figura 13

Resultados del análisis NREL/TP-510-42618 para la fracción sólida (FS), rica en celulosa, y una fracción líquida (FL), compuesta principalmente por lignina, obtenidas a 60% EtOH, 1,5% p/v de H₂SO₄ y 200 °C después del tratamiento organosolv.



9. Conclusiones

Mediante DoE se encontró que la concentración del catalizador y la temperatura son las variables con mayor influencia en el rendimiento de extracción de lignina mediante el tratamiento organosolv, en comparación con la concentración de etanol. No obstante, se alcanzó un máximo rendimiento de extracción del 54,46% bajo condiciones de 185 °C, 1% p/v de H₂SO₄ y 70% de EtOH, lo que sugiere que, cuando la solubilidad del solvente se asemeja al de la lignina, su concentración se convierte en un factor determinante en el proceso. Adicionalmente, el calentamiento por microondas se presentó como una estrategia eficiente para reducir tanto el tiempo de reacción como el consumo energético, favoreciendo la sostenibilidad del procedimiento.

El análisis estructural de la lignina organosolv mediante FTIR y 2D-HSQC permitió identificar unidades monoméricas de guaiacil y siringil, así como la presencia de componentes lignocelulósicos residuales. La detección de enlaces β-D-xilopiranosido evidenció la persistencia de interacciones covalentes con carbohidratos, principalmente hemicelulosa. Adicionalmente, la señal asociada a estructuras *p*-cumarato sugirió la presencia de carbohidratos en la lignina extraída. Los estudios de solubilidad revelaron que la lignina organosolv obtenida posee una afinidad significativa por solventes con grupos polares y apolares, lo que se atribuye a su naturaleza anfifílica. En este estudio, se observó una mayor solubilidad en hidróxido de sodio (NaOH) y dimetilsulfóxido (DMSO). Asimismo, la pureza del biopolímero fue alta, con valores de xilosa residual del 0,95% y cenizas del 0,09%.

Los resultados obtenidos proporcionan información clave para el desarrollo de estrategias de valorización de la lignina, facilitando su aplicación en materiales funcionales y en productos

químicos de alto valor agregado. Sin embargo, su implementación a escala industrial requiere una optimización adicional de los procesos de extracción, con el fin de preservar su estructura química y mejorar su compatibilidad en aplicaciones específicas.

10. Recomendaciones

Para futuras investigaciones, se sugiere evaluar la pérdida de lignina durante las etapas de precipitación, considerando diferentes tipos y concentraciones de solventes que optimicen el rendimiento de recuperación sin comprometer en gran medida la integridad estructural del polímero. Además, resulta pertinente analizar las características estructurales de las ligninas obtenidas por el método organosolv bajo distintas condiciones de severidad, con el objetivo de determinar su pureza en función del contenido de carbohidratos residuales y cenizas. Esto permitiría establecer el impacto de condiciones más drásticas en la estructura de la lignina y su posible aplicabilidad en distintos sectores industriales.

Asimismo, se recomienda la implementación de calentamiento por microondas en la extracción organosolv, con el propósito de evaluar su influencia en las propiedades de la lignina obtenida y en la eficiencia del proceso. Desde una perspectiva industrial, sería conveniente optimizar las condiciones de tratamiento para favorecer la recuperación integral de celulosa, hemicelulosa y lignina, promoviendo así un mayor aprovechamiento de los residuos lignocelulósicos y su valorización en procesos sostenibles.

Referencias Bibliográficas

- Abdelaziz, O. Y., Brink, D. P., Prothmann, J., Ravi, K., Sun, M., García-Hidalgo, J., Sandahl, M., Hultberg, C. P., Turner, C., Lidén, G., & Gorwa-Grauslund, M. F. (2016). Biological valorization of low molecular weight lignin. *Biotechnology Advances*, 34(8), 1318–1346. <https://doi.org/10.1016/J.BIOTECHADV.2016.10.001>
- Abdou Alio, M., Tugui, O. C., Rusu, L., Pons, A., & Vial, C. (2020). Hydrolysis and fermentation steps of a pretreated sawmill mixed feedstock for bioethanol production in a wood biorefinery. *Bioresource Technology*, 310, 123412. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2020.123412>
- Aguilar-Reynosa, A., Romani, A., Ma. Rodríguez-Jasso, R., Aguilar, C. N., Garrote, G., & Ruiz, H. A. (2017). Microwave heating processing as alternative of pretreatment in second-generation biorefinery: An overview. *Energy Conversion and Management*, 136, 50–65. <https://doi.org/10.1016/J.ENCONMAN.2017.01.004>
- Álvarez, C., González, A., Negro, M. J., Ballesteros, I., Oliva, J. M., & Sáez, F. (2017). Optimized use of hemicellulose within a biorefinery for processing high value-added xylooligosaccharides. *Industrial Crops and Products*, 99, 41–48. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2017.01.034>
- Asadi, N., & Zilouei, H. (2017). Optimization of organosolv pretreatment of rice straw for enhanced biohydrogen production using *Enterobacter aerogenes*. *Bioresource Technology*, 227, 335–344. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2016.12.073>

- ASTM International. (2013). *Standard Test Method for Ethanol-Toluene Solubility of Wood D1106*. <https://doi.org/https://bibliotecavirtual.uis.edu.co:2236/10.1520/D1107-96R13>
- Avelino, F., Marques, F., Soares, A. K. L., Silva, K. T., Leitão, R. C., Mazzetto, S. E., & Lomonaco, D. (2019). Microwave-Assisted Organosolv Delignification: A Potential Eco-Designed Process for Scalable Valorization of Agroindustrial Wastes. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 58(25), 10698–10706. https://doi.org/10.1021/ACS.IECR.9B01168/ASSET/IMAGES/LARGE/IE-2019-01168P_0008.JPEG
- Avelino, F., Silva, K. T. da, de Souza Filho, M. de S. M., Mazzetto, S. E., & Lomonaco, D. (2018). Microwave-assisted organosolv extraction of coconut shell lignin by Brønsted and Lewis acids catalysts. *Journal of Cleaner Production*, 189, 785–796. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2018.04.126>
- Barros, J., Escamilla-Trevino, L., Song, L., Rao, X., Serrani-Yarce, J. C., Palacios, M. D., Engle, N., Choudhury, F. K., Tschaplinski, T. J., Venables, B. J., Mittler, R., & Dixon, R. A. (2019). 4-Coumarate 3-hydroxylase in the lignin biosynthesis pathway is a cytosolic ascorbate peroxidase. *Nature Communications 2019 10:1*, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10082-7>
- Baruah, J., Nath, B. K., Sharma, R., Kumar, S., Deka, R. C., Baruah, D. C., & Kalita, E. (2018). Recent trends in the pretreatment of lignocellulosic biomass for value-added products. *Frontiers in Energy Research*, 6(DEC), 419973. <https://doi.org/10.3389/FENRG.2018.00141/BIBTEX>
- Bauer, S., Sorek, H., Mitchell, V. D., Ibáñez, A. B., & Wemmer, D. E. (2012). Characterization of *Miscanthus giganteus* lignin isolated by ethanol organosolv process under reflux condition.

Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60(33), 8203–8212.
<https://doi.org/10.1021/JF302409D>

Borand, M. N., & Karaosmanoğlu, F. (2018). Effects of organosolv pretreatment conditions for lignocellulosic biomass in biorefinery applications: A review. *Journal of Renewable and Sustainable Energy*, 10(3). <https://doi.org/10.1063/1.5025876/285440>

Carvalho, F., Duarte, L. C., Pires, F., Van-Dúnem, V., Sanfins, L., Roseiro, L. B., & Gírio, F. (2022). Effective Mild Ethanol-Based Organosolv Pre-Treatment for the Selective Valorization of Polysaccharides and Lignin from Agricultural and Forestry Residues. *Energies*, 15(15), 5654. <https://doi.org/10.3390/EN15155654/S1>

Chiang, V. L., & Funaoka, M. (1990). The Difference between Guaiacyl and Guaiacyl-Syringyl Lignins in their Responses to Kraft Delignification. *Holzforschung*, 44(4), 309–313. <https://doi.org/10.1515/HFSG.1990.44.4.309/MACHINEREADABLECITATION/RIS>

Choi, J. H., Kim, J. H., Lee, S. Y., Jang, S. K., Kwak, H. W., Kim, H., & Choi, I. G. (2022). Thermoplasticity reinforcement of ethanol organosolv lignin to improve compatibility in PLA-based ligno-bioplastics: Focusing on the structural characteristics of lignin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 209, 1638–1647. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2022.04.090>

da Silva, C. G., Grelier, S., Pichavant, F., Frollini, E., & Castellan, A. (2013). Adding value to lignins isolated from sugarcane bagasse and Miscanthus. *Industrial Crops and Products*, 42(1), 87–95. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2012.04.040>

Del Río, J. C., Rencoret, J., Gutiérrez, A., Elder, T., Kim, H., & Ralph, J. (2020). Lignin Monomers from beyond the Canonical Monolignol Biosynthetic Pathway: Another Brick in the Wall. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 8(13), 4997–5012.

https://doi.org/10.1021/ACSSUSCHEMENG.0C01109/ASSET/IMAGES/LARGE/SC0C01109_0006.JPEG

- Duan, D., Wang, Y., Ruan, R., Tayier, M., Dai, L., Zhao, Y., Zhou, Y., & Liu, Y. (2018). Comparative study on various alcohols solvolysis of organosolv lignin using microwave energy: Physicochemical and morphological properties. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 126, 38–44. <https://doi.org/10.1016/J.CEP.2017.10.023>
- El Hage, R., Brosse, N., Sannigrahi, P., & Ragauskas, A. (2010). Effects of process severity on the chemical structure of Miscanthus ethanol organosolv lignin. *Polymer Degradation and Stability*, 95(6), 997–1003. <https://doi.org/10.1016/J.POLYMDEGRADSTAB.2010.03.012>
- Eraghi Kazzaz, A., & Fatehi, P. (2020). Technical lignin and its potential modification routes: A mini-review. *Industrial Crops and Products*, 154, 112732. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2020.112732>
- Fan, J., Yu, Q., Li, M., Chen, J., Wang, Y., Zhang, Y., Li, G., Ma, X., Zhong, H., & Yu, Y. (2022). Optimization of ethanol-extracted lignin from palm fiber by response surface methodology and preparation of activated carbon fiber for dehumidification. *Bioresources and Bioprocessing*, 9(1), 1–17. <https://doi.org/10.1186/S40643-022-00549-9/FIGURES/15>
- Faruk, O., & Mohini, S. (2015). Lignin in Polymer Composites. *William Andrew*, 1–249.
- Fatehi, P., & Chen, J. (2016). Extraction of Technical Lignins from Pulping Spent Liquors, Challenges and Opportunities. *Biofuels and Biorefi Neries*, 6, 35–54. https://doi.org/10.1007/978-981-10-1965-4_2
- Fedepalma. (2025, January 9). *La producción de aceite de palma fue de 1,72 millones de toneladas en 2024 - Fedepalma*. <https://fedepalma.org/noticias/la-produccion-de-aceite-de-palma-fue-de-172-millones-de-toneladas-en-2024/>

- Figueiredo, P., Lintinen, K., Hirvonen, J. T., Kostianen, M. A., & Santos, H. A. (2018). Properties and chemical modifications of lignin: Towards lignin-based nanomaterials for biomedical applications. *Progress in Materials Science*, 93, 233–269. <https://doi.org/10.1016/J.PMATSCI.2017.12.001>
- Florian, T. D. M., Villani, N., Aguedo, M., Jacquet, N., Thomas, H. G., Gerin, P., Magali, D., & Richel, A. (2019). Chemical composition analysis and structural features of banana rachis lignin extracted by two organosolv methods. *Industrial Crops and Products*, 132, 269–274. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2019.02.022>
- Garcés, I. C., & Sánchez, M. C. (1997). Productos derivados de la industria de la palma de aceite : usos. *Palmas*, 18(1), 33–48. <https://doi.org/10.56866/ISSN.0121-2923>
- Gendron, J., Stambouli, I., Bruel, C., Boumghar, Y., & Montplaisir, D. (2022). Characterization of different types of lignin and their potential use in green adhesives. *Industrial Crops and Products*, 182, 114893. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2022.114893>
- Goh, C. S., Tan, H. T., Lee, K. T., & Brosse, N. (2011). Evaluation and optimization of organosolv pretreatment using combined severity factors and response surface methodology. *Biomass and Bioenergy*, 35(9), 4025–4033. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMBIOE.2011.06.034>
- Hessler, L. E., & Merola, G. V. (1949). Determination of Cellulose in Cotton and Cordage Fiber. *Analytical Chemistry*, 21(6), 695–698. https://doi.org/10.1021/AC60030A014/ASSET/AC60030A014.FP.PNG_V03
- Holladay, J. E., White, J. F., Bozell, J. J., & Johnson, D. (2007). *Top Value Added Chemicals from Biomass - Volume II, Results of Screening for Potential Candidates from Biorefinery Lignin*.
- Huang, D., Li, R., Xu, P., Li, T., Deng, R., Chen, S., & Zhang, Q. (2020). The cornerstone of realizing lignin value-addition: Exploiting the native structure and properties of lignin by

extraction methods. *Chemical Engineering Journal*, 402, 126237.
<https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2020.126237>

Huijgen, W. J. J., Telysheva, G., Arshanitsa, A., Gosselink, R. J. A., & de Wild, P. J. (2014). Characteristics of wheat straw lignins from ethanol-based organosolv treatment. *Industrial Crops and Products*, 59, 85–95. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2014.05.003>

Jasiukaitytė-Grojzdek, E., Huš, M., Grilc, M., & Likozar, B. (2020a). Acid-Catalyzed α -O-4 Aryl-Ether Cleavage Mechanisms in (Aqueous) γ -Valerolactone: Catalytic Depolymerization Reactions of Lignin Model Compound during Organosolv Pretreatment. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 8(47), 17475–17486.
https://doi.org/10.1021/ACSSUSCHEMENG.0C06099/ASSET/IMAGES/LARGE/SC0C06099_0008.JPEG

Jasiukaitytė-Grojzdek, E., Huš, M., Grilc, M., & Likozar, B. (2020b). Acid-Catalyzed α -O-4 Aryl-Ether Cleavage Mechanisms in (Aqueous) γ -Valerolactone: Catalytic Depolymerization Reactions of Lignin Model Compound during Organosolv Pretreatment. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 8(47), 17475–17486.
https://doi.org/10.1021/ACSSUSCHEMENG.0C06099/ASSET/IMAGES/LARGE/SC0C06099_0008.JPEG

Jiang, B., Zhang, Y., Guo, T., Zhao, H., & Jin, Y. (2018). Structural Characterization of Lignin and Lignin-Carbohydrate Complex (LCC) from Ginkgo Shells (*Ginkgo biloba* L.) by Comprehensive NMR Spectroscopy. *Polymers* 2018, Vol. 10, Page 736, 10(7), 736.
<https://doi.org/10.3390/POLYM10070736>

Jin, S., Xiao, Z., Chen, X., Wang, L., Guo, J., Zhang, M., & Liang, C. (2015). Cleavage of lignin-derived 4-O-5 aryl ethers over nickel nanoparticles supported on niobic acid-activated carbon

- composites. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 54(8), 2302–2310.
https://doi.org/10.1021/IE504600F/SUPPL_FILE/IE504600F_SI_001.PDF
- Kim, J. S., Lee, Y. Y., & Kim, T. H. (2016). A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 199, 42–48.
<https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2015.08.085>
- Kleinert, T. N. (1968). *Organosolv pulping and recovery process*.
- Konrád, K., Viharos, Z. J., & Németh, G. (2018). Evaluation, ranking and positioning of measurement methods for pellet production. *Measurement*, 124, 568–574.
<https://doi.org/10.1016/J.MEASUREMENT.2017.12.036>
- Kubo, S., & Kadla, J. F. (2004). Poly(Ethylene Oxide)/Organosolv Lignin Blends: Relationship between Thermal Properties, Chemical Structure, and Blend Behavior. *Macromolecules*, 37(18), 6904–6911. <https://doi.org/10.1021/MA0490552>
- Lee, K. M., Zamil, M. F., Chan, K. K., Chin, Z. P., Liu, Y. C., & Lim, S. (2020). Synergistic ultrasound-assisted organosolv pretreatment of oil palm empty fruit bunches for enhanced enzymatic saccharification: An optimization study using artificial neural networks. *Biomass and Bioenergy*, 139, 105621. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMBIOE.2020.105621>
- Liu, C., Li, Y., & Hou, Y. (2019). A simple environment-friendly process for preparing high-concentration alkali lignin nanospheres. *European Polymer Journal*, 112, 15–23.
<https://doi.org/10.1016/J.EURPOLYMJ.2018.12.031>
- Liu, X., Xie, M., Hu, Y., Li, S., Nie, S., Zhang, A., Wu, H., Li, C., Xiao, Z., & Hu, C. (2022). Facile preparation of lignin nanoparticles from waste *Camellia oleifera* shell: The solvent effect on the structural characteristic of lignin nanoparticles. *Industrial Crops and Products*, 183, 114943. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2022.114943>

- Lizundia, E., Armentano, I., Luzi, F., Bertoglio, F., Restivo, E., Visai, L., Torre, L., & Puglia, D. (2020). Synergic Effect of Nanolignin and Metal Oxide Nanoparticles into Poly(l-lactide) Bionanocomposites: Material Properties, Antioxidant Activity, and Antibacterial Performance. *ACS Applied Bio Materials*, 3(8), 5263–5274. https://doi.org/10.1021/ACSABM.0C00637/ASSET/IMAGES/LARGE/MT0C00637_0009.JPEG
- Lora, J. H., & Glasser, W. G. (2002). Recent industrial applications of lignin: A sustainable alternative to nonrenewable materials. *Journal of Polymers and the Environment*, 10(1–2), 39–48. <https://doi.org/10.1023/A:1021070006895/METRICS>
- Lou, Y., Sun, X., Yu, Y., Zeng, S., Li, Y., Liu, Y., & Yu, H. (2023). One-Pot Protolignin Extraction by Targeted Unlocking Lignin–Carbohydrate Esters via Nucleophilic Addition–Elimination Strategy. *Research*, 6, 0069. https://doi.org/10.34133/RESEARCH.0069/SUPPL_FILE/RESEARCH.0069.F1.DOCX
- Marques, F. P., Colares, A. S., Cavalcante, M. N., Almeida, J. S., Lomonaco, D., Silva, L. M. A., De Freitas Rosa, M., & Leitão, R. C. (2022). Optimization by Response Surface Methodology of Ethanosolv Lignin Recovery from Coconut Fiber, Oil Palm Mesocarp Fiber, and Sugarcane Bagasse. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 61(11), 4058–4067. https://doi.org/10.1021/ACS.IECR.1C04362/SUPPL_FILE/IE1C04362_SI_001.PDF
- Mishra, P. K., & Ekielski, A. (2019). The Self-Assembly of Lignin and Its Application in Nanoparticle Synthesis: A Short Review. *Nanomaterials 2019, Vol. 9, Page 243*, 9(2), 243. <https://doi.org/10.3390/NANO9020243>
- Mondylaksita, K., Ferreira, J. A., Millati, R., Budhijanto, W., Niklasson, C., & Taherzadeh, M. J. (2020). Recovery of High Purity Lignin and Digestible Cellulose from Oil Palm Empty Fruit

- Bunch Using Low Acid-Catalyzed Organosolv Pretreatment. *Agronomy* 2020, Vol. 10, Page 674, 10(5), 674. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY10050674>
- Ni, Y., & Hu, Q. (1995). Alcell® lignin solubility in ethanol–water mixtures. *Journal of Applied Polymer Science*, 57(12), 1441–1446. <https://doi.org/10.1002/APP.1995.070571203>
- Nishio, M. (2011). The CH/ π hydrogen bond in chemistry. Conformation, supramolecules, optical resolution and interactions involving carbohydrates. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 13(31), 13873–13900. <https://doi.org/10.1039/C1CP20404A>
- Nurfahmi, Ong, H. C., Jan, B. M., Tong, C. W., Fauzi, H., & Chen, W. H. (2016). Effects of organosolv pretreatment and acid hydrolysis on palm empty fruit bunch (PEFB) as bioethanol feedstock. *Biomass and Bioenergy*, 95, 78–83. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMBIOE.2016.09.008>
- Pan, X., & Saddler, J. N. (2013). Effect of replacing polyol by organosolv and kraft lignin on the property and structure of rigid polyurethane foam. *Biotechnology for Biofuels*, 6(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-12/SCHEMES/1>
- Parajuli, R., Dalgaard, T., Jørgensen, U., Adamsen, A. P. S., Knudsen, M. T., Birkved, M., Gylling, M., & Schjørring, J. K. (2015). Biorefining in the prevailing energy and materials crisis: a review of sustainable pathways for biorefinery value chains and sustainability assessment methodologies. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 43, 244–263. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2014.11.041>
- Pazzaglia, A., Gelosia, M., Giannoni, T., Fabbri, G., Nicolini, A., & Castellani, B. (2023). Wood waste valorization: Ethanol based organosolv as a promising recycling process. *Waste Management*, 170, 75–81. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2023.08.003>

- Prochukhan, N., O'Brien, S. A., Davó-Quiñonero, A., Trubetskaya, A., Cotter, E., Selkirk, A., Senthamaraikannan, R., Ruether, M., McCloskey, D., & Morris, M. A. (2022). Room Temperature Fabrication of Macroporous Lignin Membranes for the Scalable Production of Black Silicon. *Biomacromolecules*, 23(6), 2512–2521. https://doi.org/10.1021/ACS.BIOMAC.2C00228/ASSET/IMAGES/LARGE/BM2C00228_0007.JPEG
- Rabelo, S. C., Nakasu, P. Y. S., Scopel, E., Araújo, M. F., Cardoso, L. H., & Costa, A. C. da. (2023). Organosolv pretreatment for biorefineries: Current status, perspectives, and challenges. *Bioresource Technology*, 369, 128331. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2022.128331>
- Rinaldi, R., Jastrzebski, R., Clough, M. T., Ralph, J., Kennema, M., Bruijninx, P. C. A., & Weckhuysen, B. M. (2016). Paving the Way for Lignin Valorisation: Recent Advances in Bioengineering, Biorefining and Catalysis. *Angewandte Chemie International Edition*, 55(29), 8164–8215. <https://doi.org/10.1002/ANIE.201510351>
- Rincón, S. (2020). *Aprovechamiento de biomasa lignocelulósica proveniente de rosas utilizando el proceso organosolv.*
- Rishikesh, M. S., Harish, S., Mahendran Prasanth, S., & Gnana Prakash, D. (2021). A comprehensive review on lignin obtained from agro-residues: potential source of useful chemicals. *Biomass Conversion and Biorefinery* 2021 13:7, 13(7), 5533–5556. <https://doi.org/10.1007/S13399-021-01637-0>
- Sannigrahi, P., & Ragauskas, A. J. (2013). Fundamentals of Biomass Pretreatment by Fractionation. *Aqueous Pretreatment of Plant Biomass for Biological and Chemical*

Conversion to Fuels and Chemicals, 201–222.
<https://doi.org/10.1002/9780470975831.CH10>

Schieppati, D., Patience, N. A., Galli, F., Dal, P., Seck, I., Patience, G. S., Fuoco, D., Banquy, X., & Boffito, D. C. (2023). Chemical and Biological Delignification of Biomass: A Review. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 62(33), 12757–12794.
https://doi.org/10.1021/ACS.IECR.3C01231/ASSET/IMAGES/LARGE/IE3C01231_0021.JPEG

Schneider, W. D. H., Dillon, A. J. P., & Camassola, M. (2021). Lignin nanoparticles enter the scene: A promising versatile green tool for multiple applications. *Biotechnology Advances*, 47, 107685. <https://doi.org/10.1016/J.BIOTECHADV.2020.107685>

Sluiter, A., Hames, B., Hyman, D., Payne, C., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., & Wolfe, J. (2008). *Determination of Total Solids in Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples Laboratory Analytical Procedure (LAP) Issue Date: 3/31/2008*.
www.nrel.gov

Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., & Templeton, D. (2008). *Determination of Ash in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP); Issue Date: 7/17/2005*.
www.nrel.gov

Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., & Crocker, D. (2008). *Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP) (Revised July 2011)*.
http://www.nrel.gov/biomass/analytical_procedures.html

Smith, M. D., Mostofian, B., Cheng, X., Petridis, L., Cai, C. M., Wyman, C. E., & Smith, J. C. (2016). Cosolvent pretreatment in cellulosic biofuel production: effect of tetrahydrofuran-

water on lignin structure and dynamics. *Green Chemistry*, 18(5), 1268–1277.
<https://doi.org/10.1039/C5GC01952D>

Soltaninejad, A., Jazini, M., & Karimi, K. (2022). Sustainable bioconversion of potato peel wastes into ethanol and biogas using organosolv pretreatment. *Chemosphere*, 291, 133003.
<https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2021.133003>

Suota, M. J., da Silva, T. A., Zawadzki, S. F., Sasaki, G. L., Hansel, F. A., Paleologou, M., & Ramos, L. P. (2021). Chemical and structural characterization of hardwood and softwood LignoForce™ lignins. *Industrial Crops and Products*, 173, 114138.
<https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2021.114138>

Tappi. (2006). *Acid insoluble lignin in wood and pulp*.
<https://www.tappi.org/content/sarg/t222.pdf>

Thoresen, P. P., Matsakas, L., Rova, U., & Christakopoulos, P. (2020). Recent advances in organosolv fractionation: Towards biomass fractionation technology of the future. *Bioresource Technology*, 306, 123189. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2020.123189>

Tobimatsu, Y., & Schuetz, M. (2019). Lignin polymerization: how do plants manage the chemistry so well? *Current Opinion in Biotechnology*, 56, 75–81.
<https://doi.org/10.1016/J.COPBIO.2018.10.001>

Vaidya, A. A., Murton, K. D., Smith, D. A., & Dedual, G. (2022). A review on organosolv pretreatment of softwood with a focus on enzymatic hydrolysis of cellulose. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 12(11), 5427–5442. <https://doi.org/10.1007/S13399-022-02373-9/TABLES/1>

- Vanholme, R., De Meester, B., Ralph, J., & Boerjan, W. (2019). Lignin biosynthesis and its integration into metabolism. *Current Opinion in Biotechnology*, *56*, 230–239. <https://doi.org/10.1016/J.COPBIO.2019.02.018>
- Vásquez-Garay, F., Carrillo-Varela, I., Vidal, C., Reyes-Contreras, P., Faccini, M., & Mendonça, R. T. (2021). A Review on the Lignin Biopolymer and Its Integration in the Elaboration of Sustainable Materials. *Sustainability* 2021, Vol. 13, Page 2697, 13(5), 2697. <https://doi.org/10.3390/SU13052697>
- Vermaas, J. V., Crowley, M. F., & Beckham, G. T. (2020). Molecular Lignin Solubility and Structure in Organic Solvents. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, *8*(48), 17839–17850. https://doi.org/10.1021/ACSSUSCHEMENG.0C07156/ASSET/IMAGES/LARGE/SC0C07156_0010.JPEG
- Verónica Hernao, L., & Antonio Giraldo, G. (2009). *CUANTIFICACIÓN DE CELULOSA PROVENIENTE DE RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DEL MUEBLE*.
- Wise, L. E., Murphy, M., & d'Addieco, A. A. (1946). Chlorite holocellulose, its fractionation and bearing on summative wood analysis and on studies on the hemicelluloses. *Paper Trade Journal*, *122*, 35–43.
- Wu, M., Wu, M., Pan, M., Jiang, F., Hui, B., & Zhou, L. (2022). Synthesis and Characterization of Lignin-graft-Poly (Lauryl Methacrylate) via ARGET ATRP. *International Journal of Biological Macromolecules*, *207*, 522–530. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2022.02.169>
- YAAKOB, M. N. A., ROSLAN, R., SALIM, N., MUSTAPHA, S. N. H., ZAKARIA, S., CHIA, C. H., & SAJAB, M. S. (2021). Effect of catalysts on the yield and properties of lignin from

microwave-assisted acetosolv extraction of oil palm empty fruit bunch fibres. *Journal of Oil Palm Research*, 33(1), 74–83. <https://doi.org/10.21894/JOPR.2020.0076>

Zhao, X., Cheng, K., & Liu, D. (2009). Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 82(5), 815–827. <https://doi.org/10.1007/S00253-009-1883-1/FIGURES/4>

Zhu, W., Westman, G., & Theliander, H. (2014). Investigation and Characterization of Lignin Precipitation in the LignoBoost Process. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 34(2), 77–97. <https://doi.org/10.1080/02773813.2013.838267>

Apéndices

Apéndice A. Valores experimentales obtenidos en el diseño de experimentos (DoE).

<i>Experimento</i>	<i>Biomasa inicial (g)</i>	<i>Lignina (g)</i>	<i>Pulpa de celulosa (g)</i>	<i>Rendimiento de extracción (%)</i>	<i>Promedio del rendimiento de extracción (%)</i>
<i>1</i>	5,0067	0,2520	3,6853	25,60	19,68 ± 8,37
	5,0062	0,1354	4,1261	13,76	
<i>2</i>	5,0018	0,2044	3,8226	20,78	17,91 ± 4,06
	5,0060	0,1480	3,8020	15,04	
<i>3</i>	5,0038	0,4554	2,9489	46,29	41,04 ± 7,42
	5,0052	0,3522	3,1701	35,79	
<i>4</i>	5,0066	0,5088	2,6340	51,69	51,65 ± 0,06
	5,0017	0,5075	2,7653	51,61	
<i>Centro</i>	5,0029	0,4863	2,7345	49,44	54,46 ± 7,11
	5,0034	0,5852	2,5789	59,49	
<i>5</i>	5,0062	0,0866	4,0492	8,80	9,26 ± 0,66
	5,0032	0,0957	4,0531	9,73	
<i>6</i>	5,0011	0,3617	3,3658	36,78	32,36 ± 6,26
	5,0011	0,2747	3,6002	27,94	
<i>7</i>	5,0047	0,1495	3,5116	15,19	12,50 ± 3,81
	5,0011	0,0964	4,1314	9,80	
<i>8</i>	5,0040	0,5415	2,5932	55,04	49,54 ± 7,78
	5,0020	0,4331	3,0529	44,04	
<i>Microondas</i>	0,6259	0,0583	0,2795	47,37	50,45 ± 4,35
	0,6253	0,0658	0,2467	53,52	

Nota. Esta tabla incluye datos como la cantidad de biomasa (RFV) utilizada, así como la cantidad de lignina y celulosa extraídas, y el rendimiento de extracción.

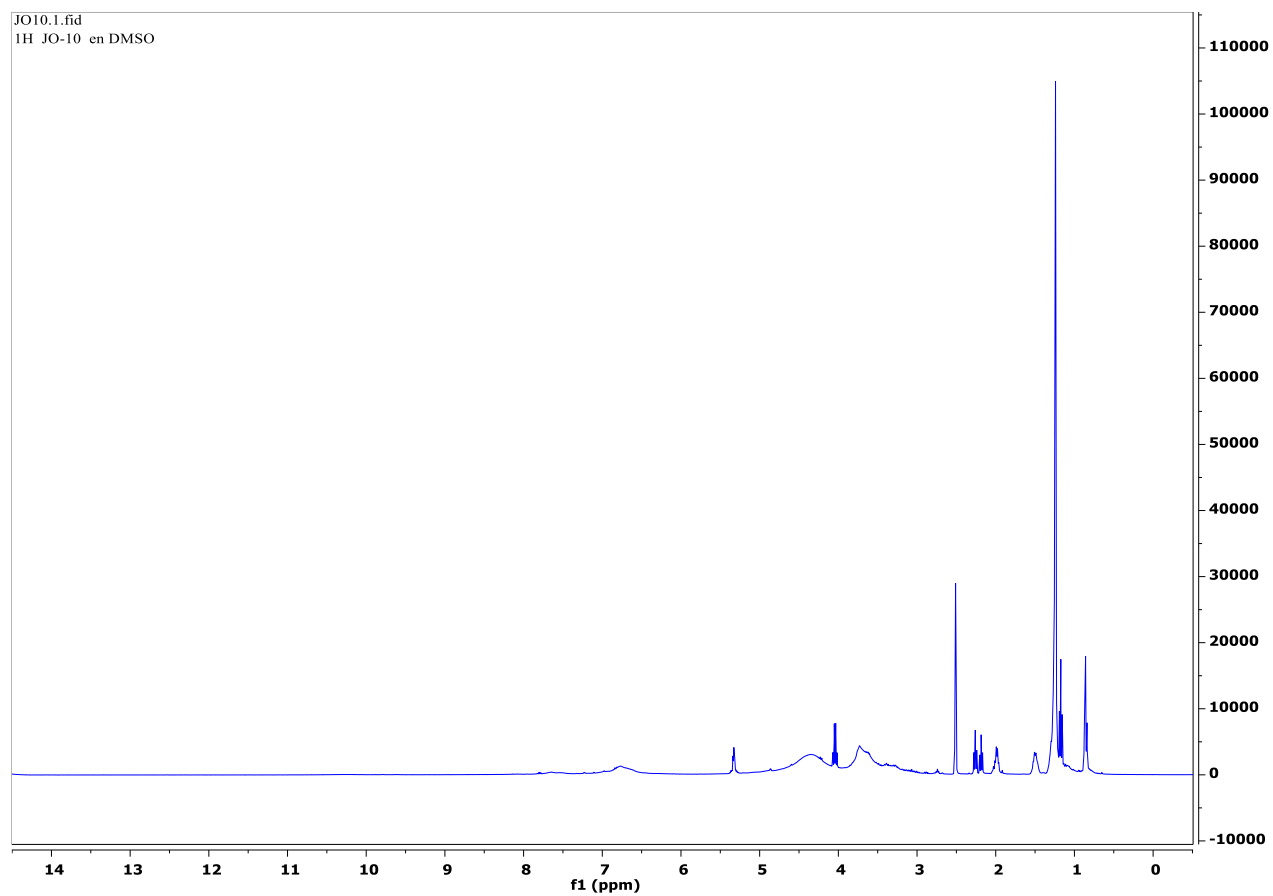
Apéndice B. Asignación de bandas en espectros FTIR de la lignina extraída.

<i>Bandas observadas</i>	<i>Bandas registradas en la literatura</i>	<i>Referencia</i>	<i>Observaciones</i>
3385	3430	Stark et al., 2016	Tensión O-H de los grupos -OH alifáticos y fenólicos
2916	2938	Stark et al., 2016	Tensión C-H en grupos metilo y metileno
2850	2849	Stark et al., 2016	Tensión C-H en grupo O-CH ₃
1709	1710	Avelino et al., 2019	Estiramiento de los grupos C=O
1592	1605-1593	Faix et al., 1991	Estiramiento -C=C- del anillo aromático (Ar), simétrico
1506	1515-1505	Faix et al., 1991	Estiramiento -C=C- del anillo aromático (Ar), asimétrico
1460	1465	Avelino et al., 2019	Deformaciones C-H
1421	1424	Avelino et al., 2019	Deformaciones del esqueleto aromático acopladas con deformaciones en el plano C-H
1325	1326	Bauer et al., 2013	Vibración del anillo aromático, unidades S y G condensadas
1269	1264	Bauer et al., 2013	Vibración del anillo aromático de unidad G
1219	1217	Marques et al., 2022	Estiramiento C-C, C-O y C=O en el anillo
1163	1170	Avelino et al., 2019	Estiramiento de los grupos C=O
1119	1123	Bauer et al., 2012	Deformación de flexión C-H en el plano de los anillos aromáticos de unidades S
1032	1030	Bauer et al., 2013	Deformación de flexión C-H en el plano de los anillos aromáticos de unidades G

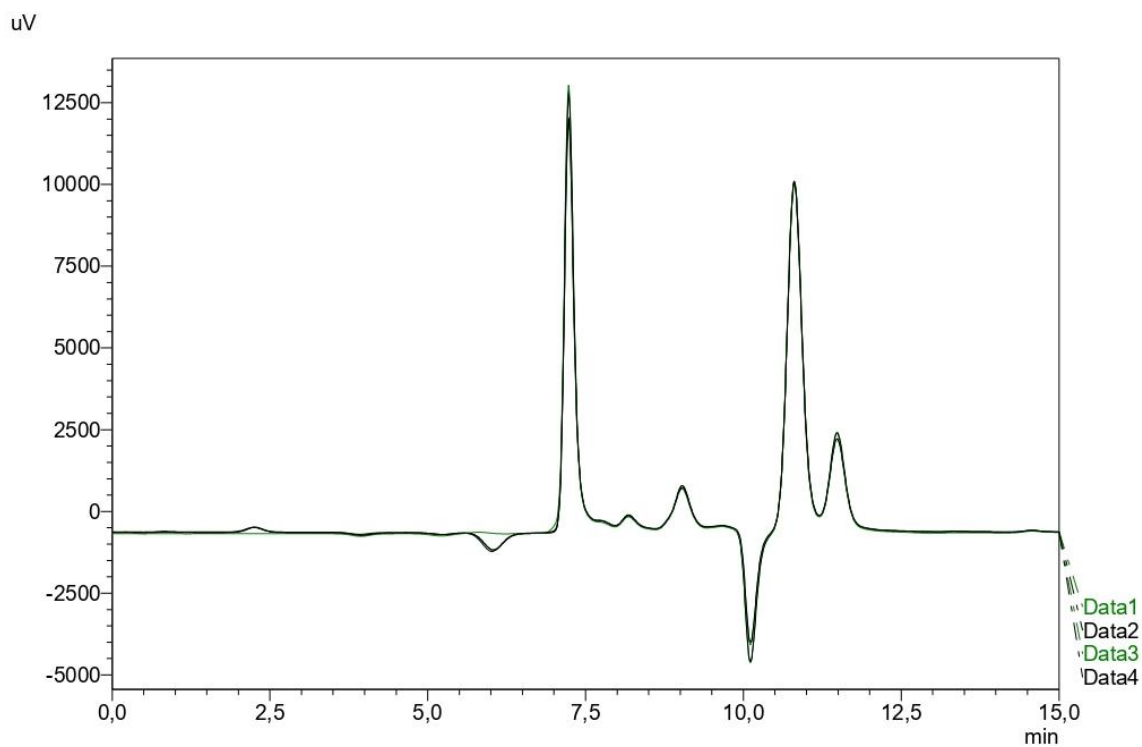
Apéndice C. Asignación de picos en los espectros HSQC de la lignina extraída.

<i>Asignación</i>	<i>Señal δ_C/δ_H (ppm)</i>	<i>Señal δ_C/δ_H (ppm) Literatura</i>	<i>Referencia</i>	<i>Observaciones</i>
<i>OMe</i>	56,18/3,73	56,2/3,74	Stark et al., 2016	H-C en metoxilos
<i>Aγ</i>	60,35/3,59	60,1/3,48	Stark et al., 2016	H γ -C γ en β -O-4' subestructuras (A)
<i>Iγ</i>	60,07/4,04	61,2/4,09	Wen et al., 2013	C γ -H γ en grupos terminales del alcohol cinámico (I)
<i>Cγ</i>	62,29/3,37	63,2/3,42	Stark et al., 2016	C γ -H γ en fenilcumarano (C)
<i>X₅</i>	62,34/3,37	62.6/3.40	Jiang et al., 2018	C ₅ -H ₅ en β -D- xilopiranosido
<i>X₂</i>	70,39/3,27	72.6/3.05	Jiang et al., 2019	C ₂ -H ₂ en β -D- xilopiranosido
<i>S_{2,6}</i>	104,34/6,67	104.8/6.63	Avelino et al., 2019	H _{2,6} -C _{2,6} en unidades siringil (S)
<i>G₅</i>	115,63/6,78	115.7/6.75	Avelino et al., 2019	H ₅ -C ₅ en unidades guaiacil (G)
<i>Iβ</i>	129,98/5,33	128.4/6.23	Del Río et al., 2012	C β -H β grupos terminales de alcohol cinámico (I)
<i>PCE_{2,6}</i>	131,70/7,65	131.3/7.45	Avelino et al., 2019	C _{2,6} -H _{2,6} en unidades <i>p</i> - cumarato (<i>p</i> -CE)

Apéndice D. Espectro de RMN de protones (^1H -RMN) correspondiente a la lignina organosolv obtenida (60% EtOH, 1,5% p/v de H_2SO_4 y 200 °C) a partir de racimos de fruto vacíos (RFV) de palma de aceite.

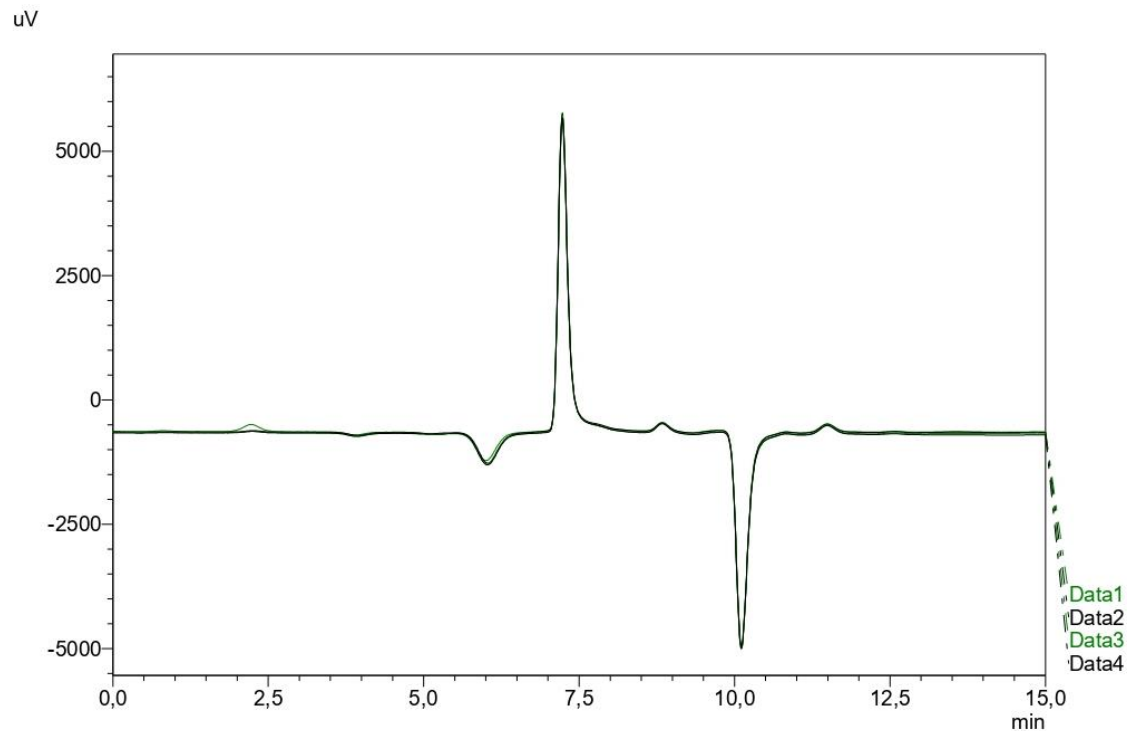


Apéndice E. Cromatograma de HPLC de la fracción sólida (**FS**), rica en celulosa, obtenida a 60% EtOH, 1,5% p/v de H₂SO₄ y 200 °C después del tratamiento organosolv.



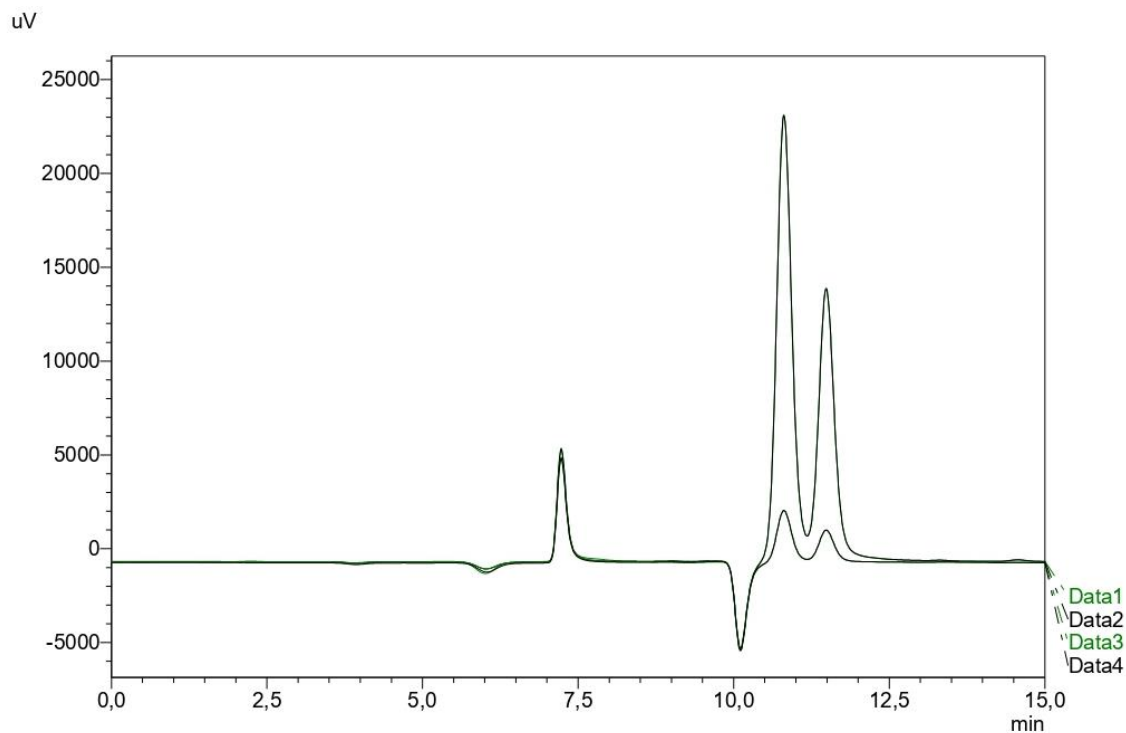
Nota. La imagen muestra los cromatogramas correspondientes a los duplicados experimentales (**Data 1 y 3**) de las muestras de pulpa de celulosa. Para cada duplicado, se realizó una segunda corrida cromatográfica (**Data 2 y 4**) en el HPLC, destinada al análisis de carbohidratos estructurales.

Apéndice F. Cromatograma de HPLC de la fracción líquida (**FL**), compuesta principalmente por lignina, obtenida a 60% EtOH, 1,5% p/v de H₂SO₄ y 200 °C después del tratamiento organosolv.



Nota. La imagen muestra los cromatogramas correspondientes a los duplicados experimentales (**Data 1 y 3**) de las muestras de lignina. Para cada duplicado, se realizó una segunda corrida cromatográfica (**Data 2 y 4**) en el HPLC, destinada al análisis de carbohidratos estructurales.

Apéndice G. Cromatograma de HPLC de los estándares de recuperación de azúcar (SRS) de D-(+)glucosa y D-(+)xilosa.



Nota. La imagen muestra los cromatogramas obtenidos para las mezclas estándar. **Data 1** corresponde a D-(+)glucosa y D-(+)xilosa en concentraciones de 3 y 2 mg/mL, respectivamente; mientras que **Data 3** corresponde a los mismos azúcares en concentraciones de 0,3 y 0,2 mg/mL. Para cada mezcla se realizó una segunda corrida cromatográfica (**Data 2 y 4**) en el HPLC, destinada al análisis de carbohidratos estructurales.