



Universidad de Concepción

Dirección de Postgrado

Facultad de Farmacia-Programa de doctorado en ciencias y Tecnología Analítica

Desarrollo de un método Fenton en condiciones moderadas de reacción para la despolimerización oxidativa de lignina Kraft.

Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias y Tecnología Analítica

Camila Gabriela Méndez Rivas

2025

Profesor Tutor: Dr. David Contreras

Profesor co-Tutor: Dra. Carola Vergara

Departamento de Análisis Instrumental

Facultad de Farmacia

Universidad de Concepción

Contenido

| | |
|---|------|
| Índice de Figuras..... | IV |
| Índice de tablas..... | VII |
| Abreviaturas..... | VIII |
| Resumen..... | IX |
| Abstract..... | X |
| CAPÍTULO 1. Introducción..... | 1 |
| 1.1. Lignina..... | 1 |
| 1.2. Despolimerización de lignina: estrategias y desafíos para la generación de productos de valor agregado. | 4 |
| 1.3. Procesos avanzados de oxidación: Reacción de Fenton. | 5 |
| 1.4. Sistemas Fenton presentes en la biodegradación natural de biomasa lignocelulósica. | 7 |
| 1.6. Enfoque de esta investigación. | 11 |
| CAPÍTULO 2. Hipótesis y objetivos..... | 13 |
| 2.1. Hipótesis. | 13 |
| 2.2. Objetivo Principal. | 13 |
| 2.3. Objetivos específicos. | 13 |
| CAPÍTULO 3. Estrategia Analítica..... | 14 |
| 3.1. Derivatización. | 14 |
| 3.2. Digestión ácida. | 15 |
| 3.3. Extracción en fase sólida (SPE)..... | 15 |
| 3.4. Propuesta de estrategia analítica. | 15 |
| CAPÍTULO 4. Metodología..... | 18 |
| 4.1. Capacidad quelante y reductor de la lignina Kraft. | 18 |
| 4.1.1. RMN de sólidos ¹³ C CP/MAS. | 18 |
| 4.1.2. Espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica (EPR). | 19 |
| 4.1.3. Espectrofotometría UV-visible..... | 20 |
| 4.2. Despolimerización y diseño experimental. | 20 |

| | |
|--|----|
| 4.2. Caracterización de la lignina. | 21 |
| 4.1.1. Cromatografía de permeación en gel (GPC). | 21 |
| 4.1.2. Espectroscopia infrarroja media con transformada de Fourier (FT-IR). | 23 |
| 4.1.3. Microscopia electrónica de barrido (SEM). | 23 |
| 4.1.4. Resonancia magnética nuclear de ³¹ P (RMN ³¹ P). | 23 |
| 4.1.5. Análisis Elemental. | 24 |
| 4.1.6. Angulo de contacto. | 24 |
| 4.1.7. Espectroscopia de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS). | 24 |
| 4.1.8. Pirólisis acoplada a espectroscopia de masas (Py-GC/MS). | 25 |
| 4.4. Determinación de los intermediarios radicalarios mediante resonancia paramagnética de espín (EPR). | 25 |
| 4.5. Determinación de productos de Oxidación | 27 |
| CAPÍTULO 5. Resultados y Discusión. | 28 |
| 5.1. Evaluación de la capacidad quelante y reductora de la lignina Kraft. | 28 |
| 5.1.1. Caracterización de los cambios estructurales de la lignina por resonancia magnética nuclear de ¹³ C (RMN ¹³ C)..... | 29 |
| 5.1.2. Evaluación de interacciones Fe(III)-lignina mediante resonancia paramagnética de espín (EPR). | 32 |
| 5.1.3. Determinación de la formación del complejo Férrico con lignina y su reducción en el tiempo. | 37 |
| 5.2.1. Estimación de la masa molar promedio en peso (Mw) y distribución de masa molar. | 41 |
| 5.2.2. Evaluación de cambios estructurales por RMN de ¹³ C de sólidos. | 43 |
| 5.3. Estudio del mecanismo de despolimerización. | 46 |
| 5.3.1. Determinación del Mw en la cinética de despolimerización. | 46 |
| 5.3.2. Determinación de radicales presentes en la despolimerización. | 50 |
| 5.3.3. Análisis estructural mediante espectroscopia infrarroja (FT-IR). | 53 |
| 5.3.4. Evaluación morfológica mediante microscopia electrónica de barrido (SEM). | 57 |
| 5.3.5. Evaluación de la hidrofobicidad superficial durante la despolimerización. | 58 |
| 5.3.6. Cuantificación de los grupos OH por RMN de ³¹ P | 59 |
| 5.3.7. Pirólisis acoplada a cromatografía gaseosa-espectroscopia de masas (Py-GC-MS). | 62 |
| 5.4. Identificación de los productos de oxidación por GC-MS. | 63 |
| 5.5. Propuesta de mecanismo de despolimerización. | 67 |

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO 6. Conclusión..... | 70 |
| CAPÍTULO 7. Perspectivas y proyecciones tecnológicas..... | 71 |
| CAPÍTULO 8. Productividad científica..... | 72 |
| CAPÍTULO 9. Referencias..... | 83 |
| CAPÍTULO 10. Anexos..... | 93 |

Índice de Figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1: Parte de la estructura tridimensional de la lignina. (Creación propia) | 2 |
| Figura 2: Precursores monolignoles y sus unidades de fenilpropano derivadas en la estructura de la lignina (creación propia) | 3 |
| Figura 3: Ciclo redox de la reacción de Fenton (con las etapas principales). (modificada de [20]).... | 6 |
| Figura 4:A) Reacción de formación del aducto DMPO-OH. B) Señal característica del aducto en EPR. | 10 |
| Figura 5: Señal en EPR para radical PhO• | 11 |
| Figura 6: Esquema global de la estrategia analítica. | 17 |
| Figura 7: Tratamiento de datos para calcular Mw, Mn y Đ para las muestras de GPC..... | 22 |
| Figura 8: A) señal EPR del aducto •OH-DMPO y B) señal EPR del radical Fenoxi de la lignina...26 | |
| Figura 9: Espectro RMN para LK (línea negra), Fe-LIG-5 min (línea roja) y Fe-LIG-120 min (línea azul). | 30 |
| Figura 10: Espectros RMN de sólidos para las bandas respectivas de la lignina (línea negra), Fe-LIG-5min (línea roja), Fe-LIG-120min (línea azul), observando su desplazamiento y cambio de intensidad: A) Banda de los 155 ppm, B) Banda de los 141 ppm, C) Banda de los 114 ppm y D) Banda de los 64 ppm. | 31 |
| Figura 11: Representación esquemática para lo que ocurriría con la coordinación de Fe(III). | 32 |
| Figura 12: Espectros EPR para A) LK inicial y B) sal de Fe(NO ₃) ₃ x 9H ₂ O. con sus respectivos valores g | 33 |
| Figura 13: Espectros EPR para A) Muestra Fe-LIG, con sus respectivos valores g, B) y C) Comparación LK inicial (línea negra) con Fe-LIG-5min (línea roja). | 34 |

| | |
|--|----|
| Figura 14: Evolución temporal del área integrada y normalizada de las señales de $g \sim 4.3$ (negro) y de $g \sim 2.00$ (rojo), con sus respectivas líneas de tendencias las cuales se ajustan a curvas polinómicas de grado 3. | 35 |
| Figura 15: Grafico de la cinética de quelación del Fe(III) (cuadrados negros) y producción de Fe(II) (círculos rojos). | 37 |
| Figura 16: Gráficos de pseudo-primer orden para la A) quelación de Fe(III), cuya ecuación de la recta es $\ln C_t = -0.0122t - 0.385$ con un $R^2 = 0.976$ y B) Reducción de Fe(III), cuya ecuación de la recta es $\ln (C_\infty - C_t) = -0.0139t - 0.426$, con un $R^2 = 0.990$: | 38 |
| Figura 17: Gráfico de superficie de respuesta del diseño CCC: Efecto de las concentraciones de Fe(III) y de H_2O_2 sobre el Mw de la lignina. | 40 |
| Figura 18: Distribución del peso molecular de la lignina Kraft antes (línea negra) y después de la despolimerización (línea roja). | 42 |
| Figura 19: RMN de sólidos de ^{13}C para LK inicial (línea negra) y para el sistema LTF (línea roja). | 44 |
| Figura 20: Espectro RMN de sólidos, especificando la comparación de desplazamiento químico e intensidad de la LK inicial frente a LTF, para A) Banda de 155 ppm, B) banda de 141 ppm, C) banda de 114 ppm y D) banda de 64 ppm. | 45 |
| Figura 21: Grafico de A) la cinética de despolimerización Log Mw vs el tiempo de reacción, usando las condiciones óptimas de 0.44 mgL^{-1} de Fe(III) y 68 mgL^{-1} de H_2O_2 y B) la tasa de cambio. | 47 |
| Figura 22: : Evolución temporal de la señal integrada del radical OH en el sistema LTF (negra), el control Tipo Fenton (roja), control LF (azul) y control LH (verde) durante 5 horas | 51 |
| Figura 23: Cinética de la evolución temporal del radical Fenoxi en el sistema Lignina-Tipo Fenton durante 2 horas. | 53 |
| Figura 24: Espectro FT-IR de la lignina no tratada. | 55 |
| Figura 25: Espectros FT-IR normalizados por banda de 1500 nm en la huella dactilar para los sistemas estudiados. | 56 |

| | |
|---|----|
| Figura 26: : Propiedades morfológicas y superficiales de la lignina durante la cinética de despolimerización a tiempos: (A) 0 min, (B) 50 min y (C) 120 min. | 58 |
| Figura 27: Mediciones de ángulo de contacto para la cinética de despolimerización | 59 |
| Figura 28: Espectro RMN para la lignina Kraft inicial con sus respectivas asignaciones..... | 60 |
| Figura 29: Grafico comparativo para la cuantificación de grupos hidroxilo durante la despolimerización. | 61 |
| Figura 30: Grafico de los productos de pirolisis en % para los tiempos de LK inicial, LTF a tiempo 50 min y LTF a tiempo 120 min..... | 63 |
| Figura 31: Cromatograma GC-MS de los compuestos aromáticos formados durante la despolimerización de la lignina Kraft..... | 65 |
| Figura 32: Esquema propuesto para comprender el mecanismo de despolimerización de la lignina kraft por reacción de Tipo Fenton. | 69 |

Índice de tablas

| | |
|--|----|
| Tabla 1: Valores de las variables estudiadas por el diseño experimental..... | 21 |
| Tabla 2: Comparación de métodos tradicionales de despolimerización versus el método desarrollado en este proyecto..... | 66 |

Abreviaturas

| | | | |
|-------------|---|---------------------|---|
| Lk | Lignina Kraft | FT-IR | Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier |
| Fe(III)-LIG | Complejo Fe(III)-Lignina | SEM | Microscopía electrónica de barrido |
| LTF | Sistema Lignina + Fe(III) + H ₂ O ₂ | RMN ¹³ C | Resonancia magnética nuclear de carbono 13 |
| LF | Sistema Lignina + Fe(III) | RMN ³¹ P | Resonancia magnética nuclear de fosforo 31 |
| LH | Sistema Lignina + H ₂ O ₂ | EPR | Espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica de espín |
| •OH | Radical Hidroxilo | ICP-MS | Plasma de acoplamiento inductivo acoplado a espectroscopia de masas |
| PhO• | Radical Fenóxilo | GC-MS | Cromatografía gaseosa acoplada a espectroscopia de masas |
| G | Unidades de guayacilo | Py-GC-MS | Pirolisis acoplada a Cromatografía gaseosa acoplada a espectroscopia de masas |
| S | Unidades de siringilo | | |
| H | Unidades de p-hidroxifenilo | | |
| Đ | Dispersidad | | |
| Mw | Masa promedio en peso | | |
| CCC | Diseño circunscrito central compuesto | | |
| GPC | Cromatografía de permeación en gel | | |

Resumen

La valorización de la lignina Kraft mediante procesos de despolimerización ha sido identificada como una estrategia clave para el avance hacia una bioeconomía sostenible. No obstante, los métodos tradicionales presentan limitaciones significativas: los procesos térmicos y catalíticos suelen requerir condiciones severas (elevada temperatura, presión y costos), mientras que los procesos biológicos se caracterizan por su baja velocidad de reacción. En este contexto, los procesos de oxidación avanzada (AOPs) han sido propuestos como alternativas promisorias, debido a su capacidad para generar especies reactivas capaces de romper estructuras recalcitrantes como la lignina. Entre estos, la reacción de Fenton (basada en la activación del peróxido de hidrógeno en presencia de hierro) destaca por su eficiencia en la generación de radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$). Sin embargo, su aplicación convencional requiere la incorporación de agentes reductores o catalizadores adicionales para mantener el ciclo redox del hierro, lo que limita su escalabilidad.

En el presente trabajo se desarrolló un proceso de despolimerización tipo Fenton bajo condiciones moderadas (bajas concentraciones de Fe(III) y H_2O_2 , temperatura ambiente y presión atmosférica), aprovechando la capacidad dual de la lignina Kraft para quelar y reducir Fe(III) a Fe(II) , permitiendo así la generación continua de radical hidroxilo sin necesidad de aditivos externos. Las condiciones del proceso fueron optimizadas mediante un diseño experimental circunscrito central compuesto, identificándose como óptimas $0,4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Fe(III) y $68 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de H_2O_2 , lo que resultó en una reducción del 49 % en el peso molecular promedio (M_w), con una disminución del índice de dispersidad (Đ) de 3,12 a 2,52 según análisis por GPC.

Los análisis complementarios mediante FT-IR, SEM, ángulo de contacto, RMN y pirólisis evidenciaron modificaciones estructurales y morfológicas consistentes con una despolimerización de tipo oxidativo. Adicionalmente, el análisis por GC-MS permitió identificar cuatro productos principales. Estos hallazgos contribuyen a una comprensión más profunda del mecanismo de despolimerización de la lignina y evidencian el doble rol funcional de esta biomolécula como agente quelante y reductor, habilitando un proceso autoactivado, sin catalizadores externos, y potencialmente cíclico. En conjunto, se propone una ruta sostenible y de bajo impacto energético para la valorización de la lignina Kraft, con aplicaciones potenciales en la producción de compuestos aromáticos de valor agregado.

Abstract

The valorization of Kraft lignin through depolymerization processes has been identified as a key strategy for advancing a sustainable bioeconomy. Nevertheless, conventional methods exhibit significant limitations: thermal and catalytic approaches typically require harsh conditions (high temperature, pressure, and cost), whereas biological processes are characterized by slow reaction rates. Within this context, advanced oxidation processes (AOPs) have been proposed as promising alternatives due to their ability to generate reactive species capable of degrading recalcitrant structures such as lignin. Among these, the Fenton reaction—based on the activation of hydrogen peroxide in the presence of iron—has demonstrated high efficiency in generating hydroxyl radical ($\bullet\text{OH}$). However, its conventional implementation necessitates the addition of reductants or external catalysts to sustain the iron redox cycle, thereby limiting scalability.

In the present study, a Tipo Fenton depolymerization process was developed under mild conditions (low concentrations of Fe(III) and H_2O_2 , room temperature, and atmospheric pressure), leveraging the dual functionality of Kraft lignin to chelate and reduce Fe(III) to Fe(II), thus enabling continuous hydroxyl radical generation without external additives. Process conditions were optimized using a central circumscribed composited experimental design, identifying $0.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of Fe(III) and $68 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of H_2O_2 as optimal, resulting in a 49 % reduction in weight-average molecular weight (Mw) and a decrease in dispersity (Đ) from 3.12 to 2.52, as determined by GPC.

Complementary analyses by FT-IR, SEM, contact angle, NMR, and pyrolysis revealed structural and morphological changes consistent with oxidative depolymerization. Furthermore, GC-MS analysis identified four major products. These findings provide deeper insight into the depolymerization mechanism of lignin and underscore its dual role as both a chelating and reducing agent, enabling a self-activated, catalyst-free, and potentially cyclic process. Overall, a sustainable and low-energy pathway for Kraft lignin valorization is proposed, with promising applications in the production of value-added aromatic compounds.

CAPÍTULO 1. Introducción

Durante décadas, el petróleo ha constituido la principal materia prima para la producción de combustibles, productos químicos y materiales esenciales para la industria moderna y la vida cotidiana [1]. No obstante, al tratarse de un recurso no renovable, su disponibilidad limitada, junto con los impactos medioambientales, económicos y sociales asociados a su extracción y utilización, han evidenciado la necesidad urgente de identificar alternativas sostenibles. En este contexto, la biomasa lignocelulósica —compuesta principalmente por celulosa (40-55%), hemicelulosa (24-40%) y lignina (18-25%) [2]— ha sido reconocida como un recurso renovable de alto potencial.

1.1. Lignina.

La lignina ha sido considerada el segundo biopolímero más abundante después de la celulosa, y representa la principal fuente renovable de compuestos aromáticos. Posee una estructura química compleja y tridimensional (Figura 1), compuesta principalmente por tres unidades de fenilpropano: p-hidroxifenilo (H), guayacilo (G) y siringilo (S) unidas entre ellas por enlaces C-C y C-O, siendo el más abundante el enlace Aril-éter (β -O-4), quien representa el 50% y 60% del total de enlaces en maderas blandas y duras respectivamente, siendo el enlace más fácil de romper en comparación con los enlaces condensados durante la despolimerización y conversión de la lignina [3], por lo que la ruptura del β -O-4 también se considera un paso crítico de la despolimerización de la lignina para ser utilizada como materia prima para producir productos químicos [4].

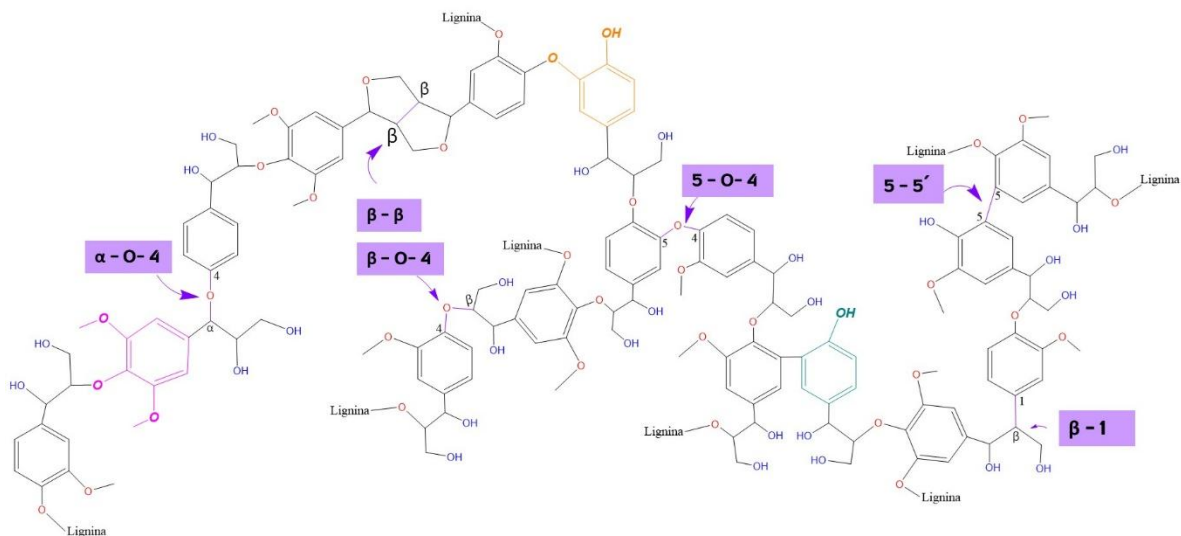


Figura 1: Parte de la estructura tridimensional de la lignina. (Creación propia)

La composición estructural de la lignina varía significativamente según el origen botánico, lo que determina la proporción relativa de las unidades H, G y S (Figura 2). En las maderas blandas (coníferas), la lignina está constituida principalmente por unidades G (90–95%), con trazas de H (0–8%) y S (0–5%), lo que confiere una estructura más condensada y menos susceptible a procesos oxidativos. Por el contrario, las maderas duras (frondosas) presentan una lignina de tipo mixto, con proporciones de 25-50% de unidades G y 50-75% de unidades S y una baja presencia de H (<5%), característica que favorece una mayor reactividad química en procesos de deslignificación [2]. En las plantas herbáceas, la lignina exhibe una composición más heterogénea, con contenidos elevados de H (15–20%) y proporciones comparables de G y S (35–40%), lo que se asocia a una estructura menos condensada y mayor accesibilidad a agentes químicos [5], [6], [7].

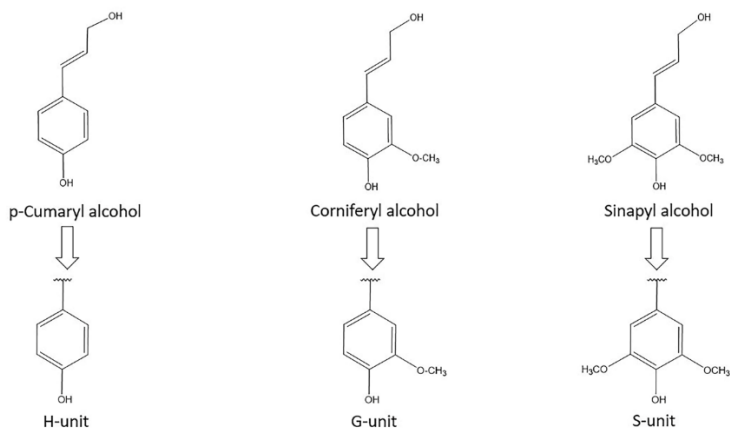


Figura 2: Precursores monolignoles y sus unidades de fenilpropano derivadas en la estructura de la lignina (creación propia)

La lignina puede ser clasificada como lignina nativa o lignina técnica. La lignina nativa hace referencia a la estructura original de la lignina en la lignocelulosa sin ninguna modificación, esta lignina no existe por si sola en la naturaleza, siempre forma parte de la lignocelulosa. Por lo tanto, la mayor parte de la lignina que se estudia es lignina modificada o técnica, que es la lignina extraída de la biomasa o recuperada como subproductos industriales. La principal fuente de lignina técnica de las industrias es la Lignina Kraft (LK), también existe otros tipos de lignina, como la lignina sulfito, la lignina organosolv, la lignina hidrolizada, etc [8]. La composición y el peso molecular de estas ligninas técnicas son diferentes según sus fuentes y métodos de extracción.

El proceso Kraft es uno de los principales métodos tradicionales para la producción de pulpa y papel [9], durante este proceso, la madera es tratada con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) e hidrosulfuro de sodio (NaHS) a una temperatura que varía entre 150-170°C. La lignina resultante en su mayoría es usada como combustible para la producción de energía, debido a sus propiedades químicas, la LK es hidrofóbica y no es muy reactiva al menos que sufra modificaciones químicas, tiene presencia de grupos tiol (-SH), responsables de su olor característicos y posee un 1-2% de azufre en su composición [10].

Considerando la amplia disponibilidad de la LK y su riqueza estructural, resulta esencial desarrollar estrategias eficaces para su valorización, orientadas a su transformación en productos químicos de valor agregado.

1.2. Despolimerización de lignina: estrategias y desafíos para la generación de productos de valor agregado.

La despolimerización de la lignina en productos aromáticos de bajo peso molecular ha sido ampliamente investigada como una estrategia para su valorización, dado que dichos compuestos pueden emplearse como precursores en la síntesis de bioresinas, adhesivos, polímeros, antioxidantes y otros materiales de alto valor tecnológico. Las estrategias exploradas incluyen métodos térmicos (pirolisis, procesos asistidos por microondas), catalíticos (utilizando catalizadores ácidos o básicos, líquidos iónicos y fluidos supercríticos) y biológicos (mediante microorganismos o enzimas) [11], [12], [13], [14].

No obstante, la mayoría de estas técnicas presentan limitaciones. Los métodos térmicos y catalíticos, si bien han demostrado ser eficaces, suelen requerir condiciones operativas severas (temperaturas superiores a 180 °C, altas presiones, uso de ácidos fuertes o catalizadores metálicos complejos), además de generar residuos que comprometen la sostenibilidad del proceso. Por otro lado, los procesos biológicos operan bajo condiciones suaves, pero se caracterizan por bajos rendimientos y tiempos de reacción prolongados.

Aunque diversas estrategias han mostrado eficacia en la despolimerización tanto de compuestos modelo como de lignina industrial, estas se llevan a cabo a temperatura elevadas, presiones intensas y el uso de reactivos agresivos por lo que, su implementación a escala presenta desafíos relacionados con la severidad de las condiciones requeridas, el gasto energético, el impacto medio ambiental y la viabilidad económica de los procesos.

1.3. Procesos avanzados de oxidación: Reacción de Fenton.

Entre las alternativas más estudiadas para la despolimerización oxidativa de lignina se encuentran los procesos de oxidación avanzada (AOPs, por sus siglas en inglés), los cuales se basan en la generación de radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$), especies altamente reactivas con un potencial oxidante de 2,8 V. Estos radicales pueden generarse mediante sistemas como TiO_2/UV , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, O_3/UV , $\text{Fe(II)}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ y variantes tipo Fenton (electro-Fenton, foto-Fenton, sono-Fenton, entre otros) [15].

En este contexto, la reacción de Fenton, reportada por primera vez en 1894 por H.J.H. Fenton, ha sido ampliamente investigada. Esta reacción implica la descomposición del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en presencia de iones Fe(II) , generando radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$) (Ecuación 1) [16]:



Posteriormente, en 1932, Haber y Weiss propusieron que el Fe(III) generado puede ser reducido nuevamente a Fe(II) mediante una reacción adicional con H_2O_2 , produciendo radicales perhidroxilo ($\text{HO}_2\bullet$) (Ecuación 2) [17], [18]:



Estas reacciones conforman un ciclo redox de descomposición del H_2O_2 catalizada por Fe que alterna entre los estados de oxidación $\text{Fe(II)}/\text{Fe(III)}$, como se ilustra en la Figura 3. Esta alternancia es esencial para la regeneración continua de especies oxidantes [19].

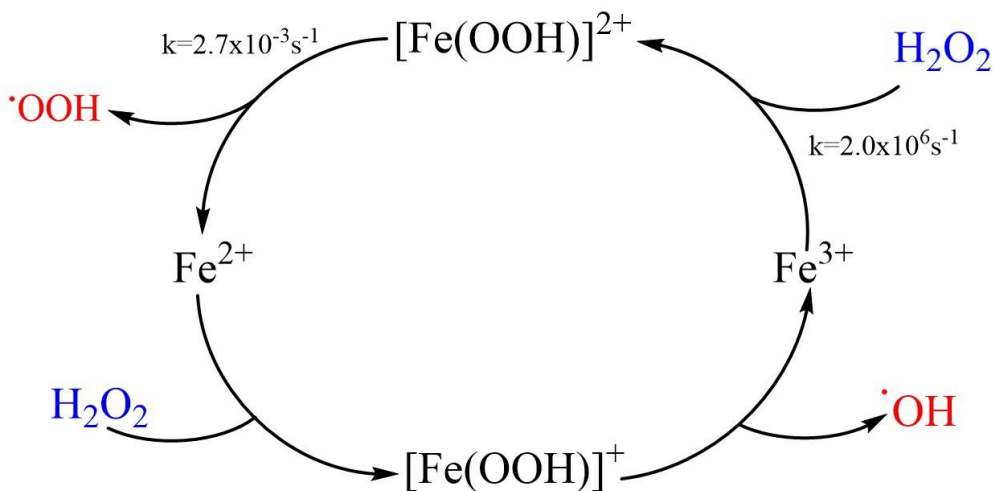


Figura 3: Ciclo redox de la reacción de Fenton (con las etapas principales). (modificada de [20])

Para utilizar sistemas Fenton se deben considerar dos factores importantes: el pH de trabajo y la etapa lenta del ciclo redox.

La reacción Fenton presenta su óptima reactividad en condiciones ácidas ($\text{pH} \approx 3.0$), ya que a medida que aumenta el pH se modifica la esfera de coordinación del metal hasta el punto en que en medios alcalinos el Fe(III) tiende a precipitar como $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ($\text{p}K_{\text{ps}} \approx 38.8$). el cambio en la esfera de coordinación del Fe reduce su disponibilidad en solución afectando directamente la reactividad del sistema Fenton [21].

La regeneración de Fe(II) desde Fe(III) representa la etapa limitante del ciclo debido a la lenta descomposición del peroxocomplejo de Fe(III) ($[\text{Fe}(\text{OOH})]^{2+}$), cuya velocidad ($2.7 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$) es considerablemente inferior a la velocidad de etapa previa en donde se incorpora el H_2O_2 a la esfera de coordinación del Fe(III) ($2.0 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$) [19]. Por esta razón, para mantener la eficiencia del proceso, se emplean agentes quelantes o reductores que estabilizan al Fe y facilitan su reciclaje redox [20]. Una de las estrategias más reportadas se basa en la utilización de sistemas biomiméticos inspirados en la biodegradación de biomasa lignocelulósica por hongos de pudrición parda [22].

Considerando que la regeneración de Fe(II) constituye la etapa limitante del ciclo Fenton, la selección del sustrato resulta determinante para modular la eficiencia del sistema. En este trabajo se emplea LK, no solo por su amplia disponibilidad industrial derivada del proceso de pulpaje Kraft, sino también por su riqueza en estructuras fenólicas y grupos funcionales capaces de participar en procesos de transferencia electrónica. Estas características permiten evaluar su doble rol potencial como sustrato oxidativo y como modulador del ciclo Fe(II)/Fe(III), integrando la reactividad intrínseca de la biomasa residual dentro de la dinámica redox del sistema.

La posibilidad de que compuestos derivados de lignina modulen el ciclo Fe(II)/Fe(III) encuentra sustento en sistemas biológicos, donde estructuras fenólicas participan activamente en procesos redox asociados a la generación de especies reactivas de oxígeno.

1.4. Sistemas Fenton presentes en la biodegradación natural de biomasa lignocelulósica.

En sistemas naturales, la degradación de la lignina puede ser promovida por hongos de pudrición parda, los cuales utilizan en mecanismos no enzimáticos que involucran la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) mediante reacciones de tipo Fenton. Para que esto ocurra en estos sistemas fragmentos de lignina desmetilada se comportan como agentes quelantes y donadores de electrones, promoviendo la conversión de Fe(III) a Fe(II) en el microambiente de la pared celular [23], [24]. Tamaru *et al.* (2019) investigaron como estructuras fenólicas metoxiladas de lignina y superficies lignocelulósicas son capaces de reducir Fe y generar ROS mediante mecanismos similares a la química Fenton mediada por quelantes, utilizada por hongos de pudrición parda, y además se dieron cuenta que esta reducción no es estequiométrica, es decir, un solo compuesto fenólico puede reducir múltiples moles de Fe, fenómeno denominado *Multiple Iron Reduction (MIR)* [25].

Por su parte, Arantes et al (2012), estudiaron el mecanismo bioquímico estos hongos en la degradación de paredes celulares lignificadas. En una etapa inicial el hongo secreta ácido oxálico, que actúa como agente quelante, solubilizando al Fe(III) presente en la madera. Una vez liberado, el Fe(III) es reducido a Fe(II) mediante compuestos fenólicos y derivados de quinona. Esta reducción permite que ocurra la reacción de Fenton, generando radical $\bullet\text{OH}$, los cuales penetran en la estructura lignocelulósica y provocan rupturas aleatorias en polisacáridos, además de inducir modificaciones químicas en la lignina, tales como fragmentación parcial y cambios en grupos funcionales [22].

El conjunto de estos eventos evidencia que las reacciones tipo Fenton inducen una ruptura no selectiva de la lignina, generando compuestos aromáticos de menor peso molecular y favoreciendo la formación de complejos Fe(III)-lignina (Fe(III)-LIG). Este proceso no constituye un evento aislado, sino parte de un sistema que posibilita la despolimerización del sustrato lignocelulósico mediante sistemas radicalarios. Este mecanismo natural de generación de ROS y especies radicalarias, que produce la despolimerización de la lignina, ha inspirado investigaciones orientadas a replicar sus principios bajo condiciones controladas en laboratorio.

En este marco conceptual, la LK puede considerarse un modelo pertinente para evaluar experimentalmente estos principios biomiméticos. Si bien su estructura ha sido modificada durante el proceso alcalino de pulpaje, conserva unidades fenólicas y dominios aromáticos capaces de participar en procesos redox análogos a los descritos en sistemas naturales. El estudio de su comportamiento en sistemas tipo Fenton permite, por tanto, analizar bajo condiciones controladas la interacción entre fragmentos lignínicos y el ciclo Fe(II)/Fe(III), contribuyendo a esclarecer los fundamentos mecanísticos de su despolimerización oxidativa.

Dado que estos procesos se encuentran mediados por la generación y transformación de especies reactivas, resulta fundamental analizar la naturaleza y el rol de los radicales involucrados en la despolimerización oxidativa de la lignina.

1.5. Especies radicalarias presentes en la despolimerización de lignina.

La despolimerización oxidativa de la lignina en sistemas fúngicos y biomiméticos se sustenta en la generación de especies radicalarias que actúan como agentes clave en la ruptura de enlaces C-C y C-O del polímero aromático. Recientemente Chunhui Ma *et al.* (2024), quienes realizaron una revisión sobre los mecanismos radicalarios en la despolimerización oxidativa de la lignina, proponen que la generación y control de radicales determina la eficiencia y selectividad del proceso, además de la sinergia generada entre radicales orgánicos y ROS para optimizar la conversión hacia productos de valor agregado. Por ello, el estudio de estas especies es fundamental para comprender el mecanismo radicalario de despolimerización [26].

La identificación de estas especies puede realizarse mediante espectroscopía de resonancia paramagnética electrónica (EPR), técnica que permite detectar compuestos con electrones desapareados y obtener información sobre su entorno químico y estado de oxidación [27]. En el contexto de sistemas tipo Fenton aplicados a lignina, los radicales de mayor relevancia son el radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$), especies orgánicas derivadas de estructuras fenólicas y los centros metálicos paramagnéticos asociados al ciclo Fe(II)/Fe(III).

El radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$) constituye el principal agente oxidante del sistema Fenton ($E^\circ = +2,8 \text{ V}$), siendo responsable de la oxidación no selectiva del sustrato. Su detección mediante EPR suele realizarse utilizando trampas de espín como DMPO, que forman aductos estables detectables espectroscópicamente, como se muestra en la Figura 4 [28], [29], [30].

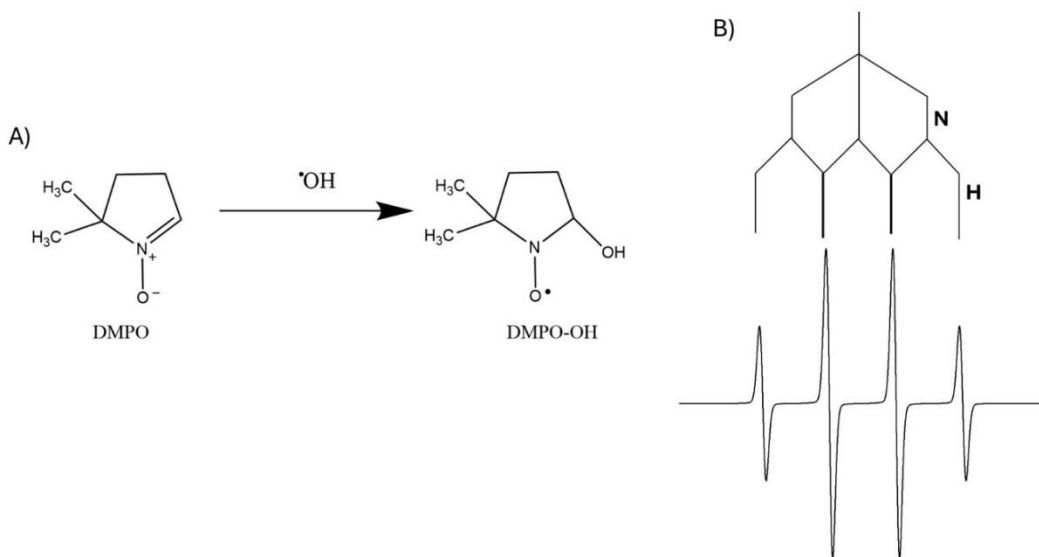


Figura 4:A) Reacción de formación del aducto DMPO-OH. B) Señal característica del aducto en EPR.

Por otra parte, la oxidación de grupos fenólicos en la lignina conduce a la formación de radicales fenoxi, especies relativamente estabilizadas por resonancia que participan en procesos de transferencia electrónica y propagación radicalaria[26]. Asimismo, la señal de Fe(III) detectable por EPR permite monitorear el estado del ciclo redox hierro-peróxido, dado que este es el centro catalítico responsable de la generación de ROS.

En conjunto, el análisis de estas especies radicalarias proporciona información clave para comprender los mecanismos de despolimerización oxidativa en sistemas Lignina-Fe(III) (LF).

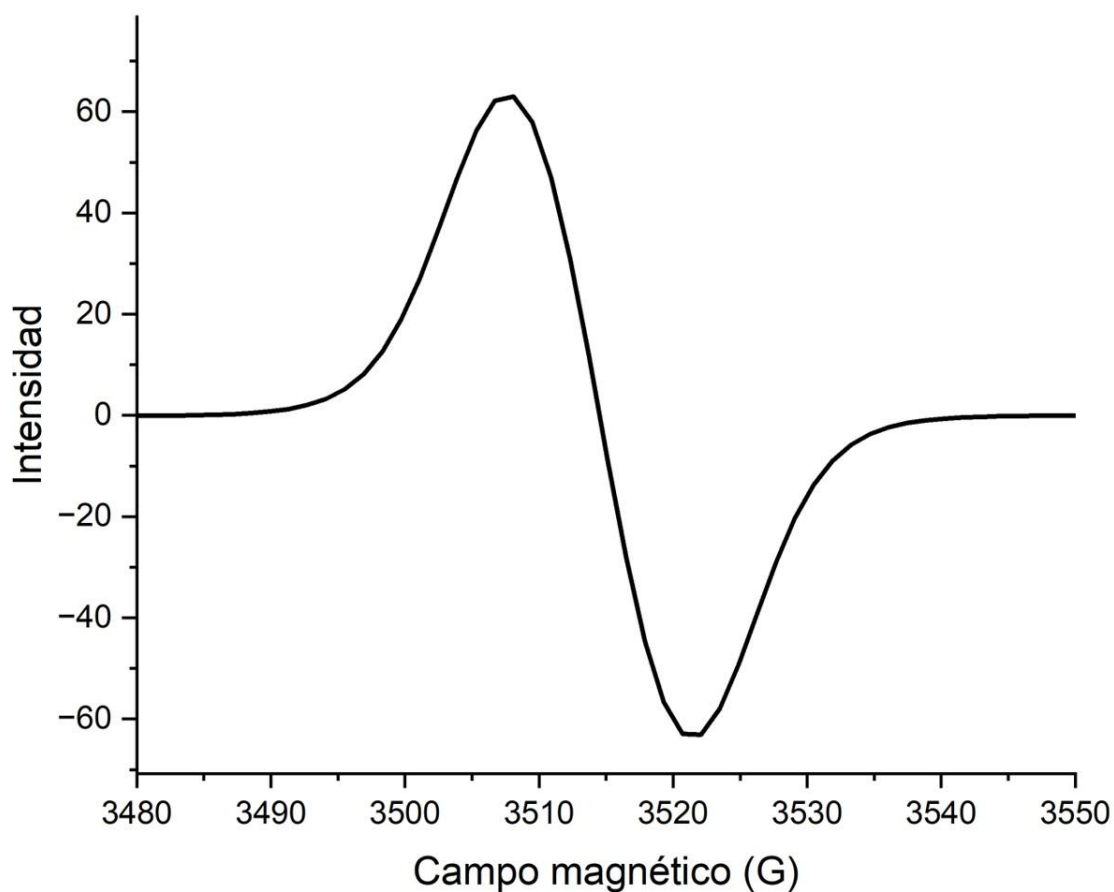


Figura 5: Señal en EPR para radical PhO•

1.6. Enfoque de esta investigación.

A pesar del potencial de la reacción de Fenton para promover la oxidación de lignina, su implementación técnica enfrenta desafíos relevantes, particularmente relacionados con el manejo del hierro y la necesidad de aditivos para mantener activo su ciclo redox. Estas exigencias incrementan los costos operativos y comprometen la sostenibilidad del proceso.

En este contexto, el presente trabajo propone una aproximación alternativa: emplear la propia lignina Kraft como agente quelante y reductor de Fe(III), permitiendo la regeneración continua de Fe(II) y la activación de H₂O₂ sin necesidad de aditivos externos. Gracias a su elevado contenido de grupos

funcionales fenólicos y carboxílicos, la lignina posee la capacidad de estabilizar al hierro en solución y facilitar su reducción, generando un sistema tipo Fenton autoactivado.

Este enfoque permite operar bajo condiciones moderadas (temperatura ambiente, presión atmosférica, pH ácido $\approx 3,0$), lo que mejora la viabilidad técnica, económica y ambiental del proceso. En consecuencia, esta investigación se orienta al desarrollo y comprensión de dicho sistema autooxidativo, evaluando tanto la eficiencia de despolimerización como los mecanismos involucrados, con el objetivo de establecer una ruta sostenible y escalable para la valorización de lignina Kraft mediante procesos de oxidación avanzada.

CAPÍTULO 2. Hipótesis y objetivos

2.1. Hipótesis.

La lignina Kraft posee la capacidad de actuar simultáneamente como agente reductor y quelante de Fe(III), permitiendo el establecimiento de un sistema tipo Fenton autoactivado bajo condiciones moderadas. Esta estrategia facilita la generación de especies radicalarias oxidantes capaces de inducir la despolimerización selectiva de la lignina, promoviendo la formación de productos oxidados de menor masa molar y potencial valor agregado, sin requerir aditivos externos.

2.2. Objetivo Principal.

Desarrollar y caracterizar un sistema tipo Fenton autoactivado, basado en la interacción entre lignina Kraft y Fe(III), que permita inducir su despolimerización oxidativa bajo condiciones moderadas, evaluando tanto la eficiencia del proceso como la generación de productos con valor agregado.

2.3. Objetivos específicos.

1. Optimizar las condiciones del sistema Tipo Fenton para maximizar la despolimerización oxidativa de la lignina, utilizando el peso molecular promedio (Mw) como variable de respuesta.
2. Evaluar la capacidad de la lignina Kraft para formar complejos con Fe(III) y reducirlo a Fe(II), determinando su rol en la autoactivación del sistema tipo Fenton.
3. Caracterizar estructural y químicamente la lignina antes, durante y después del tratamiento, mediante técnicas analíticas complementarias, con el fin de evaluar la eficiencia del proceso y la formación de productos de baja masa molar.
4. Proponer un esquema de reacción para el proceso de despolimerización oxidativa, integrando la evidencia experimental obtenida sobre el comportamiento redox del sistema y los intermediarios radicalarios involucrados.

CAPÍTULO 3. Estrategia Analítica

Con el objetivo de desarrollar un sistema tipo Fenton autoactivado a partir de lignina Kraft y evaluar su capacidad para inducir una despolimerización oxidativa eficiente, se diseñó una estrategia analítica integral, estructurada en tres etapas principales: (i) Evaluación de la capacidad quelante/reductor de la lignina (ii) optimización del sistema de reacción para la despolimerización, y (iii) Estudio del mecanismo de reacción y determinación de los productos generados.

Dado que la lignina Kraft fue utilizada en estado sólido, el sistema de reacción resultó ser heterogéneo, sin requerir un pretratamiento específico previo a la despolimerización. No obstante, para la aplicación de ciertas técnicas analíticas fue necesario implementar procedimientos de preparación de muestra, tales como derivatización, digestión ácida y extracción en fase sólida (SPE), los cuales se describen a continuación.

3.1. Derivatización.

La derivatización química consiste en modificar estructuralmente los grupos funcionales de un compuesto con el fin de mejorar su detectabilidad, estabilidad o solubilidad durante el análisis instrumental. En este estudio, se empleó una derivatización por acetilación utilizando anhídrido acético y piridina, con el objetivo de reducir la polaridad de la muestra y mejorar su solubilidad en tetrahidrofurano (THF), requerida para el análisis por cromatografía de permeación en gel (GPC). Esta reacción transfiere grupos acetilo ($-\text{COCH}_3$) a grupos hidroxilo ($-\text{OH}$) presentes en estructuras fenólicas o alcohólicas de la lignina. El procedimiento detallado se presenta en el Capítulo 4: Metodología.

3.2. Digestión ácida.

La digestión ácida es una técnica comúnmente utilizada para la descomposición de materia orgánica y la solubilización de elementos traza en medios acuosos. En este caso, se aplicó para transformar la lignina sólida en una disolución adecuada para su análisis mediante espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), permitiendo la detección de metales como el hierro sin interferencias orgánicas y en concentraciones apropiadas. Este procedimiento se describe en mayor detalle en el Capítulo 4.

3.3. Extracción en fase sólida (SPE).

La extracción en fase sólida fue empleada para el aislamiento y preconcentración de productos de degradación presentes en la fase líquida tras la reacción de despolimerización. Esta técnica fue seleccionada por su simplicidad, reproducibilidad, bajo consumo de solventes y alta eficiencia en términos de recuperación. Posteriormente, las muestras fueron analizadas mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) para la identificación de compuestos orgánicos volátiles de baja masa molar. El procedimiento específico se detalla en el Capítulo 4.

3.4. Propuesta de estrategia analítica.

En una primera etapa, se evaluaron las propiedades fisicoquímicas de la lignina Kraft utilizada como materia prima, con énfasis en su funcionalidad química (grupos fenólicos y carbonílicos), estructura macromolecular y morfología. Esta información fue clave para comprender el potencial de la lignina como agente reductor y quelante de Fe(III), y para establecer una línea base que permitiera monitorear los cambios inducidos por la reacción tipo Fenton.

Posteriormente, se desarrolló un sistema Tipo Fenton operando en condiciones ambientales. Se aplicó un diseño experimental circunscrito central compuesto (CCC) para evaluar el efecto conjunto de las concentraciones de Fe(III) y H₂O₂ sobre el grado de despolimerización de la lignina, utilizando el peso molecular promedio (Mw) como variable de respuesta principal. Este enfoque permitió identificar las condiciones óptimas del proceso sin recurrir a niveles elevados de reactivos ni a la incorporación de catalizadores externos.

Finalmente, se caracterizaron las muestras tratadas mediante un conjunto de técnicas analíticas complementarias:

GPC: para cuantificar cambios en la distribución de masa molar.

FT-IR y RMN: para evaluar modificaciones estructurales a nivel funcional.

SEM y ángulo de contacto: para observar cambios morfológicos en la superficie sólida.

EPR: para detectar especies radicalarias intermedias generadas durante la reacción.

Pirólisis acoplada a GC-MS y GC-MS: para identificar productos volátiles de baja masa molar y evaluar su posible valor agregado.

En conjunto, esta estrategia permitió abordar la complejidad del sistema lignina–hierro–peróxido desde una perspectiva tanto macroscópica como molecular, generando evidencia para sustentar la viabilidad de un proceso de despolimerización autoactivado, eficiente y sostenible.

Para facilitar la comprensión global del enfoque propuesto, se presenta un esquema visual en la Figura 6 resumiendo de la estrategia analítica.

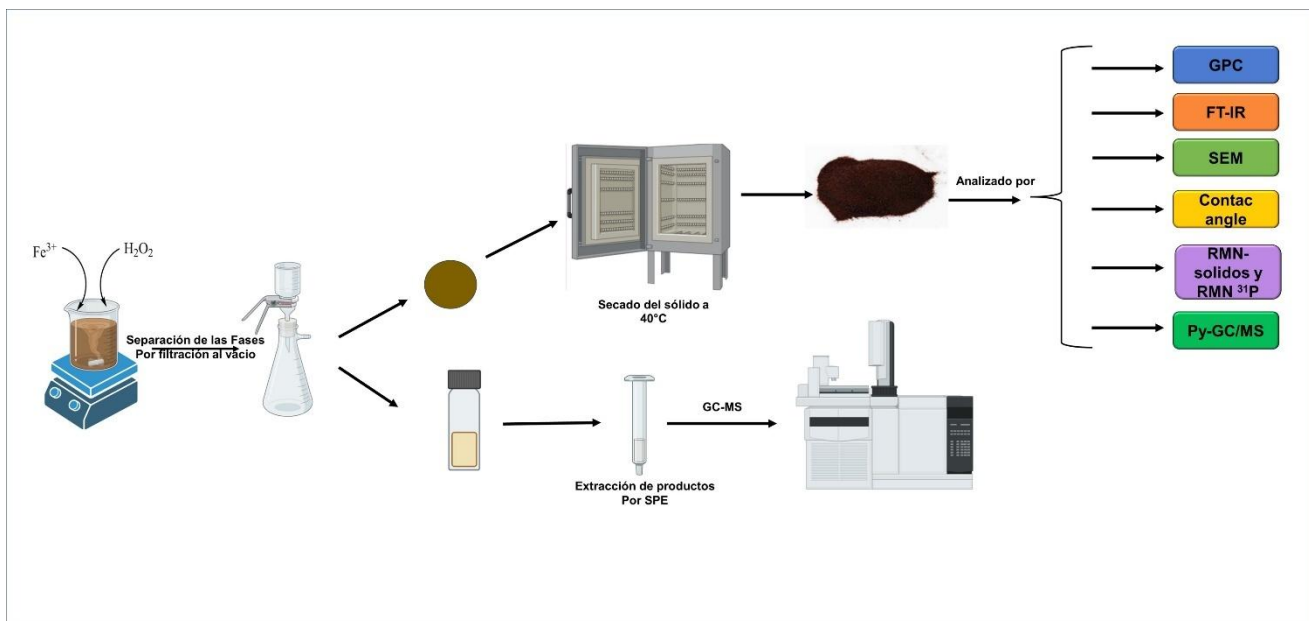


Figura 6: Esquema global de la estrategia analítica.

CAPÍTULO 4. Metodología

Todos los reactivos químicos utilizados fueron de grado analítico y adquiridos comercialmente (Merck y Sigma-Aldrich).

Las soluciones empleadas en este estudio fueron preparadas con agua tipo I y posteriormente acidificadas a pH 3,0 mediante la adición de ácido nítrico (HNO_3). El hierro en estado férrico (Fe(III)) se incorporó como nitrato férrico nonahidratado ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$), mientras que el hierro en estado ferroso (Fe(II)) se utilizó como sulfato ferroso heptahidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). En todos los experimentos, las soluciones de hierro y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) fueron preparadas el mismo día de su uso, realizándose los ensayos por triplicado y a temperatura ambiente.

4.1. Capacidad quelante y reductor de la lignina Kraft.

Estas propiedades fueron evaluadas de manera indirecta mediante tres técnicas analíticas complementarias, descritas a continuación.

4.1.1. RMN de sólidos ^{13}C CP/MAS.

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear de estado sólido ^{13}C con polarización cruzada y giro al ángulo mágico (CP/MAS) fue empleada para analizar las estructuras carbonadas de la lignina en estado sólido. Esta técnica permite obtener espectros con mayor resolución al promediar las interacciones anisotrópicas mediante el giro rápido de la muestra a $54,74^\circ$ respecto al campo magnético (ángulo mágico). La aplicación de polarización cruzada desde ^1H hacia ^{13}C mejora significativamente la sensibilidad, permitiendo detectar grupos funcionales como carbonos aromáticos, metoxilos y enlaces $\beta\text{-O-4}$, característicos de la lignina.

Para el análisis, se preparó un reactor de 300 mL con 150 mg de lignina y $0,3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ de Fe(III), manteniéndose la mezcla bajo agitación constante durante 10 minutos. Posteriormente, la muestra fue

filtrada al vacío y el sólido recuperado se secó en desecador durante 24 horas. Las muestras se analizaron sin disolver, utilizando rotores de ZrO_2 con diámetro de 4 mm en una sonda multinúcleo.

Las mediciones se realizaron en un espectrómetro marca Bruker, modelo Ascend™ de 400 MHz, equipado con una sonda multinúcleo modelo PH MAS 400 SB BL4 N-P/H.

4.1.2. Espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica (EPR).

La espectroscopía de resonancia paramagnética electrónica (EPR) permite detectar especies con electrones desapareados, como radicales libres o iones metálicos en estados de oxidación paramagnéticos. A diferencia de la RMN, que estudia núcleos atómicos, la EPR se basa en la interacción del momento magnético de los electrones desapareados con un campo magnético externo, proporcionando información sobre el entorno químico, la simetría del complejo y el estado de oxidación del metal.

En este estudio, se utilizó EPR para monitorear la señal del ion $Fe(III)$, con el fin de evaluar su interacción con la lignina y explorar la posible formación de un complejo lignina–hierro. Experimentalmente, se prepararon soluciones en un reactor de 50 mL con 25 mg de lignina y $0,3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de $Fe(III)$, manteniéndose la reacción bajo agitación a temperatura ambiente durante distintos tiempos: 5, 10, 30, 50, 80, 100 y 120 minutos. Las muestras fueron filtradas al vacío, el sólido recuperado se secó bajo flujo de nitrógeno durante 10 minutos, y se pesaron 10 mg de muestra seca para su análisis por EPR.

Las mediciones se realizaron en un espectrómetro EPR marca Bruker, utilizando celda para muestras sólidas. Los parámetros de adquisición fueron: Campo central: 3200 G, ancho de barrido: 6000 G, tiempo de barrido: 30 s, ganancia del receptor: 30 dB, amplitud de modulación: 14 G, Número de escaneos: 1, atenuación: 20 dB, potencia: 2 mV

4.1.3. Espectrofotometría UV-visible.

La espectrofotometría UV-visible fue utilizada para evaluar la capacidad quelante y reductora de la lignina Kraft mediante el seguimiento de la absorbancia de dos complejos de hierro:

- i) **Capacidad quelante:** se determinó a partir de la disminución de la absorbancia del complejo $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$, cuya longitud de onda máxima se encuentra en 480 nm [31], usando KSCN (50 mmolL^{-1}).
- ii) **Capacidad reductora:** se evaluó mediante la formación del complejo Ferrozina (3 mmolL^{-1})– Fe^{2+} , cuya absorbancia máxima se registra a 562 nm[32].

Las mediciones se realizaron a temperatura ambiente en un espectrofotómetro Agilent con arreglo de diodos. Para ello, se utilizó un reactor de 200 mL con 100 mg de lignina y $0,3 \text{ mmolL}^{-1}$ de Fe(III), monitoreándose ambos complejos durante un periodo de 2 horas.

4.2. Despolimerización y diseño experimental.

A partir de los ensayos preliminares (ver Anexos), se determinó que el tiempo de reacción debía mantenerse constante en 50 minutos. Por lo tanto, la optimización se centró exclusivamente en las concentraciones de Fe(III) y H_2O_2 , mediante la aplicación de un diseño experimental circunscrito central compuesto (CCC), basado en un modelo cuadrático.

Para los ensayos de despolimerización, se utilizó un reactor de 200 mL que contenía 100 mg de lignina Kraft, junto con las concentraciones de Fe(III) y H_2O_2 indicadas en la Tabla 1.

Tabla 1: Valores de las variables estudiadas por el diseño experimental.

| Variable | Valor alto (+1) | Valor bajo (-1) | $-\sqrt{2}$ | $+\sqrt{2}$ |
|--|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| <i>Fe(III)</i> | 0,60 mgL ⁻¹ | 0,20 mgL ⁻¹ | 0,11 mgL ⁻¹ | 0,69 mgL ⁻¹ |
| <i>H₂O₂</i> | 85 mgL ⁻¹ | 51 mgL ⁻¹ | 18,46 mgL ⁻¹ | 92,03 mgL ⁻¹ |

4.2. Caracterización de la lignina.

Las técnicas analíticas empleadas para caracterizar la muestra sólida de lignina fueron aplicadas antes, durante y después del proceso de despolimerización, con el propósito de determinar sus propiedades físicas, químicas, morfológicas y estructurales.

4.1.1. Cromatografía de permeación en gel (GPC).

La distribución de masa molar y el peso molecular promedio en peso (Mw) fueron determinados mediante cromatografía de permeación en gel (GPC). Para mejorar la solubilidad de la lignina en tetrahidrofurano (THF), la muestra fue sometida a un proceso de acetilación. En este procedimiento, se utilizaron 20 mg de lignina, a los cuales se añadieron 2,0 mL de piridina y 2,0 mL de anhídrido acético. La mezcla fue agitada de manera continua durante 20 horas a temperatura ambiente. Posteriormente, se agregaron 40 mL de agua destilada y la suspensión fue centrifugada a 4000 rpm durante 10 minutos. El sólido obtenido fue separado y secado en horno a 105 °C durante 2 horas. Finalmente, el residuo sólido fue disuelto en 2,0 mL de THF, filtrado mediante filtros de nylon de 0,22 μm e inyectado en el sistema GPC [33], [34], [35].

Los análisis fueron realizados en un sistema GPC (Waters Corporation, EE.UU.) equipado con columnas Styragel HR0.5 THF, HR1 THF y HR4 THF, un detector de índice de refracción modelo 2414, una bomba HPLC binaria modelo 1425 y un automuestreador modelo 717 plus. Las mediciones se efectuaron a 40 °C utilizando THF como eluyente, con un caudal de 0,50 mLmin⁻¹[36]. La calibración del sistema se realizó empleando patrones de poliestireno en un rango de masas moleculares entre 78 y 112000 g·mol⁻¹. El procesamiento de los datos fue efectuado manualmente para cada muestra inyectada, utilizando los programas EXCEL y ORIGIN. Para ello se tomaron los datos de señal, tiempo de retención del pico cromatográfico correspondiente y la M_w de cada punto de la ventana tomada, calculado con la ecuación de la recta de ellos estándares de poliestireno y se armo una la tabla con el contenido correspondiente para determinar M_w, M_n y Đ como se ilustra en la Figura 7 [37].

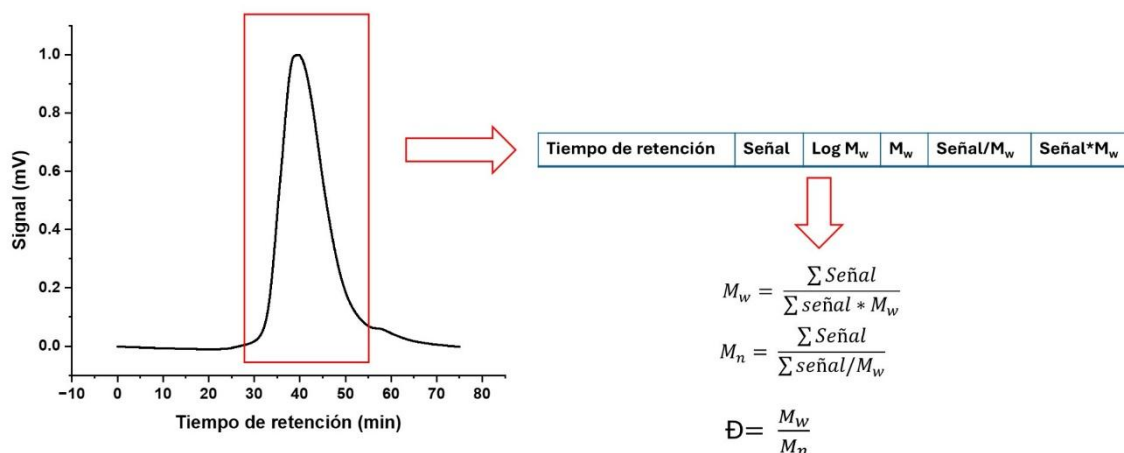


Figura 7: Tratamiento de datos para calcular M_w, M_n y Đ para las muestras de GPC

4.1.2. Espectroscopia infrarroja media con transformada de Fourier (FT-IR).

La espectroscopía FT-IR fue empleada para identificar los grupos funcionales presentes en la lignina Kraft. Para ello, se utilizó una pastilla elaborada con polvo de lignina seca. Los espectros fueron registrados a 25 °C mediante un espectrómetro modelo NEXUS NICOLET, en el rango de 4000–400 cm^{-1} , con una resolución de 4 cm^{-1} y un total de 64 barridos [38].

4.1.3. Microscopía electrónica de barrido (SEM).

La microscopía electrónica de barrido (SEM) fue utilizada para evaluar los cambios morfológicos de la lignina durante el proceso de despolimerización. Las muestras analizadas correspondieron a lignina seca, la cual fue prensada en forma de pastillas y metalizada con oro utilizando un equipo SPI. Los análisis fueron realizados mediante microscopía electrónica de barrido por emisión de campo (FESEM), modelo GEMINISEM 360 GEMINI 1 (Carl Zeiss Microscopy, 2023), equipado con un filamento tipo Schottky. La resolución alcanzada fue de 0,7 nm a 15 kV. Los datos fueron adquiridos mediante el software SMARTSEM 7.01 Service Pack 3.

4.1.4. Resonancia magnética nuclear de ^{31}P (RMN ^{31}P).

La resonancia magnética nuclear de fósforo-31 (RMN- ^{31}P) fue utilizada para la caracterización de los grupos hidroxilos presentes en la lignina. Para ello se disolvieron 30 mg de lignina seca en una mezcla de piridina anhídrida y cloroformo deuterado (1,6:1 v/v), bajo agitación constante a temperatura ambiente durante 12 horas. Posteriormente, se adicionaron 100 μL del estándar interno N-hidroxinaftalamida (11,4 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) y 25 μL del relajante 2,4-pentanedionato de cromo(III) (11,4 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$). Finalmente, se incorporó el derivatizante 2-cloro-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxafosfolano, agitando durante 5 a 15 minutos hasta obtener una solución homogénea [39], [40]. Los experimentos de RMN se realizaron en un espectrómetro Bruker Avance NEO 400 que funciona a 400.13 MHz para ^1H y 100.6 MHz para ^{13}C , equipado con una SmartProbeTM (BBO) de detección directa de 5 mm

y un gradiente del eje z ($5 \text{ G cm}^{-1} \text{ A}^{-1}$). Las muestras se analizaron en tubos RMN estándar de 5 mm a 300 K. los experimentos ^{31}P se realizaron utilizando 256 exploraciones y 16 exploraciones ficticias.

4.1.5. Análisis Elemental.

El análisis elemental fue utilizado para determinar el contenido de carbono (C), hidrógeno (H), nitrógeno (N) y azufre (S) en la muestra inicial de lignina. Las mediciones fueron realizadas mediante un analizador EA 1108 (Fisons Instruments, Italia), utilizando fanilamidazol como patrón de calibración. La muestra analizada correspondió a lignina seca. El contenido de oxígeno (O) fue calculado por diferencia, considerando los porcentajes de C, H, N y S.

4.1.6. Angulo de contacto.

La variación en la hidrofobicidad de la lignina antes, durante y después del tratamiento con la reacción de Fenton fue evaluada mediante la medición del ángulo de contacto. Esta medición se realizó depositando una gota de agua sobre la superficie de muestras sólidas secas de lignina. El equipo utilizado fue de la marca Biolin Scientific, y el procesamiento de los datos se efectuó mediante el software OneAttension.

4.1.7. Espectroscopia de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS).

La espectroscopía ICP-MS fue empleada para determinar el contenido de azufre en la muestra sólida posterior al proceso de despolimerización y de Fe antes y después de la despolimerización. Para ello, se utilizaron 10 mg de muestra seca, los cuales fueron sometidos a digestión ácida con 3 mL de ácido nítrico (HNO_3) y unas gotas de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), sobre una placa calefactora a $90 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 1 hora. Una vez enfriada, la muestra fue diluida hasta 25 mL con agua ultrapura y posteriormente filtrada mediante filtros PDVF de $0,22 \text{ }\mu\text{m}$. El análisis fue realizado en un espectrómetro ICP-MS modelo Thermo Scientific iCAP RQ, equipado con un cuadrupolo (SQ). La adquisición de datos se realizó mediante el software Qtegra.

4.1.8. Pirólisis acoplada a espectroscopia de masas (Py-GC/MS).

La técnica de pirólisis acoplada a cromatografía de gases y espectrometría de masas (Py-GC/MS) fue utilizada para identificar los productos generados en distintos tiempos durante el proceso de despolimerización. Este análisis fue realizado en colaboración con el Departamento de Ingeniería de Procesos y Bioproductos de la Universidad del Bío-Bío.

Las pirólisis analíticas fueron llevadas a cabo en un sistema Py-GC/MS compuesto por un pirólisis CDS Pyroprobe 5200HPR acoplado a un cromatógrafo PerkinElmer Clarus 690, conectado a un detector de masas PerkinElmer Clarus SQ-8T MS, siguiendo un procedimiento previamente descrito [41]. Aproximadamente 0,5 mg de muestra fueron colocados en un tubo de cuarzo y calentados hasta 550 °C en atmósfera de helio. La velocidad de calentamiento fue de 12,5 °C cada 7 segundos, y el tiempo de pirólisis fue de 15 segundos. Los compuestos gaseosos generados fueron adsorbidos en una trampa Tenax, la cual fue posteriormente calentada a 280 °C para transferir los compuestos al sistema GC/MS mediante una línea de transferencia mantenida a la misma temperatura.

La separación de los compuestos se realizó utilizando una columna Elite 1701 (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm), con un programa de temperatura de 45 a 280 °C y helio como gas portador a un flujo de 15 mL·min⁻¹. La identificación de los compuestos se efectuó mediante comparación de los espectros de masas obtenidos (rango m/z: 35–300 Da) con la biblioteca MS del NIST (2017).

4.4. Determinación de los intermediarios radicalarios mediante resonancia paramagnética de espín (EPR).

La técnica de resonancia paramagnética de espín (EPR) fue utilizada para identificar las especies radicalarias presentes durante el proceso de despolimerización. De acuerdo con estudios previos, se reconocen principalmente dos tipos de radicales involucrados: i) radical fenoxi y ii) radical hidroxilo [42].

La detección del radical hidroxilo se realizó utilizando DMPO como agente atrapador de radicales. Para ello, se empleó un reactor de 10 mL con 5 mg de lignina y 40 mmolL^{-1} de DMPO, bajo las condiciones optimizadas de concentración de Fe(III) y H_2O_2 obtenidas mediante diseño experimental. La reacción fue monitoreada durante 5 horas, y se registró la señal integrada correspondiente, presentada en la Figura 8A.

En el caso del radical fenoxi, no se utilizó agente atrapador debido a su estabilidad como radical orgánico. El experimento se llevó a cabo en un reactor de 50 mL con 25 mg de lignina, empleando las mismas condiciones optimizadas de Fe(III) y H_2O_2 . La reacción fue seguida durante 2 horas, registrándose la señal integrada y los valores del factor g, como se muestra en la Figura 8B.

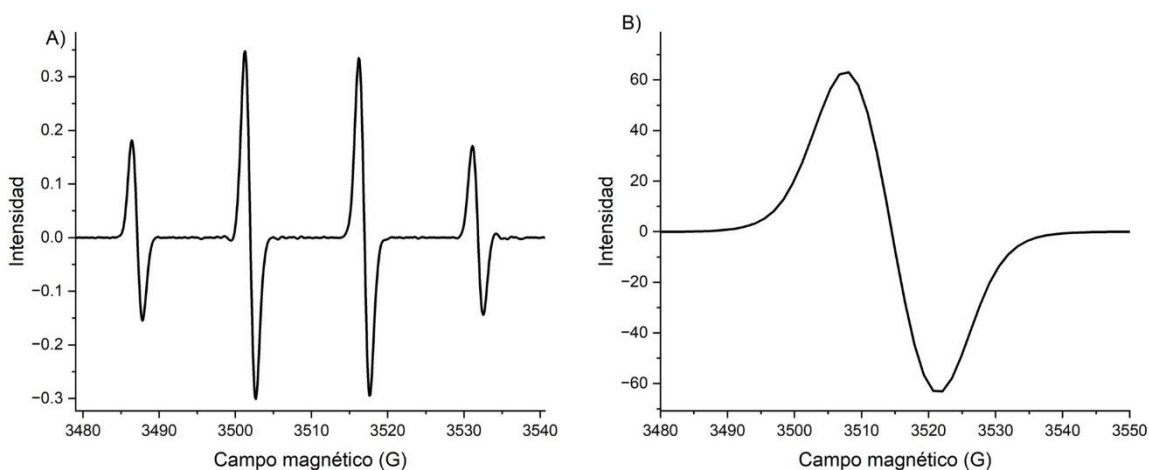


Figura 8: A) señal EPR del aducto $\bullet\text{OH-DMPO}$ y B) señal EPR del radical Fenoxi de la lignina.

4.5. Determinación de productos de Oxidación

Los productos de oxidación generados durante el proceso de despolimerización fueron identificados mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Tras 50 minutos de reacción, utilizando las concentraciones de H₂O₂ optimizadas mediante diseño experimental, las fases fueron separadas por filtración al vacío. La fase líquida fue preconcentrada mediante extracción en fase sólida (SPE), utilizando cartuchos SCX OASIS y diclorometano como eluyente. En este procedimiento, se concentraron 200 mL de muestra en 1 mL de disolvente, seguido de análisis por GC-MS.

Las muestras preconcentradas fueron analizadas utilizando un sistema GC-MS modelo 7890A–5975C (Agilent). El programa de temperatura aplicado fue el siguiente: 60 °C con mantenimiento durante 5 minutos, seguido de un incremento de 5 °C·min⁻¹ hasta alcanzar 250 °C, con un mantenimiento final de 5 minutos. Las temperaturas de inyección y del detector fueron de 260 °C y 280 °C, respectivamente. La separación de los compuestos se realizó en una columna capilar HP5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm).

CAPÍTULO 5. Resultados y Discusión.

Los resultados se presentan junto a su discusión. Para la despolimerización oxidativa de LK se plantea una vía de reacción basada en una reacción de Tipo Fenton autoinducida y amplificada por los mismos grupos funcionales de la lignina, este mecanismo debería ser semejante a una reacción de Fenton conducida por 1,2-Dihidroxibencenos, la cual ha sido extensamente descrita en literatura [20], [43], [44], [45]. De esta forma se presentan, primeramente, la evaluación de la formación de complejos de Fe(III)-LIG, posteriormente se evaluará la despolimerización oxidativa de la lignina, en función de las concentraciones de Fe(III) y de H₂O₂. En la subsección siguiente se describirá la despolimerización de lignina utilizando las concentraciones de Fe(III) y de H₂O₂ optimizadas. Finalmente se describen los productos de oxidación, generados en la despolimerización de la lignina, lo que permite evaluar posibles rutas de reacción.

5.1. Evaluación de la capacidad quelante y reductora de la lignina Kraft.

La capacidad quelante de la lignina Kraft fue evaluada mediante diversas técnicas analíticas complementarias, las cuales permitieron obtener información cualitativa sobre la formación del complejo Fe(III)-LIG y su posterior reducción a Fe(II). Primeramente, se evaluó la estructura de la lignina y el efecto del Fe(III) en la formación de Fe(III)-LIG mediante RMN ¹³C de sólidos. El efecto del complejo en la configuración electrónica del Fe(III), así como el cambio del estado de oxidación se evaluó mediante EPR y finalmente se determinó la formación del complejo Fe(III)-LIG y su reducción en función del tiempo mediante el método de competencia de ligandos, utilizando espectrofotometría UV-visible.

5.1.1. Caracterización de los cambios estructurales de la lignina por resonancia magnética nuclear de ^{13}C (RMN ^{13}C).

La espectroscopía RMN ^{13}C CP/MAS se utilizó para evaluar posibles grupos funcionales de la lignina que interactúan con el Fe(III). Cabe mencionar que la técnica utilizada mejora la resolución espectral mediante el giro de la muestra a $54,74^\circ$ (ángulo mágico) y la polarización cruzada desde ^1H a ^{13}C . Esto permite detectar carbonos aromáticos, metoxilos y enlaces β -O-4 [46]. Estos grupos funcionales fueron evaluados como posibles sitios de unión (ligandos) del Fe(III).

Las señales características del espectro de LK se presentan en la Figura 9. Se observa una banda a los 155 ppm característicos de carbonos fenólicos, otra a los 141 ppm correspondientes a C5-O en enlaces 4-O-5 (es decir, cuando el carbono aromático 5 está enlazado a un oxígeno en una unión éter aromática), a los 114 ppm correspondiente a C5-H en el anillo aromático de unidades G o S (posición 5 no sustituida) y la señal más intensa en 64 ppm, la cual correspondería a un carbono en la región β -O-4, probablemente el C γ (carbono alifático unido a un hidroxilo) en la cadena lateral de la unidad G o S [47].

La Figura 9 muestra los espectros RMN ^{13}C de la lignina no tratada (línea negra), la lignina con Fe(III) a los 5 minutos de interacción (línea roja), y la interacción de la lignina y el Fe(III) a las 2 horas (línea azul). Se evidencian variaciones en intensidad y desplazamiento químico, las cuales se detallan en la Figura 10.

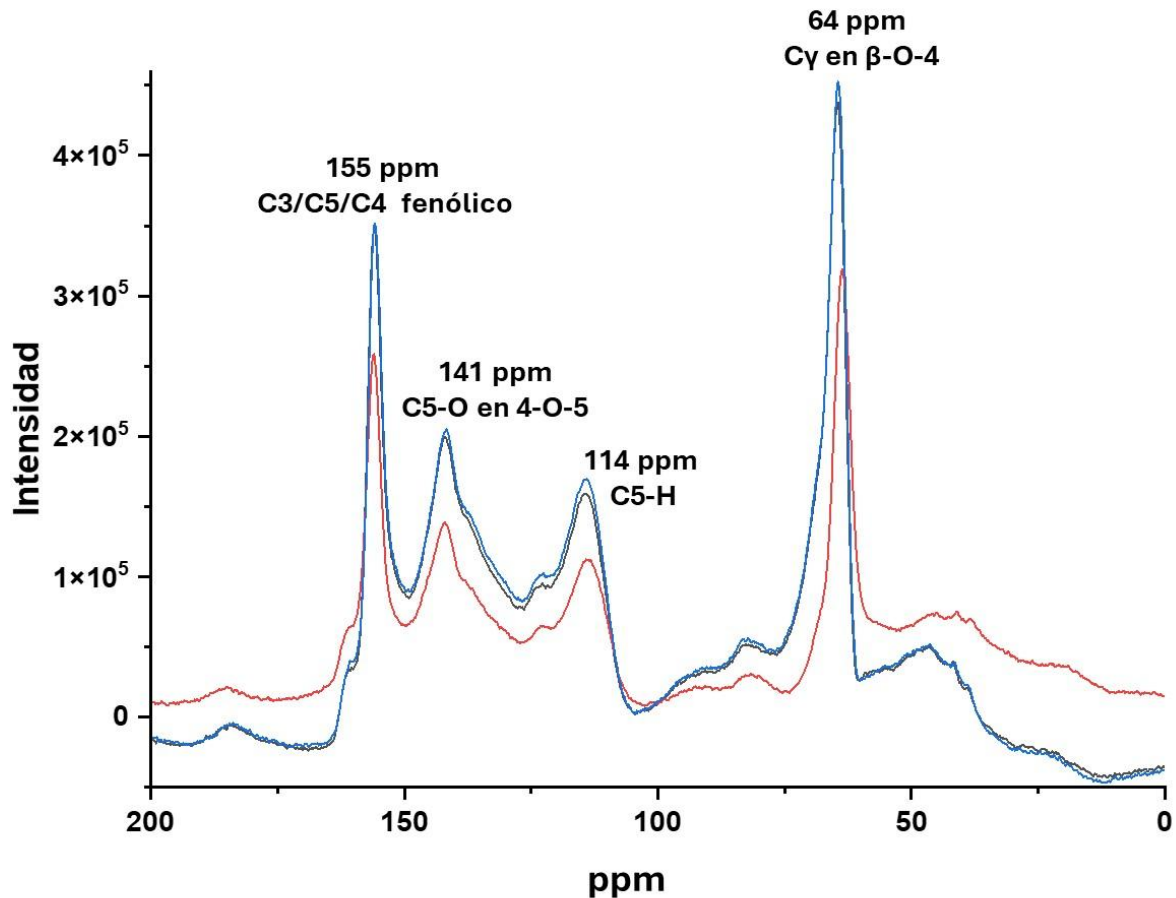


Figura 9: Espectro RMN para LK (línea negra), Fe-LIG-5 min (línea roja) y Fe-LIG-120 min (línea azul).

En la Figura 10 se observa una disminución general de la intensidad en la muestra Fe(III)-LIG-5min (línea roja) respecto a la LK sin modificar (línea negra), lo que sugiere una interacción química inicial entre los grupos funcionales de la lignina y el ion Fe(III). Sin embargo, después de los 120 min de interacción (línea azul), las intensidades retornan a valores cercanos a los originales, lo que indica que la interacción con Fe(III) podría ser transitoria.

Los desplazamientos químicos son más notorios en las señales de 114 ppm (Figura 10C) y 64 ppm (Figura 10D). La primera corresponde a los C5-H en el anillo aromático de unidades S y G, mientras que la segunda es asociada a los carbonos alifáticos del enlace β -O-4 (C γ). Los desplazamientos hacia valores más bajos (negativos) para la muestra Fe(III)-LIG-5min respecto a la LK inicial sugieren una

alteración en el entorno electrónico de estos carbonos, posiblemente por coordinación del Fe(III) con grupos hidroxilo aromáticos o éteres alifáticos, como se ilustra en la Figura 11. Este comportamiento puede interpretarse como evidencia de un cambio reversible en la distribución electrónica inducido por la interacción metal-lignina. La recuperación de los desplazamientos originales tras 120 min indicaría que el Fe(III) no permanece fuertemente coordinado o que es reducido a Fe(II). Estos resultados son consistentes con estudios previos sobre modificaciones químicas en lignina analizadas mediante RMN de estado sólido [48].

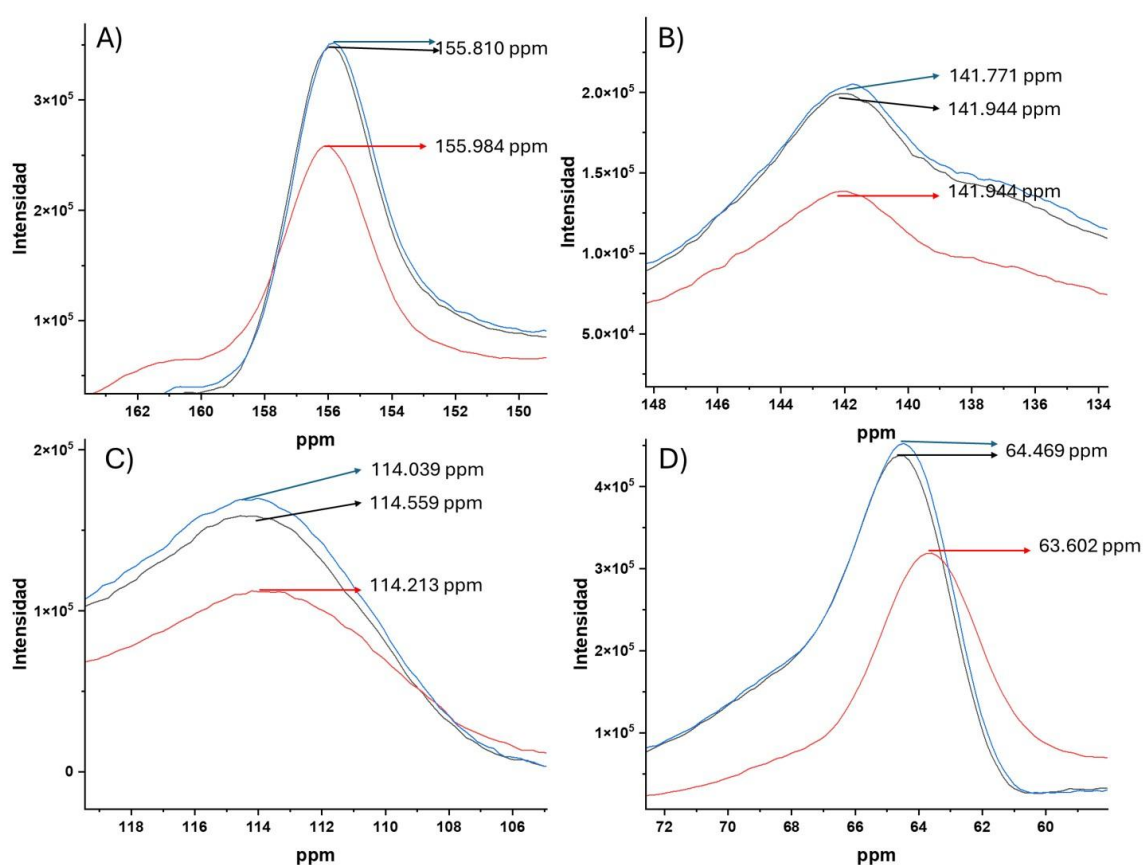


Figura 10: Espectros RMN de sólidos para las bandas respectivas de la lignina (línea negra), Fe-LIG-5min (línea roja), Fe-LIG-120min (línea azul), observando su desplazamiento y cambio de intensidad: A) Banda de los 155 ppm, B) Banda de los 141 ppm, C) Banda de los 114 ppm y D) Banda de los 64 ppm.

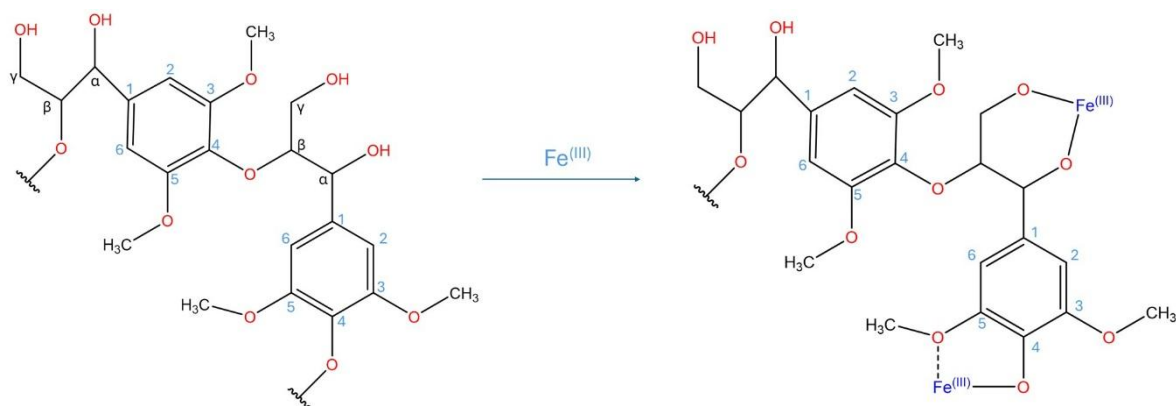


Figura 11: Representación esquemática para lo que ocurriría con la coordinación de Fe(III).

5.1.2. Evaluación de interacciones Fe(III)-lignina mediante resonancia paramagnética de espín (EPR).

La espectroscopia EPR se utilizó para evaluar la interacción del Fe(III) con lignina evaluando la cantidad de señales y los cambios de los valores g . Estos cambios se asocian a la formación de complejos y a la reducción de Fe(III) a Fe(II).

La Figura 12 ilustra los espectros EPR obtenidos para la LK utilizada en este trabajo y la de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \times 9\text{H}_2\text{O}$. El espectro de la LK presenta 3 señales distintas de valores $g \approx 4.257$, $g \approx 2.0013$ y $g \approx 2.023$, de las cuales, solo 1 está directamente asociada a ella y corresponde a la señal más intensa con valor $g \approx 2.0013$, característico de radical $\text{PhO}\cdot$ [49]. Las otras dos señales corresponden a un singlete cercano a los 1500 G (de valor $g \approx 4.257$) que indican un comportamiento ferromagnético del material y a uno o varios sextetes superpuestos (entre 2100 y 2600 G) cuyo valor g es 2.023 en promedio y cuyas separaciones hiperfinas se encuentran entre 72 y 116 G. En conjunto, la señal a valor de g de 4.257 y 2.023 sugieren que la lignina inicial contiene trazas de un metal, que, por ser una especie de sextete, podría estar asociado a Mn(II) [50] o Fe(III) de alto espín. De la cuantificación de metales para LK por ICP se determinó que ambos metales estaban presentes en la muestra (Fe en 0.019 ppm y Mn en 0.048 ppm). Sin embargo, se descarta que el metal sea el Mn(II) dado que este presenta un

sextete característico de separación hiperfina de 92G entre cada una de ellas.

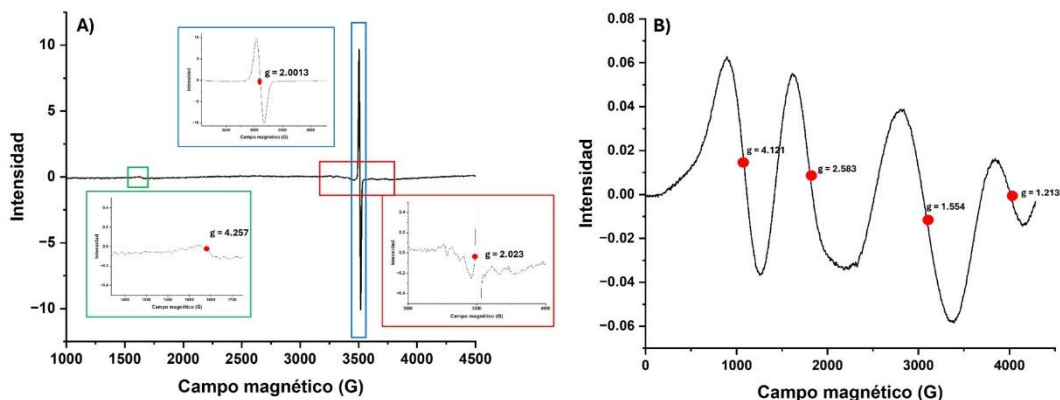


Figura 12: Espectros EPR para A) LK inicial y B) sal de $Fe(NO_3)_3 \times 9H_2O$. con sus respectivos valores g

El espectro EPR obtenido para la sal sólida de Fe(III) muestra cuatro señales principales localizadas en $g \approx 1.213$, $g \approx 1.554$, $g \approx 2.583$ y $g \approx 4.121$ (Figura 12B). Este patrón es característico de especies de Fe(III) en estado de alto espín ($S = 5/2$), lo que indica que el ion presenta una separación interna de niveles de espín causada por la anisotropía del entorno ligante, generando múltiples transiciones octaédrico con ligandos débiles, como nitrato y moléculas de agua, que favorecen un campo cristalino débil y, por tanto, la configuración de alto espín. Este comportamiento coincide con lo reportado para complejos Fe(III) con nitrato, donde se observa anisotropía marcada y valores g dispersos debido a la heterogeneidad del entorno ligante [51]

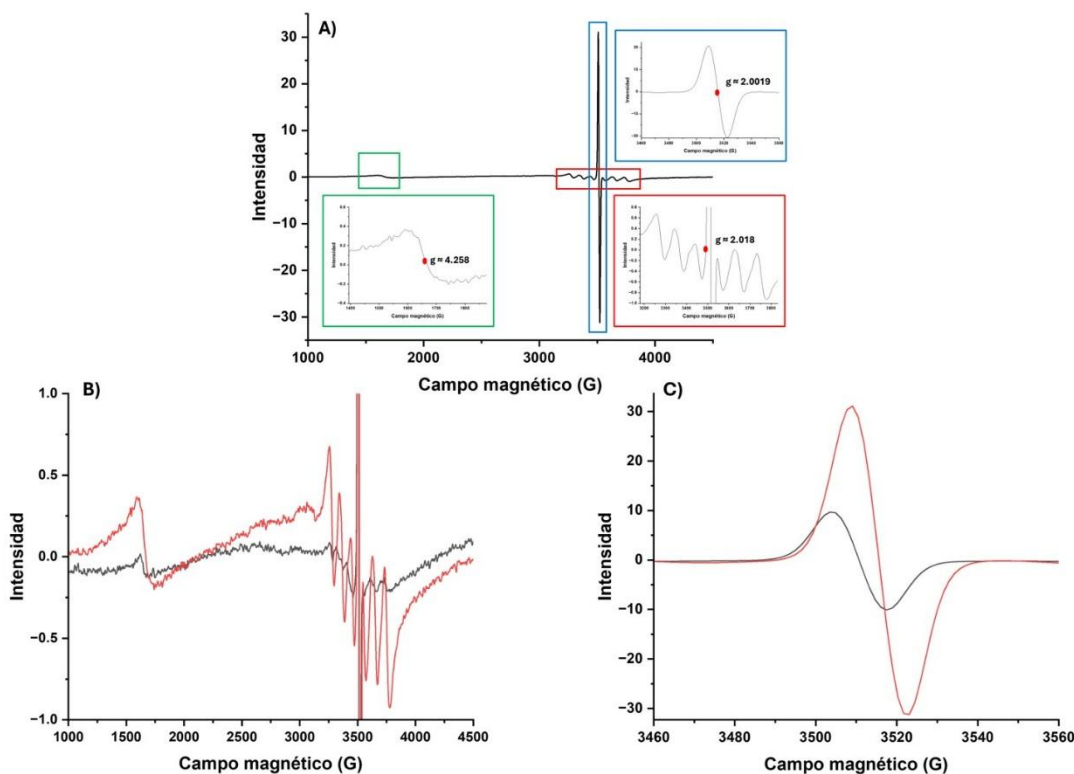


Figura 13: Espectros EPR para A) Muestra Fe-LIG, con sus respectivos valores g , B) y C) Comparación LK inicial (línea negra) con Fe-LIG-5min (línea roja).

La Figura 13A muestra el espectro EPR de la muestra de lignina recargada con 121 ppm de Fe(III), tras 5 minutos de interacción en medio acuoso ácido ($\text{pH}=3.00$). Al igual que el espectro obtenido para la LK se observó la señal asociada a $\text{PhO}\cdot$ (2.0019) y las dos señales del Fe(III) con valor $g \approx 4.258$ y $g \approx 2.018$. De la comparación de los espectros LK y Fe(III)-LIG (Figura 13B y 13C) podemos observar un aumento en todas las señales, en específico el aumento del sextete confirma que efectivamente corresponde a Fe(III) y no a Mn(II), por otro lado, el aumento de la señal de $g \approx 2.0013$ -2.0019, demuestra que existe una interacción entre la lignina y el Fe(III), alterando ligeramente la distribución electrónica, y como vimos por RMN existe efectivamente una coordinación de la lignina hacia el Fe(III).

Por otro lado, al analizar el cambio en los sextetes asociados al Fe(III) mientras avanza el tiempo de interacción Fe(III)-LIG, se observó que luego de los 5 minutos esta señal va disminuyendo (Figura

A1 en anexos). Igualmente se observaron cambios en la distancia entre los peaks asociados a los sextetes solapados, por ejemplo, la señal entre el primer y segundo peak varía de 92 G a 72 G (5 y 120 min respectivamente) (Ver Tabla A1, en anexos). Esto indica que la esfera de coordinación del Fe(III) no mantiene un entorno químico definido [52], lo que se entiende considerando la heterogeneidad estructural de la lignina como fuente de ligandos para el metal, que ofrece múltiples sitios de coordinación con geometría y simetrías distintas. Este fenómeno se ve incrementado debido a la interacción redox, previamente reportada entre lignina y Fe(III) [23], que puede generar radicales derivados de la lignina, tales como fenoxi o semiquinona, que representarían una nueva opción de ligando que puede incorporarse a la esfera de coordinación del metal. Adicionalmente, los derivados del fenol presentan valores de g próximos a 2.00 [49], por lo que podrían quedar superpuestos a la señal del metal generando la aparición de hombros o señales adicionales en el espectro.

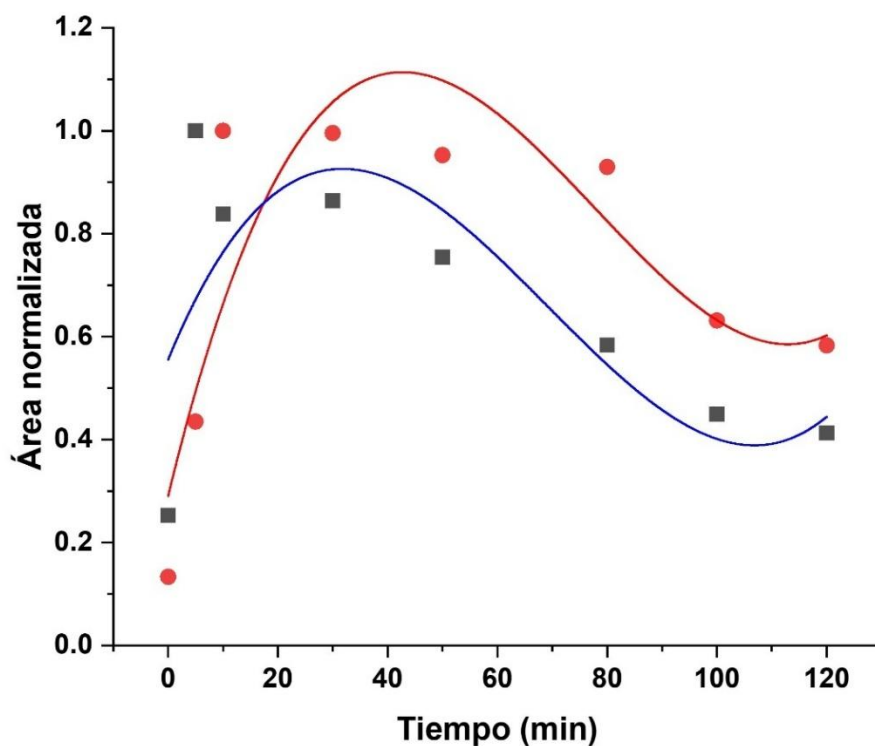


Figura 14: Evolución temporal del área integrada y normalizada de las señales de $g \sim 4.3$ (negro) y de $g \sim 2.00$ (rojo), con sus respectivas líneas de tendencias las cuales se ajustan a curvas polinómicas de grado 3.

Para una mayor observación de lo que va sucediendo en el tiempo en la interacción Fe(III)-lignina, se integraron las señales correspondientes a $g \sim 4.3$ y $g \sim 2.0$ obteniéndose el gráfico presentado en la Figura 14. Este seguimiento temporal reveló dos etapas:

- i) Entre 0-10 minutos la señal en $g \sim 4.3$ alcanzó un máximo a los 10 minutos, mientras que la señal en $g \approx 2,00$ presentó un máximo a los 5 minutos.
- ii) Entre 10-120 minutos, la señal en $g \sim 4.3$ decayó de manera casi monótona, mientras que la señal en $g \approx 2,00$ se mantuvo elevada hasta los 80 minutos, disminuyendo posteriormente entre los 100 y 120 minutos.

La disminución sostenida de la señal en $g \approx 4,3$ fue atribuida a la pérdida de centros Fe(III) anisotrópicos, posiblemente relacionada con: (i) la reducción parcial del hierro, (ii) la reorganización del entorno de coordinación hacia geometrías menos anisotrópicas, o (iii) la formación de puentes Fe–O–Fe que atenúan la señal. Por otro lado, la meseta observada en $g \approx 2,00$ hasta los 80 minutos sugiere un estado cuasi estacionario, en el cual persistieron radicales derivados de la lignina y/o fracciones de Fe(III) en sitios de menor anisotropía. La disminución final fue consistente con la recombinación de radicales y/o reacomodos estructurales que redujeron su contribución a la señal en $g \approx 2,00$.

En conjunto, los resultados indicaron un mecanismo dinámico en el cual, en las primeras etapas, la lignina redujo parcialmente al Fe(III), generando radicales estables que dominaron la señal en $g \sim 2.00$. De forma paralela, se produjo una redistribución de los centros Fe(III) hacia entornos menos anisotrópicos. A tiempos prolongados, parte del Fe(III) remanente se reorganizó hacia sitios más romboédricos, aumentando la contribución relativa de la señal en $g \sim 4.3$. La coexistencia de señales en ambas regiones, junto con su evolución temporal, confirmó la presencia de dos tipos de especies paramagnéticas: radicales orgánicos derivados de lignina y centros Fe(III) en entornos de distinta simetría, cuya proporción y estructura variaron durante la reacción.

5.1.3. Determinación de la formación del complejo Férrico con lignina y su reducción en el tiempo.

La formación del complejo de Fe(III) con Lignin se evaluó mediante la transformación del complejo $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$ en el complejo Fe(III)-LIG. Este complejo fue evaluado mediante la disminución de la absorbancia del complejo $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$, el cual presenta una banda de absorción máxima a 480 nm. La disminución progresiva de la absorbancia (Figura 15, cuadrados negros) durante dos horas confirmó la quelación del Fe(III) por parte de la lignina.

Simultáneamente, la capacidad reductora de la lignina fue evaluada mediante el seguimiento espectrofotométrico de la formación del complejo Fe(II)–ferrozina (Figura 15, círculos rojos). El aumento sostenido de la absorbancia indicó que la lignina facilitó la reducción de Fe(III) a Fe(II).

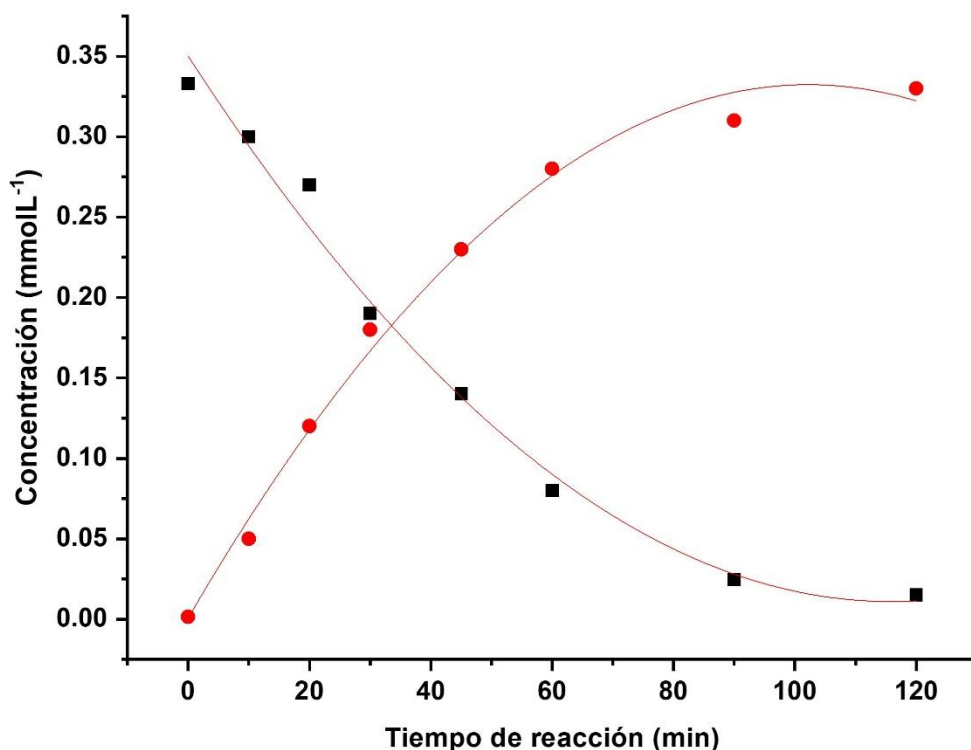


Figura 15: Gráfico de la cinética de quelación del Fe(III) (cuadrados negros) y producción de Fe(II) (círculos rojos).

Se procedió a calcular la constante de pseudo-primer orden para la quelación y reducción de Fe(III), mediante los gráficos de la Figura 16, para después de cada ecuación de la recta obtener la k_{obs} para cada reacción.

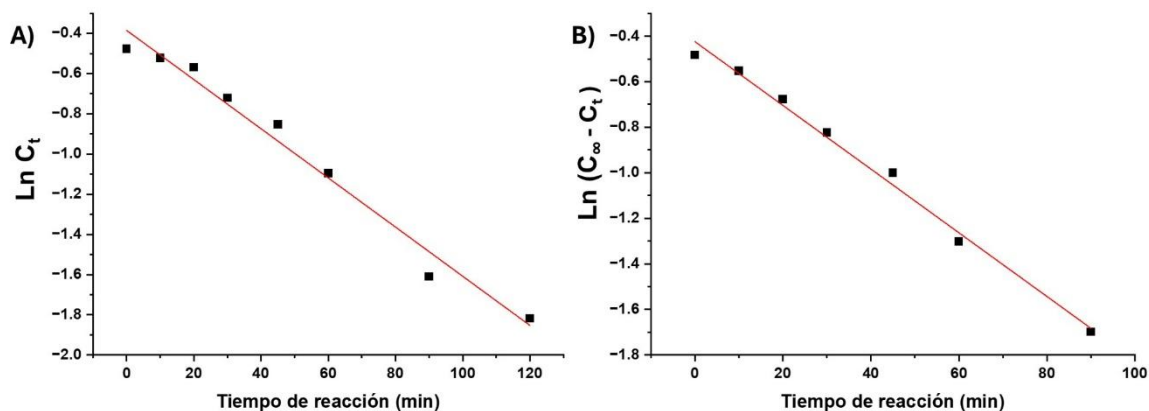


Figura 16: Gráficos de pseudo-primer orden para la A) quelación de Fe(III), cuya ecuación de la recta es $\ln C_t = -0.0122t - 0.385$ con un $R^2 = 0.976$ y B) Reducción de Fe(III), cuya ecuación de la recta es $\ln (C_8 - C_t) = -0.0139t - 0.426$, con un $R^2 = 0.990$:

Entonces tenemos que para la quelación de Fe(III) $\rightarrow \ln C_t = -k_{obs}t + b$ Ecuación 3

su K_{obs} es igual a 0.0122 min^{-1} .

Y para la reducción de Fe (III) $\rightarrow \ln(C_\infty - C_t) = -k_{obs}t + b$ Ecuación 4

su K_{obs} es igual a 0.0139 min^{-1} .

Las constantes de velocidad observadas para la quelación y para la reducción de Fe(III) son muy similares, lo que indica que ambos procesos ocurren a ritmos comparables bajo las condiciones experimentales evaluadas. Esto sugiere que la reducción de Fe(III) por lignina está estrechamente asociada a su quelación, posiblemente a través de un mecanismo secuencial donde la formación del complejo Fe(III)-LIG constituye un paso previo para la transferencia electrónica. El hecho de que ninguna de las dos etapas sea significativamente más rápida que la otra implica que la disponibilidad de grupos fenólicos reactivos y la estabilidad del complejo podrían ser factores limitantes comunes.

Estos resultados respaldan la hipótesis de que la lignina no solo actúa como agente quelante, sino también como reductor eficaz contribuyendo a la formación de Fe(III) en Fe(II) en sistemas heterogéneos, lo cual es relevante para procesos de activación de H₂O₂ en medios lignocelulósicos.

Esta doble funcionalidad, consistente en la capacidad de la lignina para quelar y reducir al Fe(III), permitió establecer un ciclo redox del hierro, manteniendo la generación continua de radical hidroxilo requeridos para el mecanismo de Fenton. Este comportamiento eliminó la necesidad de agentes reductores externos para regenerar Fe(II) en sistemas Fenton convencionales. Además, la regeneración in situ de Fe(II) promovida por la lignina contribuyó a incrementar la eficiencia oxidativa del sistema, al tiempo que favoreció su valorización química.

5.2. Evaluación de la despolimerización.

Tras la realización de ensayos preliminares orientados a evaluar la despolimerización de LK mediante Fe(III) y H₂O₂, se llevó a cabo un análisis exploratorio inicial (Anexo II), en el cual se estudiaron las variables tiempo de reacción, pH y concentraciones de Fe(III) y H₂O₂. A partir de estos resultados preliminares, el pH fue descartado como variable significativa dentro del rango evaluado debido a que no hubo cambios significativos en la respuesta y el tiempo de reacción se estableció como constante debido a que los resultados mostraron que si había un cambio significativo de la respuesta al variar el tiempo. Posteriormente, se aplicó un diseño central compuesto circunscrito (CCC) con el objetivo de optimizar el proceso considerando como variables independientes las concentraciones de Fe(III) y H₂O₂, según lo descrito en la Sección 4.2.

El modelo cuadrático obtenido mediante regresión múltiple se describe en la Ecuación 5:

$$Mw = (2.59 \pm 0.004) \times 10^{-2} + (5.65 \pm 3.34) \times 10^{-4} [Fe^{III}] + (6.18 \pm 2.59) \times 10^{-4} [H_2O_2] - (3.13 \pm 3.81 \times 10^{-3}) [Fe^{III}]^2 - (2.65 \pm 3.17) \times 10^{-3} [H_2O_2]^2$$

Ecuación 5

El análisis estadístico indicó que los términos lineales asociados a ambas variables no fueron estadísticamente significativos ($p > 0,05$), mientras que los términos cuadráticos presentaron contribuciones significativas al modelo. La magnitud y el signo negativo de los coeficientes cuadráticos evidencian la presencia de una superficie con curvatura descendente, consistente con la existencia de un mínimo local en la región central del dominio experimental.

La pendiente moderada observada en la región óptima (Figura 17) sugiere una zona operativamente estable, lo que respalda la robustez del sistema frente a variaciones moderadas en las concentraciones evaluadas.

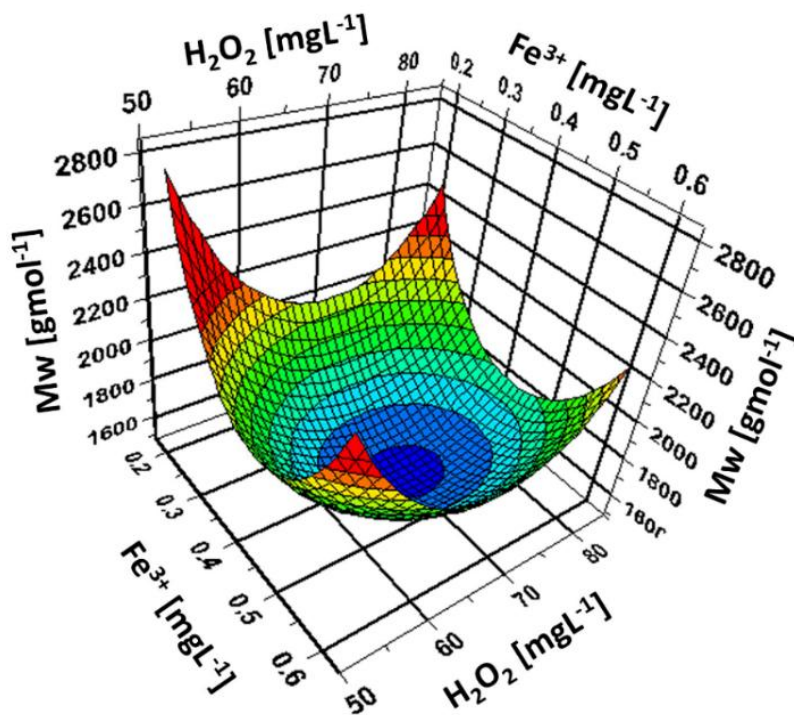


Figura 17: Gráfico de superficie de respuesta del diseño CCC: Efecto de las concentraciones de Fe(III) y de H₂O₂ sobre el Mw de la lignina.

La ausencia de significancia de los términos lineales sugiere que, dentro del rango evaluado, el efecto de cada variable no es estrictamente proporcional, sino que el comportamiento del sistema está dominado por fenómenos no lineales. Desde una perspectiva química, esto puede asociarse a efectos de saturación, autodescomposición del peróxido o competencia entre rutas radicalarias, características típicas de sistemas tipo Fenton.

El análisis de varianza (ANOVA, Anexo A10) confirmó la validez global del modelo ($F = 32,85$; $p = 0,001$), con una falta de ajuste no significativa ($F = 1,123$; $p = 0,503$), lo que respalda su capacidad predictiva dentro del dominio experimental evaluado.

Las condiciones óptimas estimadas correspondieron a $0,4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Fe(III) y $68 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de H_2O_2 . La validación experimental independiente bajo estas condiciones arrojó valores de M_w entre 1438 y $1539 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, en estrecha concordancia con el valor predicho por el modelo ($1507 \pm 65 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$; IC 95%). Esta coincidencia confirma la consistencia del modelo y su capacidad de predicción experimental.

Adicionalmente, la predominancia de términos cuadráticos y la ubicación del óptimo en la región central del diseño indican que el mínimo corresponde a una zona operativamente estable más que a un punto altamente sensible. Esto sugiere una región de operación relativamente robusta frente a variaciones moderadas en las concentraciones de Fe(III) y H_2O_2 , lo que resulta favorable desde el punto de vista experimental y potencialmente tecnológico.

5.2.1. Estimación de la masa molar promedio en peso (M_w) y distribución de masa molar.

La evaluación de la despolimerización se realizó mediante la estimación del peso molecular promedio en peso (M_w) utilizando cromatografía de permeación en gel (GPC).

Inicialmente, se empleó LK proveniente de madera blanda (pino) (Anexo II.2). En estos ensayos se observó un incremento en M_w , indicando la ocurrencia de reacciones de polimerización. Este comportamiento se atribuye a la estructura química característica de la lignina de madera blanda, con alto contenido de unidades guaiacílicas (G). Estas unidades presentan una única sustitución metoxilo en el anillo aromático, dejando posiciones reactivas disponibles que favorecen reacciones de acoplamiento y formación de enlaces adicionales, conduciendo a macromoléculas de mayor tamaño.

Con el fin de minimizar este efecto, se seleccionó LK proveniente de madera dura (eucalipto), cuyos ensayos preliminares se describen en el Anexo II.3. Esta lignina presenta mayor proporción de unidades siringílicas (S), las cuales contienen dos grupos metoxilo en el anillo aromático, reduciendo la disponibilidad de posiciones reactivas y, por tanto, la probabilidad de reacciones de repolimerización.

Bajo las condiciones óptimas determinadas, se observó una disminución del Mw desde $3161 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ hasta aproximadamente $1500 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, lo que representa una reducción cercana al 49 %. Los cromatogramas obtenidos por GPC (Figura 18) evidenciaron un desplazamiento hacia menores masas molares, acompañado de una disminución en la dispersidad de 3,27 a 2,52. Este comportamiento es consistente con una ruptura preferencial de enlaces aril-éter, particularmente de tipo β -O-4, predominantes en ligninas de madera dura.

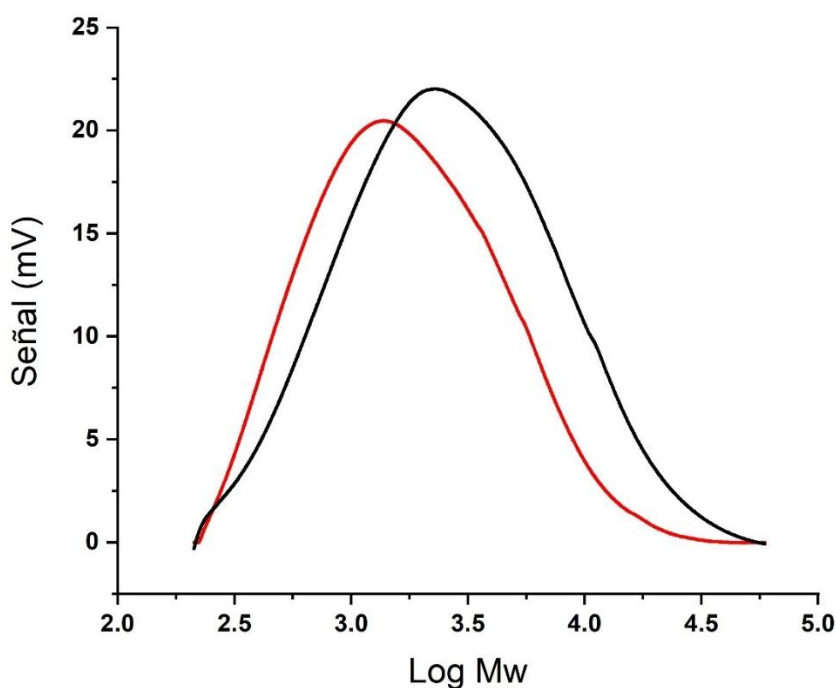


Figura 18: Distribución del peso molecular de la lignina Kraft antes (línea negra) y después de la despolimerización (línea roja).

5.2.2. Evaluación de cambios estructurales por RMN de ^{13}C de sólidos.

La espectroscopia RMN de sólidos constituye una herramienta fundamental para el análisis estructural de polímeros complejos como la lignina. Esta técnica permite identificar cambios en el entorno químico de los átomos de carbono mediante desplazamientos químicos característicos, proporcionando información sobre la formación, ruptura o modificación de enlaces covalentes. En el presente estudio, la RMN de ^{13}C se empleó para evaluar las transformaciones estructurales inducidas por el tratamiento oxidativo tipo Fenton, comparando la lignina modificada con la muestra original. El análisis se centró en regiones específicas del espectro asociadas a carbonos aromáticos y alifáticos, con el objetivo de determinar la naturaleza de los grupos funcionales generados y su relación con los mecanismos de despolimerización y oxidación. A partir de esta caracterización, se procedió a comparar los espectros de la lignina modificada y la muestra original, con el objetivo de identificar las variaciones en las señales y su relación con los cambios estructurales inducidos por el tratamiento oxidativo.

La Figura 19 muestra el espectro de la LK inicial (línea negra) y el del sistema Lignina + Fe(III) + H_2O_2 (LTF) (línea roja) se observan las 4 señales características, dos en la región aromática (141 y 155 ppm), correspondientes a carbonos fenólicos sustituidos y no sustituidos, así como una señal a los 114 ppm, asociada a C5-H (en unidades G y S) y una última señal intensa en 64 ppm atribuida al C γ del enlace β -O-4 [47].

Se observa que la intensidad de las bandas aumenta en la muestra de LTF, además de desplazamientos químicos significativos en las bandas de los 114 y 64 ppm, sugiriendo modificaciones estructurales significativas inducidas por el tratamiento oxidativo.

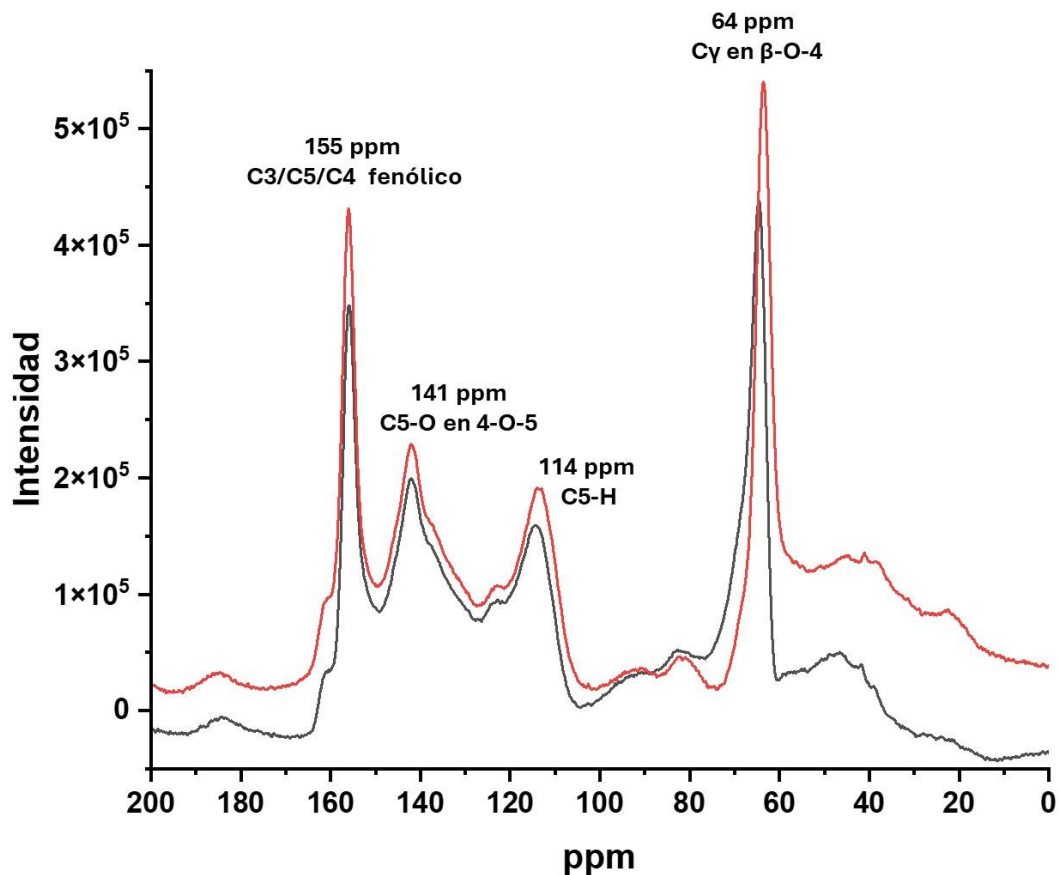


Figura 19: RMN de sólidos de ^{13}C para LK inicial (línea negra) y para el sistema LTF (línea roja).

La Figura 20 muestra en detalle los cambios en desplazamientos químicos ocurridos después de la oxidación tipo Fenton. Se observa un corrimiento en las señales de 114 y 64 ppm, las mismas que se desplazaron cuando solo se le adiciono Fe(III), lo que indica que la interacción metal-lignina persiste en esta etapa. El valor en la región alifática (64 ppm) se mantiene en 63.602 ppm al igual que con Fe(III)-LIG, sugiriendo que el Fe(III) regenerado durante el ciclo Fenton continúa coordinándose con el C γ del enlace β -O-4. En la señal de 114 ppm, asociada a C5-H, el desplazamiento puede atribuirse tanto a la presencia de Fe(III) como de Fe(II), reflejando cambios en el entorno electrónico por quelación y reducción del metal.

Respecto al incremento en las intensidades de las señales, este comportamiento indica modificaciones estructurales en la lignina. El aumento de 155 ppm sugiere la formación de grupos carbonilo (ácidos

carboxílicos), mientras que el incremento en la señal a 146 ppm, correspondiente a carbonos aromáticos sustituidos (C-O), apunta a una mayor oxidación de unidades G y S [53]. Por su parte, el aumento en la señal de 64 ppm es consistente con la formación de nuevos grupos hidroxilo o la reorganización de enlaces éter, producto de la fragmentación de enlaces β -O-4.

En conjunto, estos resultados confirman que la reacción tipo Fenton no solo genera interacción metal-lignina, sino también una oxidación parcial que altera la conectividad y funcionalización de la estructura de la lignina

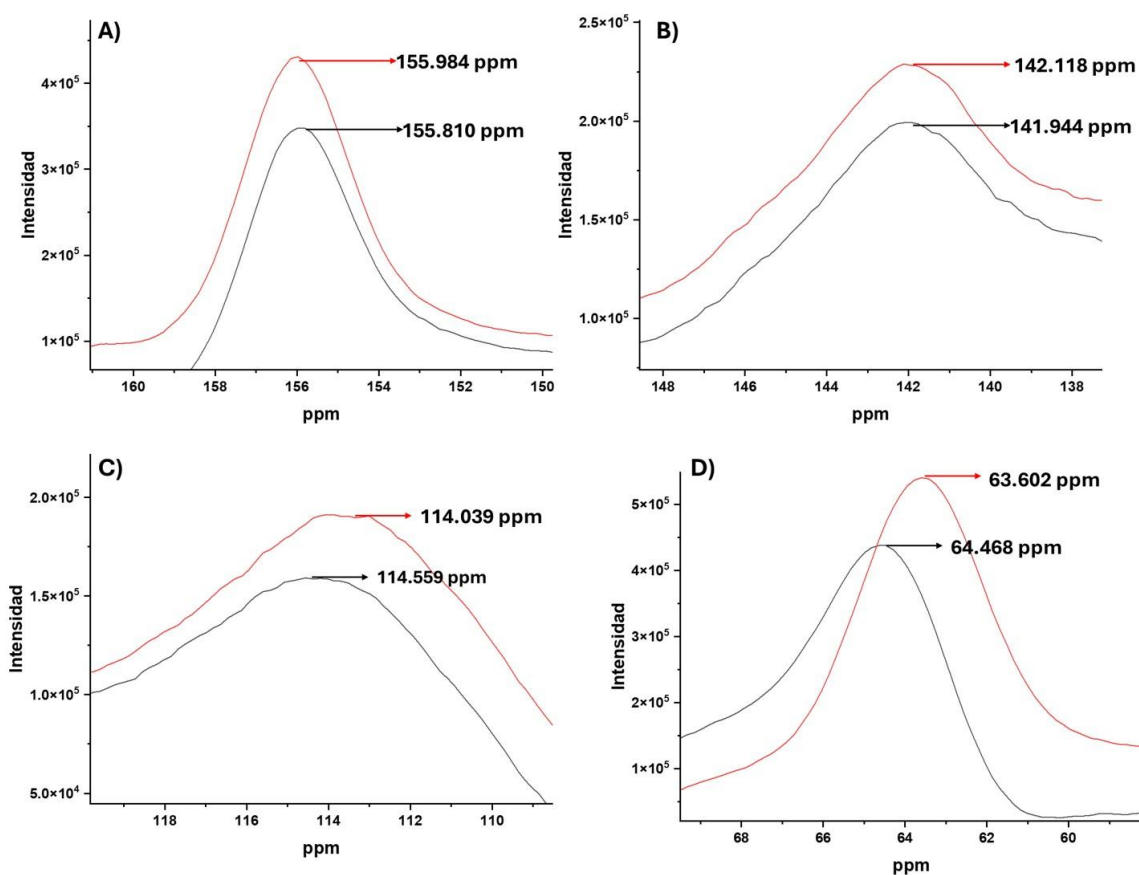


Figura 20: Espectro RMN de sólidos, especificando la comparación de desplazamiento químico e intensidad de la LK inicial frente a LTF, para A) Banda de 155 ppm, B) banda de 141 ppm, C) banda de 114 ppm y D) banda de 64 ppm.

5.3. Estudio del mecanismo de despolimerización.

El comportamiento temporal de la despolimerización de la lignina bajo condiciones oxidativas tipo Fenton se evaluó con el objetivo de caracterizar el perfil cinético del proceso. Para ello se realizó un estudio cinético empleando las concentraciones optimizadas de Fe(III) y H₂O₂ descritas en la sección anterior. La reacción se monitoreó durante 120 minutos, tomando muestras en intervalos definidos y analizando cada punto mediante técnicas analíticas complementarias, con el propósito de identificar las transformaciones estructurales y químicas asociadas al avance del proceso.

5.3.1. Determinación del Mw en la cinética de despolimerización.

La determinación del peso molecular promedio en peso (Mw) constituye un parámetro fundamental para evaluar la extensión de las transformaciones estructurales durante procesos de despolimerización. En este estudio, se empleó cromatografía de permeación en gel (GPC) para monitorear la evolución del Mw a lo largo de la reacción bajo condiciones oxidativas tipo Fenton. Este análisis permite establecer la relación entre las condiciones experimentales y la dinámica de ruptura y formación de enlaces, proporcionando información clave sobre el comportamiento cinético del sistema.

A partir de este análisis, se examinó la evolución del Mw durante el periodo de reacción, identificándose patrones que reflejan las etapas sucesivas del proceso. La Figura 21 muestra la evolución del Mw durante un periodo de reacción de 120 minutos. Los datos revelaron un comportamiento bifásico, caracterizado por una fase inicial de despolimerización seguida por una fase secundaria de repolimerización.

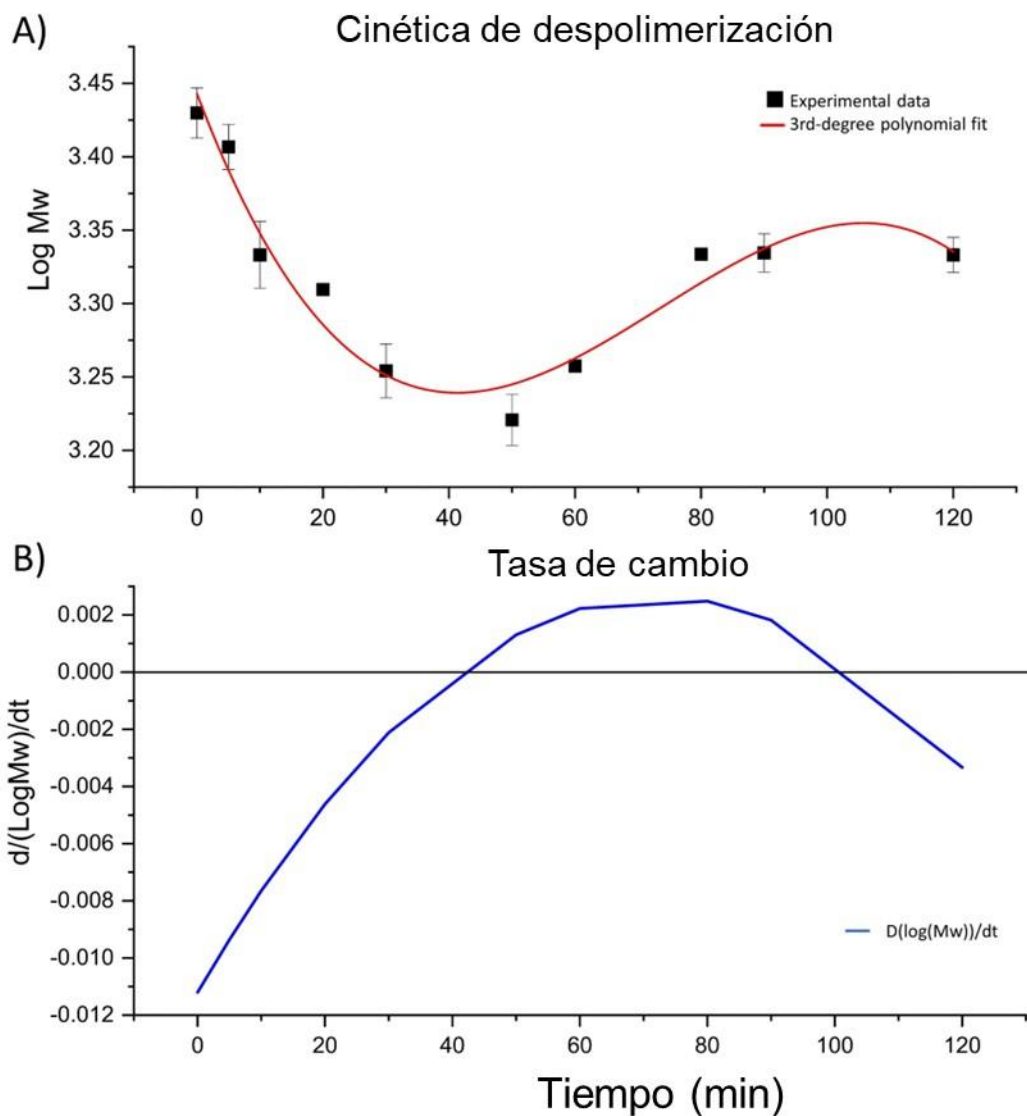


Figura 21: Grafico de A) la cinética de despolimerización Log Mw vs el tiempo de reacción, usando las condiciones óptimas de 0.44 mgL^{-1} de Fe(III) y 68 mgL^{-1} de H_2O_2 y B) la tasa de cambio

Durante los primeros 50 minutos, se observó una disminución continua del Mw, lo que indica una fragmentación efectiva de la lignina en compuestos de menor masa molar. Esta etapa fue atribuida a la acción del radical hidroxilo, los cuales iniciaron una reacción en cadena de tipo radicalario, atacando enlaces susceptibles dentro de la estructura de la lignina. La propagación de estos radicales condujo a la ruptura progresiva de enlaces, favoreciendo la disminución del peso molecular. La

predominancia de la escisión de cadenas sobre los procesos de recombinación fue evidente en esta fase.

Aproximadamente a los 50 minutos, el M_w alcanzó su valor mínimo, correspondiente al punto de máxima despolimerización. Posteriormente, se observó un incremento gradual del M_w hasta los 100 minutos, lo que sugiere el inicio de un proceso de repolimerización. Este fenómeno fue atribuido a la recombinación de intermediarios reactivos de la lignina, tales como radicales fenoxi o centrados en carbono. La formación de nuevos enlaces covalentes y estructuras macromoleculares más grandes pudo haber sido facilitada por acoplamientos entre radicales o por ataques nucleofílicos sobre especies electrofílicas.

El patrón cinético observado sugiere una competencia dinámica entre los mecanismos de despolimerización y repolimerización. En la etapa inicial, la despolimerización predominó debido a la elevada concentración del radical hidroxilo y a la disponibilidad de lignina no degradada.

Para describir cuantitativamente el comportamiento bifásico de despolimerización, se ajustó un modelo empírico de tercer grado al logaritmo del M_w en función del tiempo (ecuación 6).

$$\mathbf{Log M_w(t) = a + bt + ct^2 + dt^3} \quad \text{Ecuación. 6}$$

Donde $b=-0.0112$, $c=1.91 \times 10^{-4}$, $d=-8.79 \times 10^{-7}$

Este modelo empírico se ajustó a los datos experimentales y delineó efectivamente ambas fases cinéticas. La derivada de este polinomio (ecuación 7), también una expresión empírica, describe la tasa instantánea de cambio de M_w .

$$\frac{d(\log M_w)}{dt} = \mathbf{b + 2ct + 3dt^2} \quad \text{Ecuación. 7}$$

Este modelo derivado permite identificar el periodo durante el cual las tasas de despolimerización y repolimerización se interceptan. Muestra una tasa de cambio negativa desde 0 hasta 50 minutos, indicando una despolimerización activa, seguida por un periodo de equilibrio transitorio (50-70

minutos). Después de los 70 minutos, la tasa se vuelve positiva lo que confirma que la polimerización predomina.

Para profundizar en la comprensión del mecanismo de reacción, se modeló la evolución del peso molecular (M_w) utilizando expresiones cinéticas simplificadas. La fase inicial de despolimerización fue bien descrita por un modelo cinético de primer orden (ecuación 8), reflejando una dependencia lineal con el M_w y consistente con una ruptura aleatoria de cadenas impulsadas por la escisión de enlaces mediada por radicales. En contraste, la fase de repolimerización, se ajustó mejor a un modelo de crecimiento logístico (sigmoideal) que a un enfoque clásico de segundo orden. Este comportamiento sugiere que la evolución del M_w está gobernada por mecanismos de acoplamiento radicalario de tipo autocatalítico, en los que la concentración de radicales se acumula gradualmente, acelera la recombinación y luego se estabiliza a medida que los radicales se agotan o la impedancia estérica limita nuevas interacciones.

La forma logística (ecuación 9) captura esta dinámica, donde A es el M_w máximo alcanzable y k es la constante de tasa efectiva de recombinación. La transición observada desde una disminución exponencial a un crecimiento sigmoideal refleja un cambio mecanístico desde la ruptura de cadenas hacia la recombinación entre radicales, lo cual concuerda con estudios previos de despolimerización oxidativa de lignina en los que radicales intermedios median tanto la fragmentación como el reensamblaje polimérico [54], [55].

$$\frac{dM_w}{dt} = -k_d M_w \quad \text{Ecuación. 8}$$

$$\frac{dM_w}{dt} = k_p M_w \left(1 - \frac{M_w}{A}\right) \quad \text{Ecuación. 9}$$

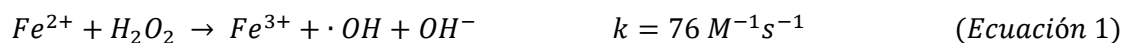
La capacidad de caracterizar empíricamente de interacción cinética entre los procesos de degradación y condensación es esencial para optimizar las condiciones de reacción que favorezcan la despolimerización por sobre la repolimerización.

5.3.2. Determinación de radicales presentes en la despolimerización.

La identificación y cuantificación de especies radicalarias constituye un aspecto esencial para comprender los mecanismos involucrados en la despolimerización oxidativa de lignina. Entre estas especies, el $\bullet\text{OH}$ desempeña un papel determinante en la ruptura de enlaces covalentes, favoreciendo la fragmentación de la estructura polimérica, mientras que el $\text{PhO}\bullet$ se asocia a la propagación de reacciones y a la estabilización de estructuras aromáticas parcialmente oxidadas. La espectroscopía EPR se empleó en este estudio como técnica de referencia para monitorear la generación y evolución de radicales durante el proceso, permitiendo establecer la relación entre la dinámica radicalaria y la eficiencia del sistema oxidativo.

En el caso del $\bullet\text{OH}$, la reacción se monitoreó durante un periodo de 300 minutos con el fin de caracterizar el decaimiento completo de la señal y disponer de datos suficientes para realizar comparaciones entre el sistema de reacción y los controles. La Figura 22 muestra la evolución del $\bullet\text{OH}$ la cual fue monitoreada en los sistemas LTF y en los sistemas control Tipo Fenton, LF y LH. En los dos primeros sistemas, se observó un incremento progresivo de la señal hasta los 70 minutos, seguido por un comportamiento divergente: en el sistema control, la señal decayó rápidamente hasta desaparecer; en presencia de lignina, el decaimiento fue más lento y la señal permaneció detectable hasta 5 horas. Y en los otros dos sistemas no se observó la señal característica del adueto DMPO- $\bullet\text{OH}$ por lo que se concluyó que en estos sistemas no hay presencia de $\bullet\text{OH}$.

En el sistema control, la reducción de Fe(III) por H_2O_2 (Ecuación 2) genera Fe(II) libre, lo que produce una alta tasa de formación de $\bullet\text{OH}$. Este mecanismo conduce al consumo rápido de Fe(II) y a la acumulación de especies férricas menos reactivas, que pueden precipitar como hidróxidos insolubles, reduciendo la disponibilidad de hierro catalíticamente activo.



En el sistema LTF, los grupos funcionales de la lignina forman complejos estables con Fe(III), disminuyendo su fracción libre y reduciendo la tasa inicial de generación de $\bullet\text{OH}$. La lignina actúa como agente reductor de Fe(III) a Fe(II), facilitando su regeneración y prolongando la producción de radicales. Este mecanismo explica el decaimiento lento de la señal y su persistencia prolongada.

La menor intensidad máxima observada en el sistema con lignina se atribuye a la quelación de Fe(III), que limita su participación inicial. Sin embargo, esta quelación previene la precipitación de especies férricas inactivas, manteniendo un ciclo catalítico activo y favoreciendo la producción sostenida de $\bullet\text{OH}$ a bajas concentraciones.

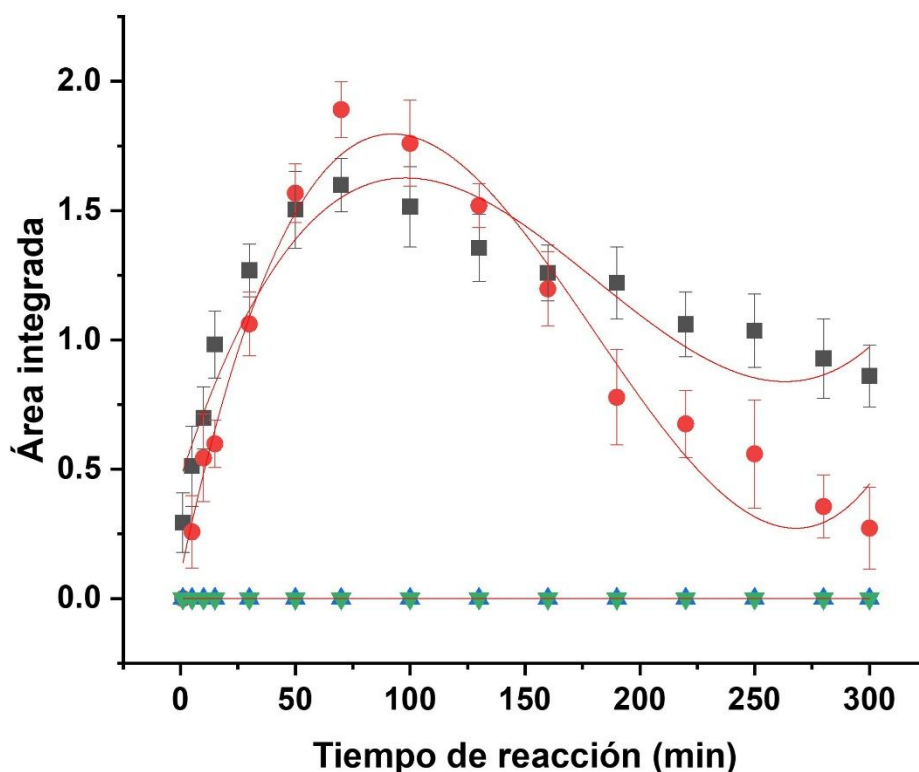


Figura 22: : Evolución temporal de la señal integrada del radical OH en el sistema LTF (negra), el control Tipo Fenton (roja), control LF (azul) y control LH (verde) durante 5 horas

La Figura 23 muestra el estudio del $\text{PhO}\bullet$ en los sistemas LTF (línea negra), LF (azul) y LH (roja). Se observa un incremento sostenido en la intensidad de la señal integrada correspondiente al $\text{PhO}\bullet$, observado en la muestra de LTF, lo que puede atribuirse a la generación continua de especies radicalarias como resultado de la interacción entre el ion férrico y el peróxido de hidrógeno. Esta reacción produce $\bullet\text{OH}$ como ya observamos más arriba, los cuales atacan la estructura aromática de la lignina, promoviendo la formación de $\text{PhO}\bullet$ por oxidación de grupos fenoles libres o por ruptura de enlaces éter. La acumulación progresiva de estos radicales durante los primeros 100 minutos sugiere una etapa activa de oxidación, en la que se favorece la estabilización temporal de especies radicalarias detectables por EPR. En contraste, los controles que contienen únicamente Fe(III) y H_2O_2 no presentan una variación significativa en la señal, lo que indica que la generación de radicales fenóxicos requiere la acción conjunta de ambos reactivos. La posterior disminución de la señal en la muestra LTF (120 min) podría estar relacionada con procesos de recombinación, desactivación o transformación de los radicales en productos más estables. Estos resultados permiten inferir que la formación de $\text{PhO}\bullet$ es dependiente de la dinámica de generación de $\bullet\text{OH}$, y que la señal observada refleja tanto la acumulación como el consumo de estas especies durante el curso de la reacción.

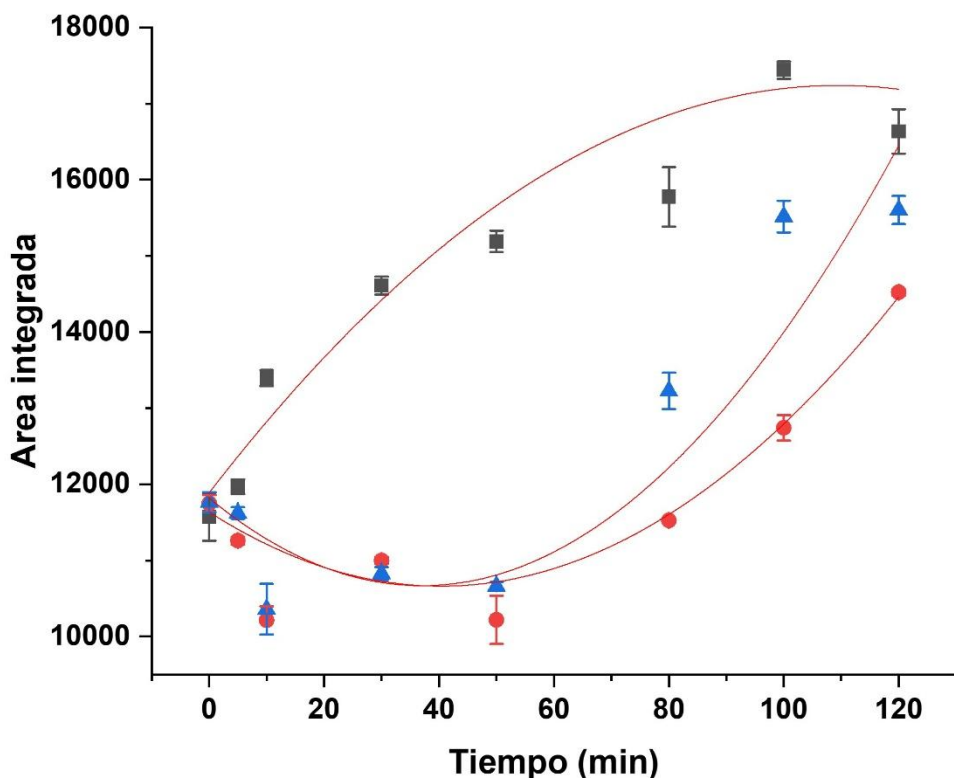


Figura 23: Cinética de la evolución temporal del radical Fenoxi en el sistema Lignina-Tipo Fenton durante 2 horas.

Estos resultados respaldan la hipótesis de que, a medida que avanza la reacción, la acumulación de fragmentos de lignina y especies radicalarias incrementa la probabilidad de eventos de recombinación, desplazando progresivamente el equilibrio del sistema hacia la repolimerización.

5.3.3. Análisis estructural mediante espectroscopía infrarroja (FT-IR).

La espectroscopía FT-IR es una técnica ampliamente utilizada para caracterizar la estructura química de la lignina, debido a su capacidad para identificar grupos funcionales mediante sus vibraciones moleculares. El análisis de las bandas características permite evaluar modificaciones estructurales asociadas a procesos de despolimerización y oxidación, proporcionando información sobre la ruptura y formación de enlaces, así como sobre la generación de nuevos grupos funcionales. En este estudio,

la espectroscopía FT-IR se empleó para monitorear los cambios en la lignina durante la cinética de despolimerización bajo condiciones oxidativas Tipo Fenton.

La Figura 24 muestra el espectro FT-IR de la lignina antes de la despolimerización, donde se observan las bandas características del polímero. A 3408 cm^{-1} se identifican grupos hidroxilos (OH) alifáticos y fenólicos, seguida por bandas a los 2936 cm^{-1} y 2840 cm^{-1} asignadas a estiramiento C-H sp^3 de cadenas laterales y metoxilos [56]. La banda de los 1712 cm^{-1} es la menos pronunciada y es asignada a grupos C=O proveniente de estructuras como cetona, aldehídos, y ácidos carboxílicos. Las bandas de los $1610\text{-}1516\text{ cm}^{-1}$ son atribuidas a estiramientos de los enlaces dobles C=C en anillos aromáticos de la lignina [57]. La banda de los 1460 y 1425 cm^{-1} corresponde a deformaciones C-H de grupos metil o metileno, mientras que las bandas $1327\text{-}1216\text{ cm}^{-1}$, se asocian a unidades S y unidades G respectivamente [58]. Las bandas 1114 y 1032 cm^{-1} están atribuidas a grupos OH primarios y secundarios respectivamente y las señales a los 914 cm^{-1} 831 cm^{-1} corresponden a deformaciones a flexión C-H de aromáticos [59], [60]. Finalmente la banda en 620 cm^{-1} atribuida a enlaces C-S típicos de lignina Kraft [56].

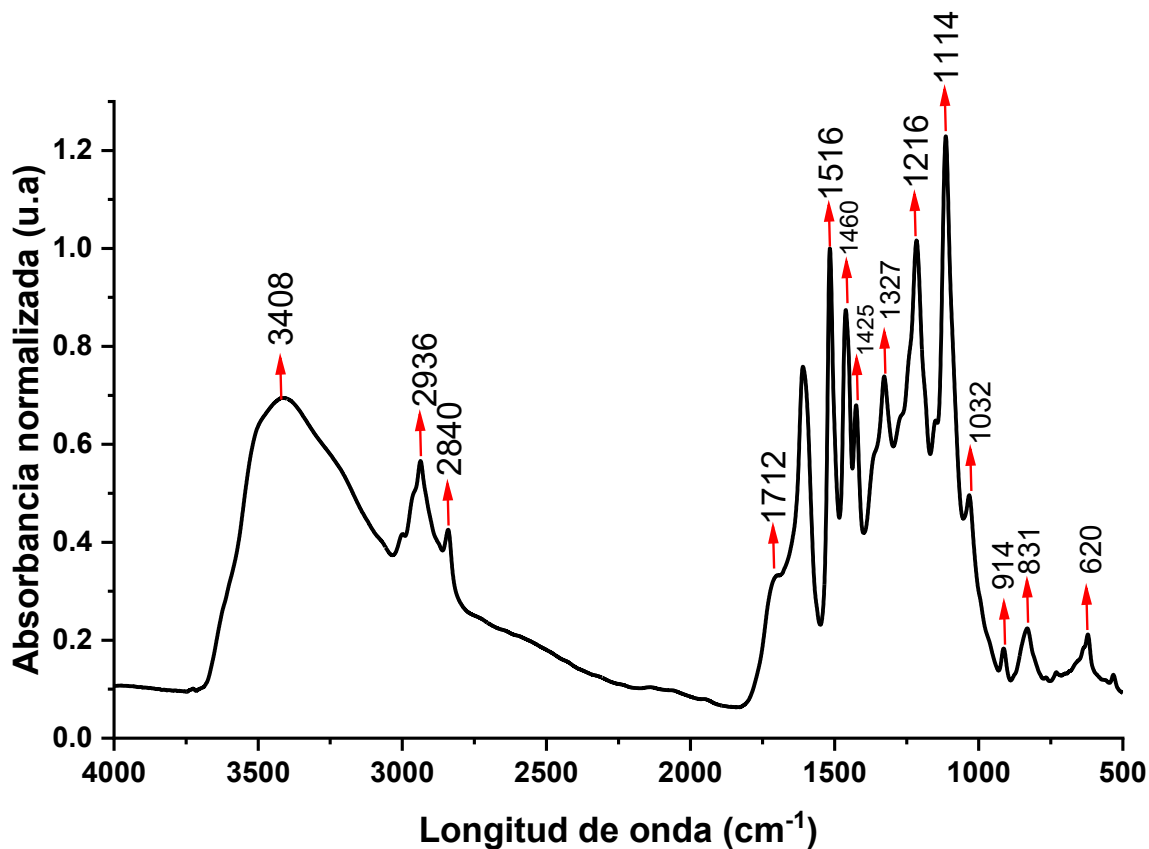


Figura 24: Espectro FT-IR de la lignina no tratada.

En la Figura 25 se muestran los espectros en la región de los 1800 a 500 nm de LK inicial (línea negra), LTF – 50 min (línea roja) y LTF – 120 min (línea azul), estos espectros fueron normalizados por la banda 1500 cm^{-1} atribuida a las vibraciones esqueléticas del anillo aromático. Esta banda se considera estructuralmente estable durante tratamientos oxidativos moderados, por lo que se emplea comúnmente como referencia interna en estudios de lignina. Se discutirá los cambios mas representativos en 4 bandas características la de los 1712, 1327, 1216 y 1114 cm^{-1} .

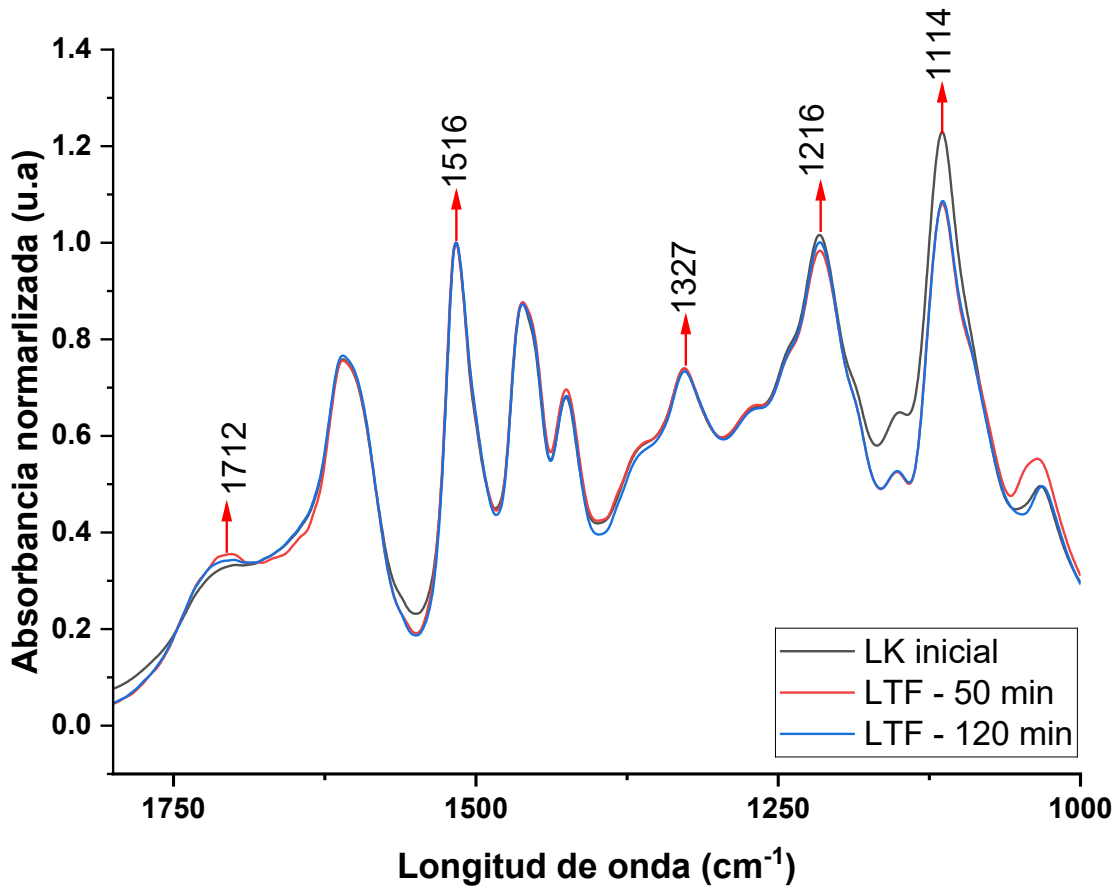


Figura 25: Espectros FT-IR normalizados por banda de 1500 nm en la huella dactilar para los sistemas estudiados.

Se observaron variaciones sutiles en la región alrededor de 1712 cm^{-1} , atribuida a vibraciones de estiramiento C=O, lo que sugiere la formación de grupos carbonilo producto de procesos oxidativos. A los 50 min se observa un leve aumento de esta banda indicando formación de estos grupos para luego decaer levemente a los 120 min, indicando un posible consumo de estos grupos en reacciones de condensación [61], [62]. Las bandas características de unidades S y G, ubicadas en 1327 y 1216 cm^{-1} , sufren una disminución a los 50 min indicando la ruptura de enlaces éter, demetoxilación en unidades S y pérdida de grupos fenólicos en unidades G, asociados al enlace β -O-4 y a los 120 min aumentan levemente indicando posibles reacciones de condensación/recombinación (por ej. 4-5-O o C-O/C-C nuevos) [62], [63]. Y por último la banda de los 1114 cm^{-1} asignada a C-O del enlace β -O-4, su disminución a los 50 min evidencia la ruptura directa de enlaces β -O-4 y su leve incremento a

los 120 min puede deberse a la formación de nuevos enlaces C-O durante condensación de fragmentos fenólicos [62].

La ausencia de cambios drásticos en los espectros FT-IR es coherente con la naturaleza del proceso estudiado. La despolimerización de lignina mediante sistemas tipo Fenton puede inducir la escisión de enlaces β -O-4 y la generación de radicales fenóxilo, sin alterar significativamente la densidad global de grupos funcionales aromáticos detectables por FT-IR. En este sentido, la espectroscopía infrarroja proporciona evidencia cualitativa de transformaciones químicas, mientras que los cambios en masa molar determinados por GPC constituyen la principal evidencia de despolimerización.

En conjunto, los resultados de FT-IR respaldan la ocurrencia de modificaciones estructurales moderadas, compatibles con una ruptura selectiva de enlaces interunidad y posible formación de nuevos grupos carbonilo, sin degradación extensiva del esqueleto aromático.

5.3.4. Evaluación morfológica mediante microscopía electrónica de barrido (SEM).

La caracterización morfológica es fundamental para comprender los cambios estructurales asociados a procesos de despolimerización. La microscopía electrónica de barrido (SEM) permite observar la evolución de la superficie y la forma de las partículas con alta resolución, proporcionando evidencia directa de la fragmentación y reorganización de la lignina durante el tratamiento oxidativo. En este estudio, SEM se empleó para analizar las modificaciones morfológicas a lo largo de la cinética de despolimerización bajo condiciones Tipo Fenton.

Estos resultados morfológicos complementan la evidencia obtenida mediante análisis espectroscópicos, permitiendo correlacionar las modificaciones estructurales con los cambios químicos observados durante la despolimerización.

La Figura 26 muestra estos cambios en puntos específicos de la despolimerización con un aumento de 100 μm (SEM). Se observó una transformación progresiva en la estructura de la lignina durante la

despolimerización. En el tiempo inicial (T0, Figura 26A), las partículas presentaron morfología predominantemente esférica y superficie lisa. A los 5 minutos, se identificaron estructuras esféricas junto con partículas irregulares. Transcurridos 50 minutos, las estructuras esféricas prácticamente desaparecieron, predominando partículas irregulares, fracturadas y de menor tamaño. A los 80 minutos, se mantuvo la presencia de estructuras irregulares, y a los 120 minutos estas mostraron pequeños orificios en su superficie, lo que sugiere una degradación más avanzada y posible pérdida de material.

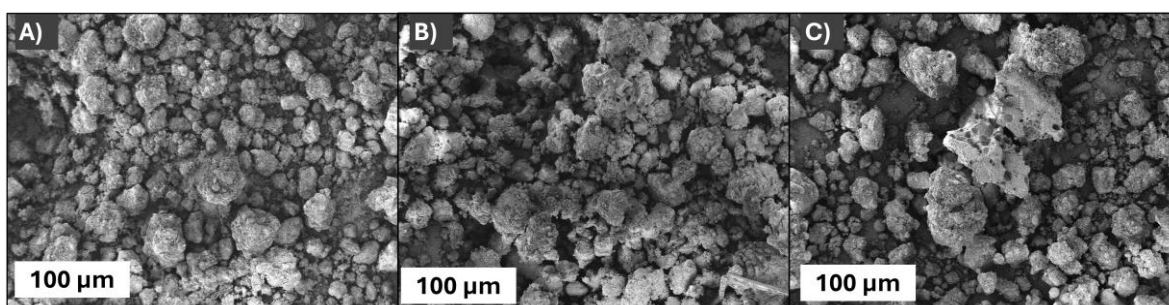


Figura 26: : Propiedades morfológicas y superficiales de la lignina durante la cinética de despolimerización a tiempos: (A) 0 min, (B) 50 min y (C) 120 min.

5.3.5. Evaluación de la hidrofobicidad superficial durante la despolimerización.

La medición del ángulo de contacto es una técnica utilizada para evaluar la hidrofobicidad de superficies sólidas, proporcionando información sobre la interacción entre el material y el agua. En el contexto de la despolimerización de lignina, este parámetro permite inferir cambios en la composición química y en la distribución de grupos funcionales, asociados a procesos de oxidación y condensación. En este estudio, se determinó el ángulo de contacto en muestras secas de lignina obtenidas en diferentes tiempos de la cinética, con el fin de correlacionar las modificaciones superficiales con la evolución del proceso.

La Figura 27 presenta las diferentes mediciones de ángulo de contacto para los distintos tiempos durante la despolimerización. Durante los primeros 30 minutos, el ángulo de contacto se mantuvo prácticamente constante. A los 50 minutos se observó una disminución aproximada del 20 %, lo que

indica una reducción en la hidrofobicidad respecto a la lignina inicial. Posteriormente, el valor aumentó nuevamente y permaneció estable hasta el final de la reacción. Los valores específicos se presentan en la Tabla A12.

La disminución del ángulo de contacto a los 50 minutos sugiere un incremento en la presencia de grupos polares, como hidroxilos y carbonilos, generados durante la etapa inicial de oxidación, lo que reduce la hidrofobicidad superficial. El posterior aumento y estabilización del ángulo indica la ocurrencia de reacciones de condensación y reorganización estructural, que restablecen parcialmente la hidrofobicidad mediante la formación de enlaces aromáticos y éter.

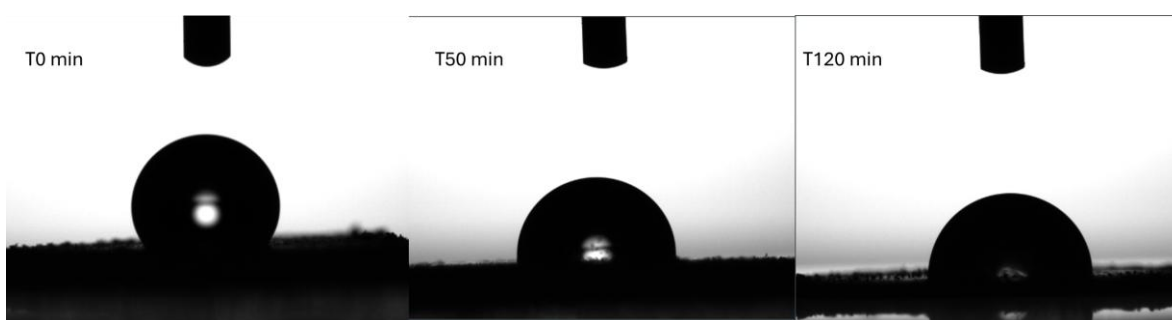


Figura 27: Mediciones de ángulo de contacto para la cinética de despolimerización

5.3.6. Cuantificación de los grupos OH por RMN de ^{31}P

El espectro de RMN de ^{31}P de la LK inicial tras la fosforilación con TMDP (Figura 28) muestra las regiones de resonancia características: OH alifático (145-150 ppm), OH fenólico condensado y siringílico (142-144 ppm), OH fenólico guaicil (139-141 ppm) y grupos de ácido carboxílico (COOH 134-136 ppm) [64]. Los datos cuantitativos expresados en mmol g^{-1} de lignina seca (Figura 29) documentan la evolución de cada subtipo de grupo hidroxilo a los 0, 50 y 120 minutos del tratamiento de Tipo Fenton.

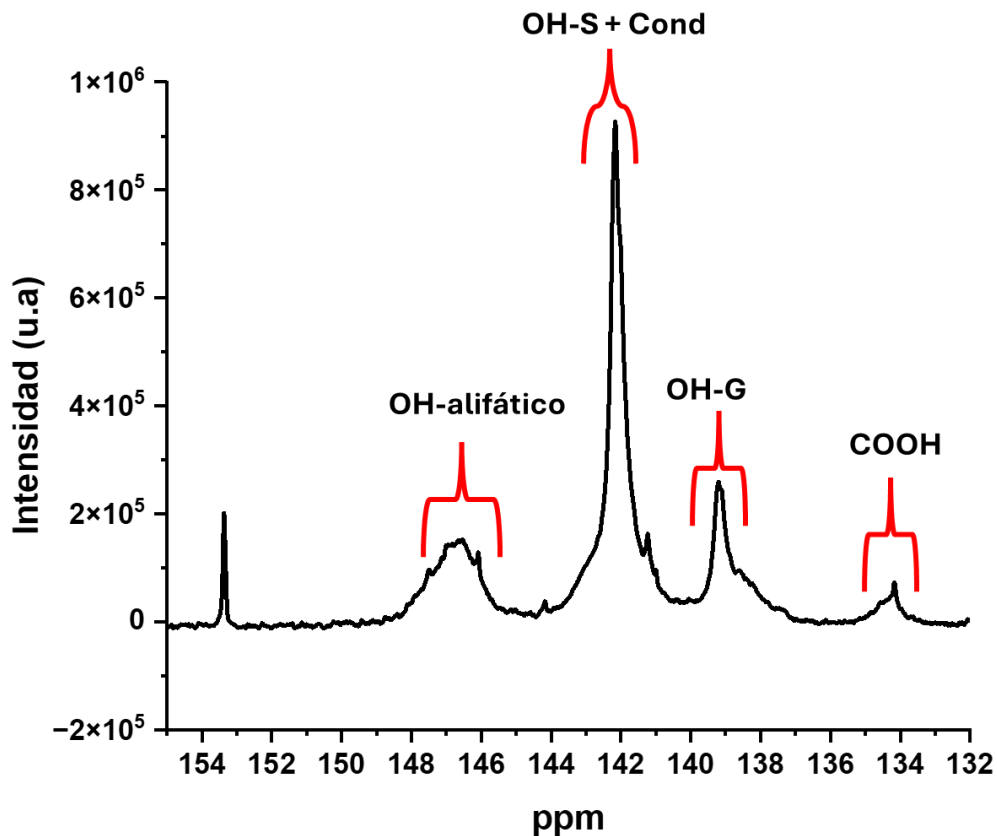


Figura 28: Espectro RMN para la lignina Kraft inicial con sus respectivas asignaciones.

El contenido de OH alifáticos aumentó progresivamente desde $t = 0$ hasta $t = 120$ min, lo cual es consistente con la liberación de fragmentos de cadena lateral que contienen grupos hidroxilo primarios y secundarios tras la ruptura de enlaces β -O-4 y la oxidación de las cadenas laterales de propilo.

Los OH fenólicos (tanto de los subtipos condensados/siringilo como guayacilo) aumentaron entre 0 y 50 min, proporcionando evidencia cuantitativa directa de la liberación de grupos fenólicos terminales a través de la ruptura de enlaces éter. El aumento continuo de los OH fenólicos a los 120 min, a pesar del inicio de la repolimerización identificada por GPC, sugiere que las reacciones de condensación que ocurren en la segunda fase no consumen todas las nuevas unidades fenólicas generadas, o bien que la ruptura adicional de enlaces éter continúa a bajas velocidades.

El contenido de COOH mostró un valor inicial en $t = 0$, una ligera disminución a los 50 min y una recuperación marginal a los 120 min. La aparición o mantenimiento de grupos carboxilo en tiempos de reacción prolongados es consistente con reacciones de oxidación secundaria, que convierten intermedios aldehído o cadenas laterales oxidadas en ácidos carboxílicos, aumentando la polaridad y la solubilidad potencial de los fragmentos residuales de lignina.

En conjunto, los datos de RMN de ^{31}P establecen un balance cuantitativo de grupos funcionales que complementa los datos cinéticos obtenidos por FT-IR: el aumento de OH fenólicos y alifáticos a los 50 min confirma una ruptura productiva de enlaces $\beta\text{-O-4}$ y de cadenas laterales, mientras que el aumento adicional de OH totales y de la señal de COOH a los 120 min indica que la funcionalización oxidativa continúa, incluso cuando la condensación contrarresta parcialmente la reducción del peso molecular. Este enriquecimiento funcional en grupos oxigenados incrementa el potencial de valorización posterior de las fracciones de lignina despolimerizadas.

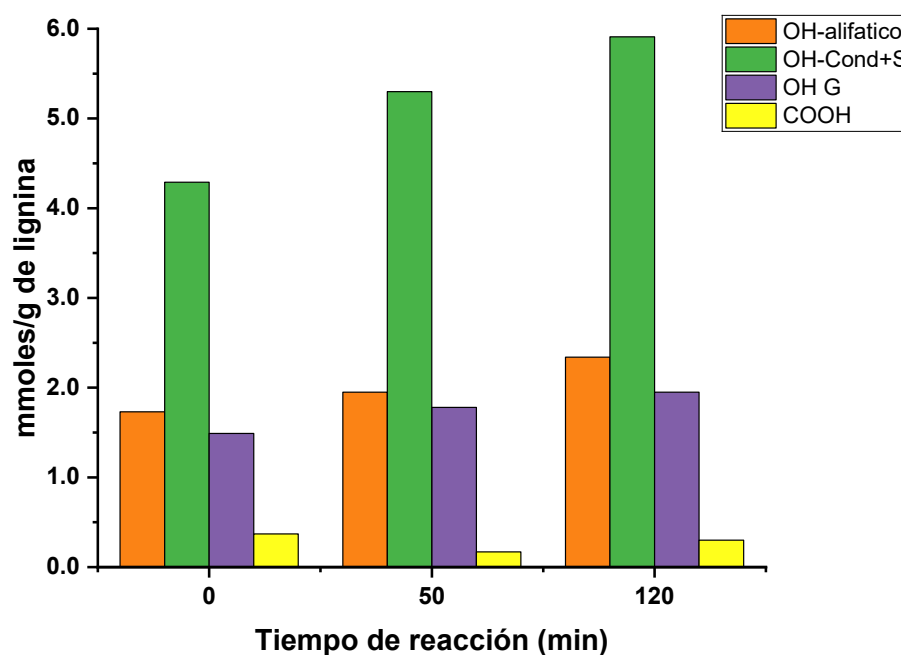


Figura 29: Grafico comparativo para la cuantificación de grupos hidroxilo durante la despolimerización.

5.3.7 Pirolisis acoplada a cromatografía gaseosa-espectroscopia de masas (Py-GC-MS).

En el presente estudio, el uso de Py-GC/MS permitió evaluar de manera directa y comparativa los cambios estructurales inducidos por el tratamiento oxidativo en la lignina, mediante el análisis de los fragmentos generados térmicamente. Esta técnica ofrece ventajas relevantes: requiere cantidades mínimas de muestra, evita etapas extensas de derivatización y permite obtener “huellas digitales” estructurales asociadas a las unidades aromáticas y a los productos de despolimerización. En este contexto, la muestra correspondiente a 0 minutos representa la lignina no tratada, constituyendo la referencia estructural para el análisis cinético.

Los perfiles obtenidos en la Figura 30, muestran variaciones relativas en compuestos fenólicos como fenol y fenol-3,4-dimetil, así como en fragmentos aromáticos simples (benceno) y productos oxigenados (2-ciclopentan-1-ona-2-metil y etanona-1-(2,3-trihidroxifenil)). Un mayor porcentaje relativo de fenol a tiempos intermedios sugiere una intensificación de la ruptura de enlaces β -O-4 y otras uniones éter presentes en la macromolécula, coherente con la acción del radical \bullet OH generado en el sistema Fenton. Este radical altamente reactivo promueve escisiones oxidativas y desmetoxilaciones parciales, incrementando transitoriamente la liberación de unidades fenólicas simples. En contraste, la variación del fenol-3,4-dimetil puede asociarse a transformaciones en unidades guayacílicas y siringílicas sustituidas, donde procesos de oxidación y reordenamiento influyen en la estabilidad térmica de los fragmentos formados durante la pirólisis.

La presencia y fluctuación del benceno refleja etapas más profundas de desoxigenación y aromatización secundaria, lo que puede interpretarse como una progresión hacia estructuras más condensadas o como resultado de reacciones secundarias durante el tratamiento. Por otra parte, los compuestos oxigenados como 2-ciclopentan-1-ona-2-metil y etanona-1-(2,3-trihidroxifenil) evidencian la incorporación y/o preservación de grupos carbonílicos e hidroxilados, lo que sugiere que el proceso no solo fragmenta la lignina, sino que también introduce o expone funcionalidades oxigenadas, coherente con un mecanismo dominado por oxidación radicalaria.

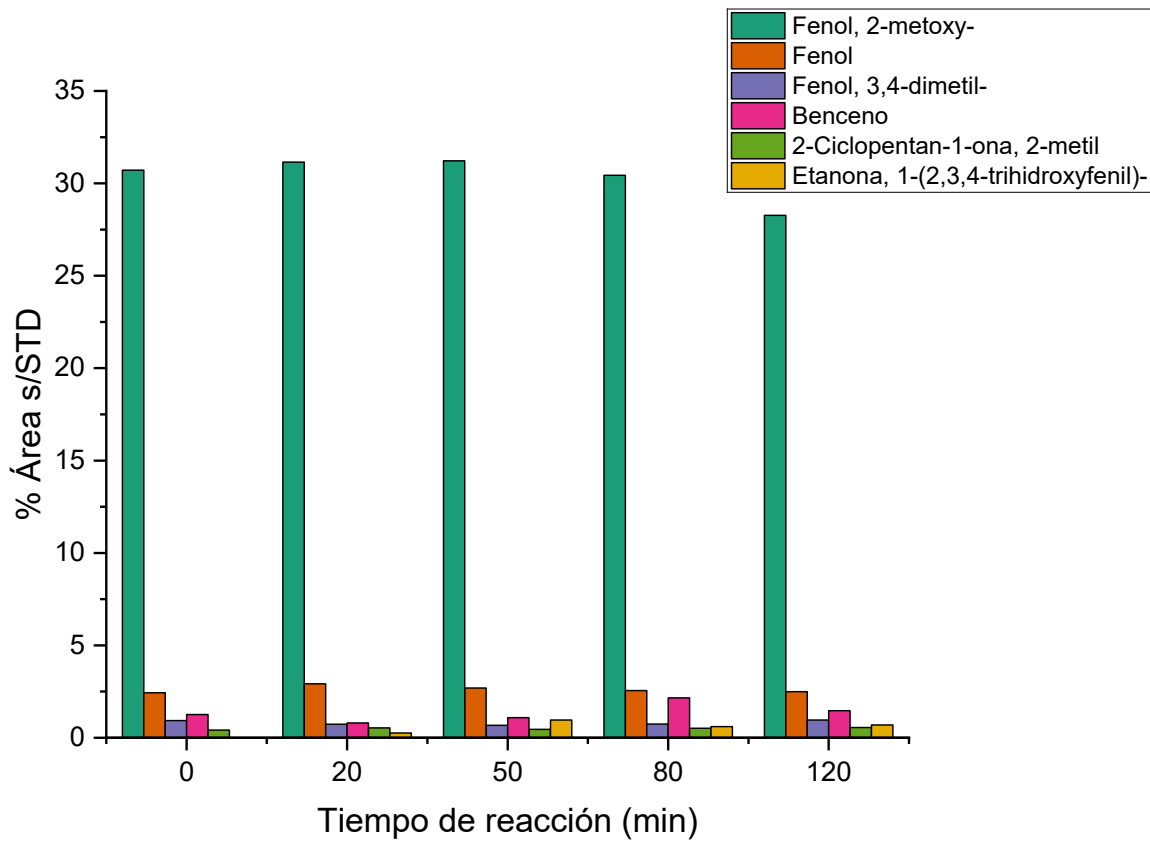


Figura 30: Grafico de los productos de pirolisis en % para los tiempos de LK inicial, LTF a tiempo 50 min y LTF a tiempo 120 min.

5.4. Identificación de los productos de oxidación por GC-MS.

La caracterización de los productos generados durante la despolimerización oxidativa es fundamental para comprender la selectividad del proceso y los mecanismos involucrados. El análisis mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) permite identificar compuestos aromáticos derivados de la ruptura de enlaces interunidad en la lignina, en particular aquellos asociados a estructuras lábiles como los enlaces β -O-4, que constituyen la fracción más abundante en la macromolécula. La identificación de estos productos no solo confirma la ocurrencia de reacciones de fragmentación y oxidación, sino que también proporciona información sobre rutas específicas de transformación, relevantes para el diseño de procesos orientados a la obtención de monómeros de alto valor agregado.

Los compuestos principales identificados mediante GC-MS se ilustran en la Figura 31 e incluyen propenilguayacol, 2,6-dimetoxifenol, 1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)etanona y 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldehído (los espectros de masas se presentan en el ANEXO IV). La identificación se realizó mediante comparación de espectros con bibliotecas y análisis de patrones de fragmentación característicos. En esta etapa del estudio, el análisis se centró en la identificación cualitativa y en la distribución relativa de los productos detectados, lo cual resulta suficiente para sustentar la discusión mecanística propuesta sobre la ruptura selectiva de enlaces β -O-4 y la formación de compuestos fenólicos derivados. Dado que no se emplearon estándares auténticos ni se construyeron curvas de calibración, no se determinaron rendimientos gravimétricos absolutos. Sin embargo, ahora que los principales productos han sido identificados, se propone como etapa futura la cuantificación mediante el uso de patrones estándar y curvas de calibración específicas, lo que permitirá evaluar con mayor precisión el rendimiento global del método y su potencial de valorización.

Estos compuestos son característicos de la ruptura selectiva de enlaces interunidad clave en la estructura de la lignina, particularmente del enlace β -O-4 que es el más abundante y lábil en la lignina nativa. Por ejemplo, la formación de 1-(4-hidroxi-3-metoxifenil) etanona (acetovanillona) puede resultar de la ruptura oxidativa del enlace β -O-4 seguida de una oxidación del intermediario alcohol bencílico resultante. De manera similar, el propenilguayacol podría originarse a partir de unidades de alcohol corniferílico mediante pasos de oxidación parcial o deshidratación, mientras que el 2,6-dimetoxifenol y el 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldehído(siringaldehído) probablemente derivan de unidades tipo S mediante escisión de la cadena lateral y posterior oxidación [31-32]

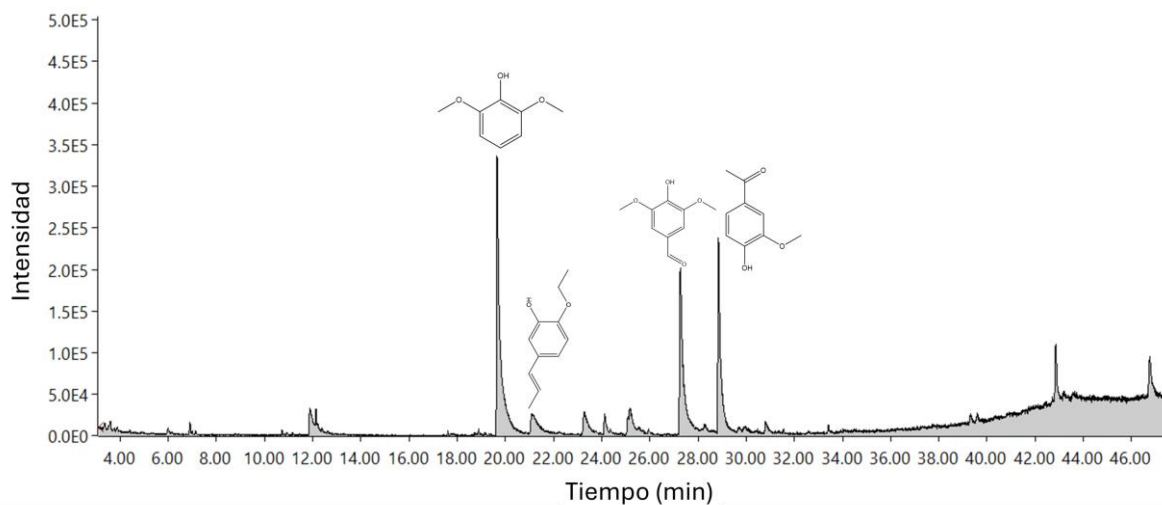


Figura 31: Cromatograma GC-MS de los compuestos aromáticos formados durante la despolimerización de la lignina Kraft.

Para contextualizar el desempeño del sistema oxidativo tipo Fenton propuesto, en la Tabla 2 se presenta un análisis comparativo con otras estrategias de despolimerización de lignina, incluyendo Fenton clásico, Sono-Fenton, pirólisis térmica, oxidación catalítica y procesos biológicos. La comparación se centra en parámetros operacionales y estructurales tales como temperatura, pH, requerimiento de catalizadores o agentes reductores externos, severidad del proceso y condiciones energéticas. A diferencia de métodos térmicos o catalíticos que operan bajo condiciones más severas, el sistema propuesto funciona a temperatura ambiente (25 °C) y pH ácido moderado (pH 3.00), sin necesidad de catalizadores heterogéneos ni reductores adicionales. Asimismo, la evidencia espectroscópica y cromatográfica sugiere una ruptura selectiva de enlaces interunidad con preservación del núcleo aromático, lo que indica un control estructural favorable bajo condiciones suaves. Estas características posicionan al método como una alternativa operativamente simple y potencialmente sostenible para la valorización de lignina.

Tabla 2: Comparación de métodos tradicionales de despolimerización versus el método desarrollado en este proyecto.

| Método | Condiciones de reacción | Catalizadores | Selectividad | Aspectos operacionales relevantes para la sostenibilidad | Ref |
|-------------------------------|--------------------------------------|--|---------------------|---|------------|
| Fenton clásica | 50-90 °C pH ácido, no light | FeSO ₄ , H ₂ O ₂ | Moderado | Uso de sales de hierro; requiere ajuste ácido | [65] |
| Sono-Fenton | 25-50°C 450W poder de ultrasonido | FeSO ₄ , Ultrasonido, H ₂ O ₂ | Alto | Consumo eléctrico adicional por ultrasonido | [66] |
| Catalizada por metales | 80-200°C alta T° | Ru, Pd, Cu + oxidante | Alto | Requiere preparación y recuperación de catalizador | [67] |
| Biológica | 25-37°C Enzimática | Lacases, peroxidasas | Bajo | Condiciones suaves; tiempos largos de reacción | [68] |

| | | | | | |
|------------------------------|----------------------------|------------------------------|------|--|-------|
| Pirólisis Térmica | 400-600°C Muy severas | ---- | Bajo | Elevado consumo energético; procesos térmicos severos | [69] |
| Este trabajo | 25°C suaves, pH 3.00 | No (Fenton- autoactivado) | Alto | Operación a temperatura ambiente; sin reductores externos; medio acuoso | ----- |

Los resultados obtenidos evidencian que la despolimerización oxidativa de lignina Kraft bajo las condiciones evaluadas ocurre mediante un mecanismo bifásico, caracterizado por una etapa inicial de fragmentación aleatoria seguida de una fase de recombinación radicalaria. El ajuste de modelos empíricos y cinéticos permitió cuantificar la evolución del peso molecular y diferenciar las contribuciones relativas de ambos procesos. La identificación de productos aromáticos mediante GC-MS confirmó la ruptura selectiva de enlaces interunidad, principalmente β -O-4, y reveló rutas de transformación coherentes con mecanismos radicalarios previamente reportados. En conjunto, estos hallazgos proporcionan una base para optimizar las condiciones de reacción orientadas a maximizar la formación de monómeros y minimizar la repolimerización, contribuyendo al desarrollo de estrategias más eficientes para la valorización de lignina.

5.5. Propuesta de mecanismo de despolimerización.

La Figura 30 presenta el esquema propuesto para la despolimerización oxidativa de lignina kraft por reacción de Tipo Fenton. Considerando los posibles sitios de coordinación para el Fe(III) y las vías de oxidación definidas para la obtención de los productos, las cuales son en el caso del propenilguayacol, el mecanismo implica la deshidratación de la cadena lateral de tres carbonos tras la ruptura del enlace β -O-4. Para la formación de acetovanillona se requiere una oxidación en el C α seguida de una escisión del enlace C β -C γ , lo que resulta en la conservación de un grupo acetilo unido al anillo aromático.

Simultáneamente, la detección de 2,6-dimetoxifenol (siringol) y 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldehído (siringaldehído) se atribuye a la degradación de las unidades S. El siringol se produce mediante la escisión oxidativa completa de la cadena lateral en el enlace C α -C_{arilo} proceso favorecido por la densidad electrónica de los anillos trimetoxilados. En cuanto al siringaldehído, su formación ocurre a través de la ruptura del enlace C α - C β donde el C α remanente es oxidado a un grupo funcional aldehído. Estas rutas demuestran que la reactividad del •OH no es aleatoria, sino que está condicionada por la naturaleza del sustituyente en el anillo aromático y la disponibilidad de enlaces intermonoméricos lábiles.

Mecanismo de oxidación

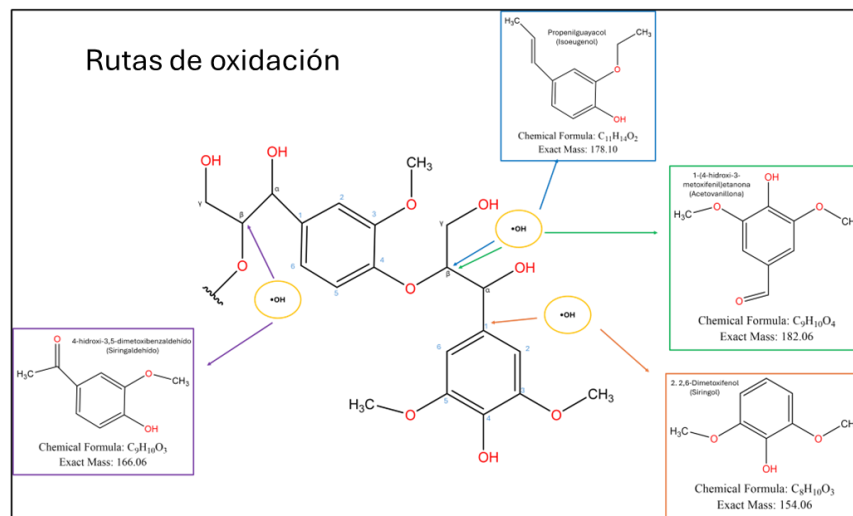
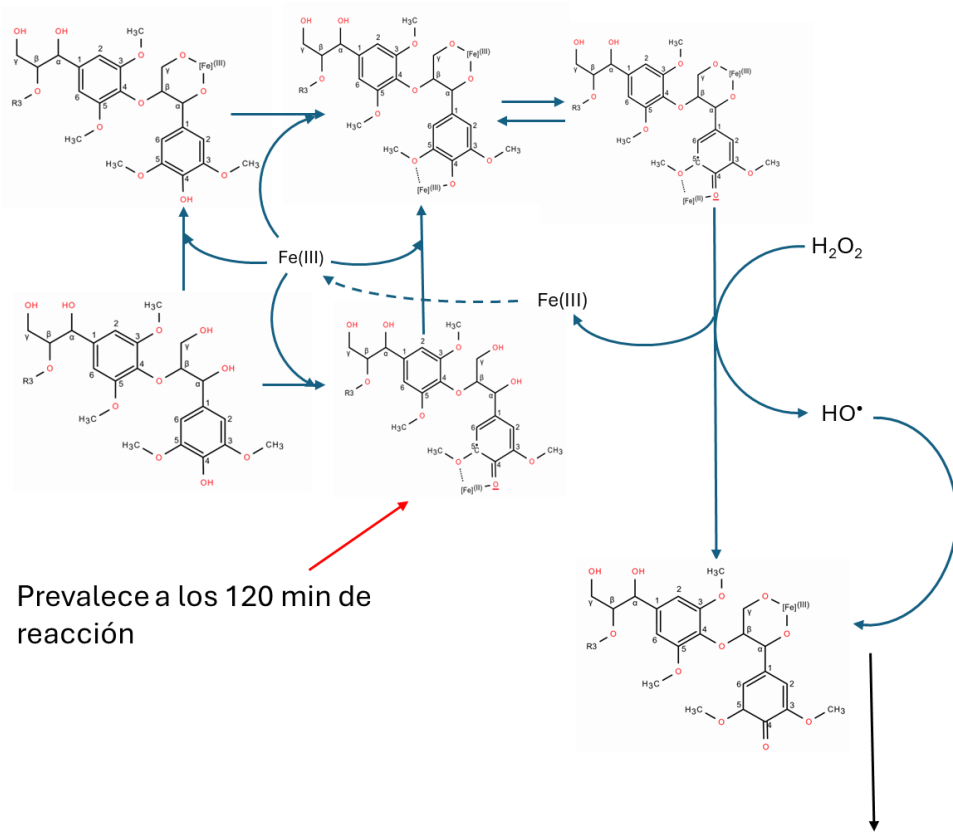


Figura 32: Esquema propuesto para comprender el mecanismo de despolimerización de la lignina kraft por reacción de Tipo Fenton.

CAPÍTULO 6. Conclusión.

La presente investigación demuestra que la lignina Kraft posee la capacidad intrínseca de autoactivar un sistema tipo Fenton mediante su doble función como agente quelante y reductor de Fe(III), generando y modulando especies radicalarias sin requerir promotores externos. Este comportamiento no había sido descrito previamente como un mecanismo integrado y autorregulado en sistemas lignina–hierro bajo condiciones suaves.

Se estableció que la despolimerización oxidativa ocurre bajo un régimen dinámico bifásico, gobernado inicialmente por radical hidroxilo y posteriormente por especies fenóxilo/semiquinona que inducen reestructuración macromolecular. Este hallazgo permite reinterpretar la evolución del peso molecular en sistemas Fenton aplicados a lignina, demostrando que la oxidación no es un proceso lineal de degradación, sino un equilibrio cinético entre fragmentación y recombinación estructural.

En consecuencia, este trabajo no solo optimiza condiciones de reacción, sino que aporta un marco mecanístico que redefine el rol de la lignina en procesos Fenton, estableciendo las bases conceptuales para el diseño de sistemas autoactivados orientados a la valorización selectiva de biopolímeros aromáticos.

CAPÍTULO 7. Perspectivas y proyecciones tecnológicas.

Desde una perspectiva de madurez tecnológica, el sistema desarrollado se encuentra en un nivel TRL 3–4, correspondiente a validación experimental en laboratorio con demostración de principios funcionales. Si bien se comprobó la viabilidad química y mecanística del proceso, su transición hacia escalamiento requiere abordar desafíos asociados a control radicalario, estabilidad catalítica y recuperación de hierro.

El escalamiento potencial del sistema presenta ventajas comparativas frente a procesos Fenton convencionales, debido a que no requiere agentes quelantes sintéticos ni condiciones extremas de pH o temperatura. Esto facilitaría su integración en corrientes laterales de biorrefinerías kraft, particularmente en etapas posteriores a la extracción alcalina, donde la lignina ya se encuentra en solución.

Para avanzar hacia niveles TRL 5–6, será necesario:

- Evaluar el comportamiento en reactores continuos.
- Analizar la eficiencia de recuperación y recirculación de hierro.
- Determinar balances energéticos y económicos.
- Caracterizar la selectividad de productos bajo condiciones semi-industriales.

La integración industrial podría orientarse tanto a la producción de compuestos aromáticos de alto valor como a la generación de precursores funcionalizados para materiales poliméricos, posicionando este enfoque como una alternativa viable dentro del concepto de biorrefinería circular.

CAPÍTULO 8. Productividad científica

La primera publicación que se presenta corresponde a los resultados previamente exhibidos en el capítulo 6, que hacen énfasis a los objetivos 1 y 2 de la tesis doctoral con respecto a la capacidad quelante/reductor de la lignina Kraft y el desarrollo y optimización del diseño experimental para encontrar las concentraciones de Fe(III) y de H₂O₂.

- ✓ Camila M, Victoria M, Eduardo T, Serguei A, Monserrat P, David C. Self-sustained Fenton depolymerization of Kraft Lignin under ambient condition. 2025-08-19. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2025.118812>. (Adjunto publicación)

La segunda publicación corresponde a los resultados que hacen énfasis a los objetivos 3 y 4 de la tesis doctoral con respecto al estudio del mecanismo de despolimerización oxidativa, estudiando la cinética y todo lo involucrados. Este paper esta en proceso de corrección por parte del tutor próximamente a ser enviado.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Environmental Chemical Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jece

Self-sustained Fenton depolymerization of Kraft lignin under ambient conditions

Camila Méndez-Rivas^{a,*,} Victoria Melín^{a,} Romina Romero^{a,} Eduardo Troncoso^{a,*,}
Serguei Alejandro-Martín^{b,} Montserrat Pérez-Moya^{c,} David Contreras^{a,*,}

^a Laboratory of Advanced oxidation processes and Green Chemistry, Faculty of Chemical Sciences, Universidad de Concepción, Concepción 4070386, Chile

^b Department of Process Engineering and Bioproduct, Faculty of Engineering, Universidad del Bío-Bío, Concepción 4051381, Chile

^c Department of Chemical Engineering, University Politècnica de Catalunya, Barcelona 08036, Spain

ARTICLE INFO

Keywords:

Lignin depolymerization
Fenton reaction
Hydroxyl radicals ($\bullet\text{OH}$)
Self-oxidative depolymerization
Advanced oxidation processes

ABSTRACT

Lignin valorization is a key strategy for advancing sustainable biorefineries by transforming this abundant aromatic polymer into high-value chemicals, thereby reducing dependence on fossil-based resources. This study explores a novel self-sustaining Fenton-like depolymerization process operating under mild conditions, in which lignin functions simultaneously as a chelating and reducing agent. The formation of lignin- Fe^{III} complexes, followed by in situ reduction to Fe^{II} , enables continuous hydroxyl radical ($\bullet\text{OH}$) generation from H_2O_2 without the need for external catalysts, energy inputs, or additional Fe^{II} sources. The depolymerization mechanism was evaluated through comprehensive physicochemical and chemical characterization. Gel permeation chromatography (GPC) revealed a 49 % reduction in molecular weight (Mw) under optimized conditions (Fe^{III} 0.4 mg L^{-1} , H_2O_2 68 mg L^{-1}), with dispersity decreasing from 3.21 to 2.52. Kinetic modeling indicated a biphasic process, with initial depolymerization followed by partial repolymerization driven by radical dynamics, captured using empirical polynomial and rate-based models. FT-IR spectroscopy confirmed the oxidative cleavage of $\beta\text{-O-4}$ ether and C-C bonds, supported by increased carbonyl and syringyl/guaiacyl absorption bands. SEM and contact angle analyses revealed morphological disruption and reduced hydrophobicity. GC-MS identified low-molecular-weight oxidation products, including propenylguaicol, 2,6-dimethoxyphenol, and aromatic ketones, corresponding to selective cleavage pathways and yielding 7–70 % total conversion into identifiable aromatic monomers. These results provide multiple lines of evidence—molecular weight reduction, structural bond cleavage, and chemical product distribution—demonstrating the effectiveness of the lignin depolymerization approach. This work highlights the dual functional role of lignin in catalyzing its own oxidative breakdown and offers a low-energy, catalyst-free route for lignin valorization. The mechanistic insights gained herein establish a foundation for future studies investigating radical-mediated pathways using advanced techniques such as electron paramagnetic resonance (EPR), which are currently under development.

1. Introduction

For decades, petroleum has been a primary feedstock for the production of fuels, chemicals, and materials essential to modern industry and daily life [1]. However, as a non-renewable resource, its finite availability and the environmental, economic, and social concerns associated with its extraction and use underscore the urgency for sustainable alternatives. In this context, lignocellulosic biomass—comprising mainly cellulose, hemicellulose, and lignin—has

emerged as a promising renewable resource [2]. Lignin holds great potential as a substitute for petroleum-derived aromatics due to its abundance and unique chemical structure. As the second most abundant natural polymer after cellulose and the largest renewable source of aromatic compounds, lignin consists of phenylpropane units derived from *p*-coumaryl, coniferyl, and sinapyl alcohols (Fig. 1). These monolignols are intricately linked via a variety of covalent bonds, forming a highly recalcitrant and heterogeneous three-dimensional structure [2,3].

At the industrial scale, most of the lignin is incinerated for energy

* Correspondence to: Edmundo Larenas 129, Universidad de Concepción, Concepcion, Chile

E-mail addresses: cammendez@udec.cl (C. Méndez-Rivas), victoriamelin@udec.cl (V. Melín), rominaromero@udec.cl (R. Romero), etroncoso@udec.cl (E. Troncoso), salejandro@ubiobio.cl (S. Alejandro-Martín), montserrat.perez-moya@upc.edu (M. Pérez-Moya), dcontrer@udec.cl (D. Contreras).

<https://doi.org/10.1016/j.jece.2025.118812>

Received 14 May 2025; Received in revised form 24 July 2025; Accepted 19 August 2025

Available online 20 August 2025

2213-3437/© 2025 Elsevier Ltd. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

recovery, with only a small fraction—approximately 2%—currently exploited for commercial applications. To harness lignin as a viable renewable resource, effective valorization strategies are essential. Considerable research has focused on the depolymerization of lignin and its model compounds into low-molecular-weight aromatic chemicals, which hold significant value as platform chemicals or precursors for advanced materials. Among the strategies investigated are thermal depolymerization methods, such as pyrolysis and microwave-assisted processes, as well as catalytic techniques utilizing acidic or basic catalysts, ionic liquids, and supercritical fluids [4–7]. Although many of the strategies have shown effectiveness in depolymerizing both lignin model compounds and industrial lignin, they often require harsh operational conditions. These include elevated temperatures (typically above 180 °C), high pressures, and the use of strong acids or complex metal-based catalysts, which raise concerns regarding environmental impact and process sustainability. In contrast, certain depolymerization methods operate under milder conditions—such as ambient temperature and atmospheric pressure. Biological approaches, for example, utilize bacteria, fungi, or enzymes to break down lignin. While environmentally benign, these methods are generally limited by low yields of phenolic products and prolonged cultivation and reaction times [5,8]. Among the more promising alternatives is oxidative depolymerization, particularly through advanced oxidation processes (AOPs), which rely on the generation of hydroxyl radicals ($\bullet\text{OH}$) with a high oxidative potential ($E^\circ = 2.8 \text{ V}$). These radicals can be produced by various systems, including TiO_2/UV , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, $\text{Fe}^{II}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, O_3/UV , as well as electro-Fenton, photo-Fenton, sono-Fenton, and classical $\text{Fe}^{II}/\text{H}_2\text{O}_2$ reactions [9]. These approaches have demonstrated the capacity to degrade lignin into a range of products, from fully mineralized forms like CO_2 and H_2O to valuable low-molecular-weight compounds, such as alcohols, aldehydes, ketones, and carboxylic acids, depending on reaction conditions.

In nature, lignin depolymerization mainly takes place through the oxidative action of brown-rot fungi, which create a chemically aggressive microenvironment. According to Arantes et al., these fungi generate H_2O_2 via the oxidation of phenolic substrates and lignin derivatives. In the presence of metal ions like Fe^{II} , H_2O_2 undergoes Fenton-like reactions to produce hydroxyl radicals, which non-selectively cleave

lignin's complex polymeric structure into smaller aromatic units [10].

Efforts to replicate this mechanism under laboratory conditions have had limited success, mainly due to the inefficient reduction of Fe^{III} back to Fe^{II} —a critical, rate-limiting step in the Fenton cycle. To overcome this limitation, several modified Fenton-based approaches have been explored, including sono-Fenton, electro-Fenton, and photo-Fenton processes, as well as the use of Fe^{II} -chelating ligands to improve iron redox cycling and radical generation efficiency [8,11–13].

Beyond the fundamental insights into depolymerization mechanisms, the ultimate goal of lignin valorization is the production of high-value chemicals that can serve as bio-based alternatives to petrochemicals. Monomeric phenolic compounds and oxygenated aromatics derived from lignin can be used as precursors for bioresins, adhesives, polymers, plasticizers, antioxidants, and functional materials for energy storage, packaging, or coating applications. Their integration into industrial processes offers a promising route toward carbon-neutral, sustainable product lines. Therefore, developing efficient, selective, and scalable lignin depolymerization methods is key to unlocking the full potential of lignin as a renewable feedstock for the chemical industry.

Traditional Fenton processes rely on the efficient cycling between Fe^{II} and Fe^{III} to continuously generate hydroxyl radicals ($\bullet\text{OH}$). However, the reduction of Fe^{III} back to Fe^{II} is often the rate-limiting step, requiring external reductants or additional energy input, which complicates the process and increases operational costs. Our approach leverages the intrinsic properties of lignin as both a ligand and a reducing agent for Fe^{III} , enabling a self-sustained Fenton-like cycle that proceeds efficiently under ambient temperature and pressure, without the need for external catalysts or additives.

In this context, the present study introduces a novel approach to lignin depolymerization based on a self-sustaining, auto-oxidative Fenton-type mechanism. In this system, lignin acts simultaneously as a ligand and a reducing agent: it forms coordination complexes with Fe^{III} and facilitates its reduction to Fe^{II} , promoting continuous hydroxyl radical generation. This eliminates the need for external catalysts or additives and enables efficient and selective lignin breakdown under mild conditions. The proposed mechanism offers a sustainable and potentially scalable pathway for lignin valorization into high-value aromatic compounds.

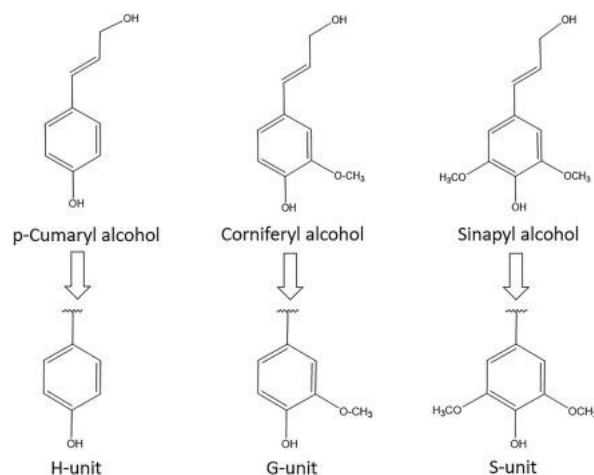


Fig. 1. Monolignol Precursors and their derived phenylpropane units in the lignin polymer Structure].

2. Experimental

2.1. Reagents and materials

All chemicals used were of analytical grade. Iron(III) nitrate non-hydrate ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$), 30 % hydrogen peroxide, potassium thiocyanate, nitric acid, pyridine, tetrahydrofuran (THF), and acetic anhydride were purchased from Merck. Ferrozine was obtained from Sigma-Aldrich. Kraft lignin was sourced from Suzano (Brazil). Polystyrene standards for GPC calibration were acquired from Supelco-Merck.

2.2. Lignin characterization

2.2.1. Sample treatment

After completion of the depolymerization reaction, the mixture was filtered to separate the solid and liquid phases. The solid fraction was analyzed by GPC, FT-IR, SEM, and contact angle measurements. The liquid phase was preconcentrated by solid-phase extraction (SPE) using SCX OASIS cartridges and dichloromethane as the eluent (concentrating 200 mL of sample into 1 mL of solvent), followed by analysis using GC-MS.

2.3. Elemental analysis, FT-IR, TGA/DTG, and GPC

Were employed to characterize the Suzano lignin sample. For GPC analysis, the lignin was acetylated to improve its solubility in THF. Briefly, 20 mg of lignin were dissolved in a 4.0 mL of pyridine/acetic anhydride mixture (1:1 v/v) and stirred for 20 h at 25 °C. After acetylation, 40 mL of distilled water were added, and the suspension was centrifuged at 4000 rpm for 10 min. The solid residue was oven-dried at 105 °C for 2 h, redissolved in 2.0 mL of THF, filtered through a 0.22 μm membrane, and analyzed by GPC [11,14,15].

GPC analysis was conducted using a Waters system equipped with Styragel columns HR0.5 THF, HR1 THF, and HR4 THF, along with a 2414 refractive index detector, a 1425 binary HPLC pump, and a 717 Plus autosampler. The eluent was THF at a flow rate of 0.5 mL min^{-1} , and the column oven was maintained at 40 °C. Calibration was carried out using polystyrene standards ranging from 78 to 112,000 g mol^{-1} . Data acquisition and processed were performed using Empower GPC software [16].

FT-IR analysis: was performed using a NEXUS NICOLET spectrometer. Dry lignin powder was pressed into KBr pellets, and spectra were recorded in the range of 4000–400 cm^{-1} with a resolution of 4 cm^{-1} and 64 scans at 25 °C [17].

Scanning Electron Microscopy (SEM) analysis was carried out using gold-coated lignin pellets. A CARL ZEISS GEMINI SEM 360 FESEM equipped with a Schottky emitter (0.7 nm resolution at 15 kV) was used. Images were acquired using SMARTSEM 7.01 Service Pack 3 software.

Contact angle: Measurements were used to assess changes in surface hydrophobicity. Water droplets were deposited on dried lignin surfaces, and contact angles were measured using a Biolin Scientific instrument with OneAttension software.

2.4. Depolymerization procedure and experimental design

Initial experiments established an optimal reaction time of 50 min. A circumscribed central composite design (CCC) based on a quadratic model was applied to optimize Fe^{III} and H_2O_2 concentrations. Reactions were performed in a 200 mL reactor containing 100 mg of lignin, with pH adjusted to 3.0 using nitric acid. Fe^{III} and H_2O_2 concentrations were varied as detailed in Table S1. In parallel, a kinetic study was conducted to correlate reaction time with molecular weight reduction.

2.5. Assessment of lignin's chelating and reducing capacities

Chelating capacity was determined by monitoring the decrease in

absorbance of the $\text{Fe}[\text{SCN}]_2^+$ complex, while reducing capacity was evaluated through the formation of the ferrozine- Fe^{II} complex. Reactions were carried out in a 200 mL reactor containing 100 mg of lignin, 0.3 mM Fe^{III} , and 600 mM H_2O_2 at room temperature. Absorbance readings were collected over 2 h using an Agilent diode array spectrophotometer.

2.6. GC-MS analysis of oxidation products

The preconcentrated samples obtained via SPE were analyzed using a GC-MS system (7890A-5975C, Agilent). The temperature program was as follows: 60 °C (5 min hold), ramping at 5 °C min^{-1} to 250 °C, and a final hold at 250 °C for 5 min. Injection and detector temperatures were 260 °C and 280 °C, respectively. Separation was achieved on an HP5MS capillary column (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm).

2.7. Analytical pyrolysis procedure

Analytical pyrolysis runs were conducted in a Py-GC/MS system (CDS Pyroprobe 5200HPR coupled to a PerkinElmer Clarus 690 chromatograph connected with a Perkin Elmer Clarus SQ-8T MS Detector, following a procedure reported elsewhere [18]). Around 0.5 mg of samples was placed into the quartz pyrolysis tube and heated up to 550 °C in a controlled atmosphere (Helium), temperature, heating rate (12.5 °C7s), and pyrolysis time (15 s). Gaseous evolved compounds were adsorbed in a Tenax Trap and the heated to 280 C to send to the GC/MS system through a transfer line (280 °C). An Elite 1701 column (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm) heated from 45 to 280 °C, with He as the Carrier gas at 15 mL min^{-1} , allowed compound separation and their final identification by comparison of their mass spectra with an m/z range of 35–300 da and compared with the 2017 NIST MS library.

3. Results and discussion

3.1. Experimental design and molecular weight reduction

A circumscribed central composite design (CCC) was employed to optimize the depolymerization process. The model derived (Eq. (1)) through multiple regression identified the optimal conditions as 0.4 mg L^{-1} Fe^{III} and 68 mg L^{-1} H_2O_2 . The linear interaction terms were not significant; only the quadratic terms contributed meaningfully to the model, indicating that the optimal conditions lie near the design center (Fig. 2).

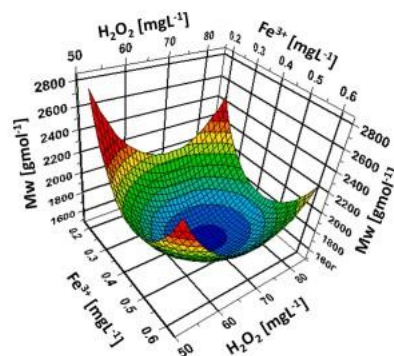


Fig. 2. Response Surface Plot from the circumscribed central composite design: Effect of Fe^{III} and H_2O_2 concentrations on lignin Molecular Weight.

$$M_w = (2.59 \pm 0.004) \times 10^{-2} + (5.65 \pm 3.34) \times 10^{-4} [Fe^{III}] + (6.18 \pm 2.59) \times 10^{-4} [H_2O_2] - (3.13 \pm 3.81 \times 10^{-3}) [Fe^{III}]^2 - (2.65 \pm 3.17) \times 10^{-3} [H_2O_2]^2 \quad (1)$$

The model's validity was confirmed via ANOVA, yielding an F-value of 32.85 ($p = 0.001$) and a non-significant lack of fit ($F = 1.123$, $p = 0.503$), suggesting strong predictive capacity. Experimental validation under these optimal conditions resulted in Mw values between 1438 and 1539 $g \cdot mol^{-1}$, closely aligning with the model's predicted $1507 \pm 65 \text{ g} \cdot mol^{-1}$ (95 % CI). This corresponds to a 49 % reduction from the initial Mw of 3161 $g \cdot mol^{-1}$, with GPC data (Fig. 6) showing a clear leftward shift in molecular weight distribution and a dispersity reduction from 3.27 to 2.52, indicating selective bond cleavage, most likely involving β -O-4 linkages [19,20].

3.2. Depolymerization kinetics

The time-dependent behavior of lignin depolymerization under Fenton-like oxidative conditions was investigated to elucidate the kinetic profile of the process. Fig. 3 illustrates the evolution of the weight-average molecular weight (Mw) over a reaction period of 120 min. The data revealed biphasic kinetic behavior, characterized by an initial depolymerization phase followed by a secondary repolymerization phase.

During the first 50 min, a consistent decrease in Mw was observed, indicating effective fragmentation of lignin into lower-molecular-weight compounds. This depolymerization is attributed to the action of hydroxyl radicals ($\bullet OH$), which initiate a radical chain reaction targeting susceptible bonds within the lignin structure. These radicals propagate the reaction by continually cleaving bonds and reducing molecular weight. The reduction in Mw during this phase suggests a predominance of chain scission over any recombination processes.

At approximately 50 min, the Mw reached its minimum value, corresponding to the maximum depolymerization point. Beyond this inflection point, a gradual increase in Mw was observed, extending up to 100 min. This shift indicates the onset of a repolymerization process, in which reactive lignin intermediates—such as phenoxy or carbon-centered radicals—begin to recombine. This recombination may be

facilitated by radical-radical coupling or nucleophilic attack on electrophilic intermediates, forming new covalent bonds and larger macromolecular structures.

The observed kinetic pattern suggests a dynamic competition between depolymerization and repolymerization mechanisms. In the early stage, depolymerization dominated due to a high concentration of reactive hydroxyl radicals and intact lignin. As the reaction progresses, the accumulation of lignin fragments and radicals increases the likelihood of recombination, shifting the reaction equilibrium toward repolymerization.

To quantitatively describe this behavior, an empirical third-degree polynomial model was fitted to the logarithm of Mw as a function of time (Eq. (2)):

$$\text{Log}M_w(t) = a + bt + ct^2 + dt^3 \quad (2)$$

where $b = -0.0112$, $c = 1.91 \times 10^{-4}$, $d = -8.79 \times 10^{-7}$

This empirical model fit to the experimental data and effectively delineated both kinetic phases. The derivative of this polynomial (Eq. (3)), also an empirical expression, describes the instantaneous rate of change of Mw:

$$\frac{d(\text{Log}M_w)}{dt} = b + 2ct + 3dt^2 \quad (3)$$

This derivative model allows the identification of the period during which depolymerization and repolymerization rates intersect. It shows a negative rate of change from 0 to 50 min, indicating active depolymerization, followed by a transient equilibrium period (50–70 min). After 70 min, the rate becomes positive, confirming that polymerization predominates.

To further elucidate the reaction mechanism, the evolution of molecular weight (Mw) was modeled using simplified kinetic expressions. The initial depolymerization phase was well-described by a first-order kinetic model (Eq. (4)), reflecting a linear dependence on Mw and consistent with random chain scission driven by radical-mediated bond cleavage. For the repolymerization phase, however, a logistic (sigmoidal) growth model provided a superior fit compared to a classical second-order approach. This behavior suggests that Mw evolution is governed by autocatalytic-like radical coupling mechanisms, where radical concentration builds up gradually, accelerates recombination, and then levels off as radicals are depleted or steric hindrance limits further interactions. The logistic form (Eq. (5)), captures this dynamic, where A is the maximum achievable Mw and k is the effective recombination rate constant. The observed transition from exponential decay to sigmoidal growth (Fig. S2) reflects a mechanistic shift from chain cleavage to radical-radical recombination, aligning with prior studies of oxidative lignin depolymerization in which intermediate radicals mediate both fragmentation and polymer reassembly [21,22].

$$\frac{dM_w}{dt} = -k_d M_w \quad (4)$$

$$\frac{dM_w}{dt} = k_p M_w \left(1 - \frac{M_w}{A}\right) \quad (5)$$

The ability to empirically characterize the kinetic interplay between degradation and condensation processes is essential for optimizing reaction conditions that favor depolymerization over repolymerization. To the best of our knowledge, this work represents one of the first reports to clearly delineate and empirically model the dual kinetic behavior of Kraft lignin under Fenton-like oxidative conditions. This insight is particularly valuable for guiding future developments in lignin valorization technologies aimed at maximizing the yield of desirable low-molecular-weight aromatic compounds while minimizing undesirable repolymerization side reactions.

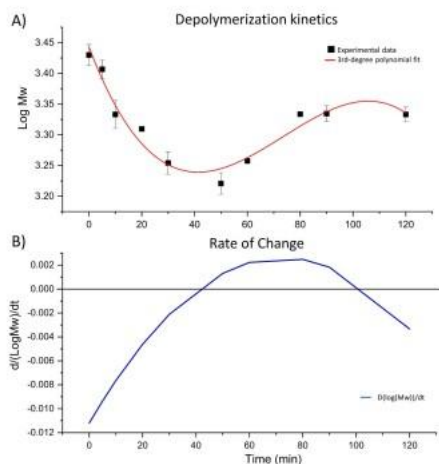


Fig. 3. A) Depolymerization Kinetics and B) Rate of change].

3.3. Chelating/reducing capacity of Kraft lignin

The chelating and reducing capacities of the Kraft lignin were evaluated spectrophotometrically to assess its role in sustaining Fenton-Like oxidative depolymerization. A continuous decrease in the absorbance of the $\text{Fe}(\text{SCN})_2^+$ complex at 480 nm confirmed the efficient chelation of Fe^{III} by lignin over a two-hour period (Fig. 4, black curve). Simultaneously, the increase in absorbance at 562 nm corresponding to the formation of the pink Fe^{II} -ferrozine complex (Fig. 4, red square) demonstrated that lignin actively facilitates the reduction of Fe^{3+} to Fe^{2+} [23].

This dual functionality enables redox cycling of iron, sustaining hydroxyl radical ($\bullet\text{OH}$) generation, which is central to the Fenton mechanism. Notably, this intrinsic property of lignin eliminates the need for external reducing agents commonly required to regenerate Fe^{II} in conventional Fenton systems. By promoting *in situ* Fe^{II} regeneration, lignin enhances oxidative efficiency while simultaneously undergoing chemical valorization. These findings underscore the potential of Kraft lignin as both a functional reactant and redox mediator in environmentally friendly lignocellulosic biomass conversion processes [24,25].

Based on these findings, a mechanistic pathway is proposed (Fig. 5), in which phenolic groups of the S units of Kraft lignin first chelate Fe^{III} , followed by reduction to Fe^{II} [26,27]. This step is supported by Tamaru et al. [28], who identified sinapyl alcohol—a key S-type lignin monomer—as the primary model compound responsible for Fe^{III} reduction. The regenerated Fe^{II} then reacts with H_2O_2 , producing hydroxyl radicals ($\bullet\text{OH}$) that drive oxidative bond cleavage within the lignin structure. This self-sustained cycle enables effective depolymerization under mild conditions.

3.4. Structural and morphological changes induced by oxidative depolymerization

The chemical and morphological characterization of the lignin sample before and after oxidative depolymerization revealed significant structural transformations. Elemental analysis of the raw Suzano Kraft lignin showed a typical composition for hardwood lignin composition (62–65 % C, 5–6 % H, 29–30 % O and <2 % S) [29,30]. Gel permeation chromatography (GPC) indicated a weight-average molecular weight (M_w) of 3100 g mol^{-1} and dispersity (D) of 3.27 (Table 1). After oxidative treatment, GPC analysis revealed a substantial shift toward lower molecular weights ($M_w = 1507 \text{ g mol}^{-1}$) and a reduced dispersity of 2.52 (Fig. 6), confirming effective bond cleavage within the polymer matrix.

FT-IR spectra further supported these findings, showing distinct differences between native and depolymerized lignin (Fig. 7). The broad O-H stretching band at 3424 cm^{-1} decreased in intensity after

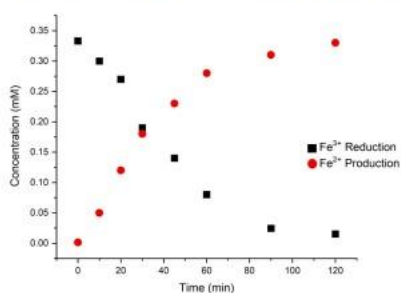


Fig. 4. Kinetics of Fe^{III} Chelation and Reduction by Kraft lignin: Formation of Fe^{II} (red circles) and Decrease of Fe^{III} (black squares).].

depolymerization, indicating oxidation of hydroxyl groups to carbonyl and carboxylic functionalities. This was accompanied by a marked increase in the $\text{C}=\text{O}$ stretching band at 1703 cm^{-1} , consistent with the formation of aldehydes, ketones, and acids [31,32]. Alterations in the aromatic skeletal vibration region (1605–1511 cm^{-1}) as well as shifts in bands associated with syringil (S) and guaiacyl (G) units at 1312 and 1217 cm^{-1} , suggested selective cleavage of $\beta\text{-O-4}$ linkages [32–34]. Additionally, increases in the 1026 cm^{-1} band and in the out-of-plane deformations at 908 and 841 cm^{-1} indicate ether bonds and demethoxylation of aromatic rings, enhancing the availability of reactive sites [32,35].

Morphological and surface changes were confirmed by SEM and contact angle analysis (Fig. 8A and B). SEM images showed a transition from smooth, spherical structures in native lignin to irregular, fractured morphologies in the oxidized sample. Contact angle (Fig. 8C) values decreased from 139.2° to 132.4°, indicating hydrogen bonding with water [35,36].

The cumulative effect of these spectral changes suggests that oxidation not only fragments the lignin polymer but also alters its chemical functionality, leading to the formation of new reactive groups and an overall increase in the number of accessible sites within the macromolecule. This transformation enhances the material's potential for further chemical modification and significantly broadens its applicability, particularly in fields such as pollutant adsorption, catalysis, or the synthesis of bio-based advanced materials.

To further elucidate the evolution of lignin-derived products during Fenton-like depolymerization, we performed pyrolysis coupled with gas chromatography–mass spectrometry (Py-GC-MS) on samples collected at 0, 50, and 120 min (Fig. S3). The quantitative analysis revealed that phenolic compounds represented the dominant product class at all reaction times, constituting 57.7 % at 0 min, 55.8 % at 50 min, and 55.5 % at 120 min. This persistent abundance of phenols highlights the aromatic nature of lignin and the selectivity of the depolymerization process toward the formation of these valuable monomers.

Notably, the relative content of acids decreased from 9.9 % at 0 min to 6.1 % at 50 min, and further to 5.8 % at 120 min, while alcohols peaked at 4.5 % at 50 min before being nearly absent at 120 min. Aldehyde content also increased from 2.6 % at 0 min to 3.2 % at 50 min, then decreased to 2.4 % at 120 min, indicating transient formation and subsequent consumption or transformation of these functionalities as the reaction progressed.

A particularly striking trend was observed for hydrocarbons, which increased substantially over time—from 18.6 % at 0 min to 20.3 % at 50 min and then sharply to 34.1 % at 120 min—suggesting enhanced decarboxylation, demethoxylation, or other deoxygenation reactions as depolymerization proceeded and recombination reactions became more prominent. The content of ketones remained relatively low throughout, with a slight decrease at 50 min (1.4 %) compared to 0 min (1.8 %), and a minor increase at 120 min (1.6 %).

The “unknown” fraction, likely representing minor or unresolved pyrolysis products, was 8.6 % at 0 min, remained similar at 50 min (8.8 %), and decreased sharply to 0.6 % at 120 min, indicating greater product definition or loss of minor species over extended reaction times.

Together, these data confirm that a 50-minute reaction time maximizes the yield of oxygenated aromatics (alcohols, acids, aldehydes) while still retaining a high proportion of phenolic monomers and minimizing undesired hydrocarbon formation. In contrast, prolonged reaction (120 min) leads to a marked increase in hydrocarbons and a decrease in oxygenated functional groups, consistent with repolymerization and secondary condensation or deoxygenation pathways. These findings underscore the importance of precise reaction time control to optimize product selectivity during lignin depolymerization.

3.5. Identification of oxidation products by GC-MS

GC-MS analysis (Fig. 9) confirmed the formation of several aromatic

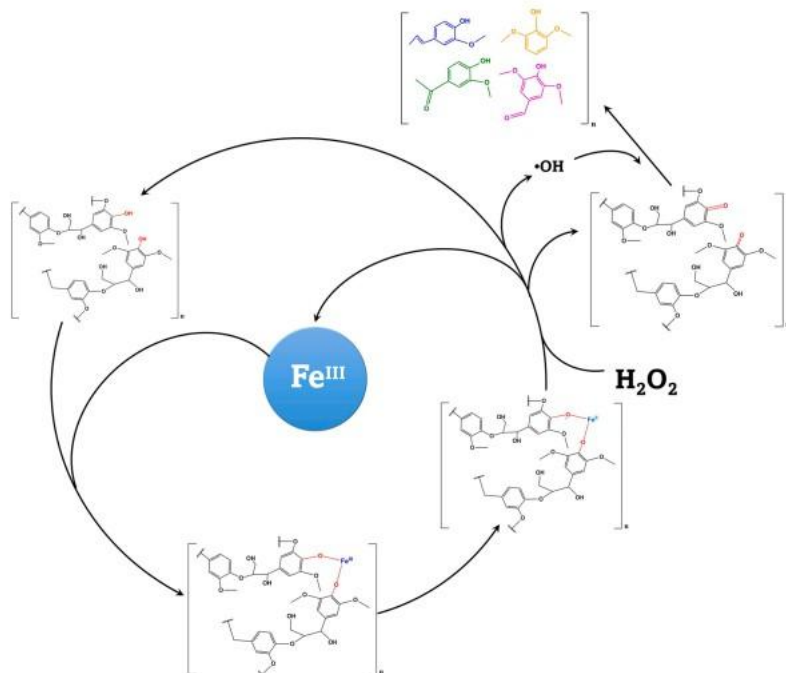


Fig. 5. Proposed pathway of depolymerization of kraft lignin via Fenton-type reaction, considering the three-dimensional structure of lignin, a one-plane representation was made to simplify the scheme.

Table 1
Physicochemical and structural characterization of Kraft lignin.

| Raw Material | Analysis | | | | | | | | | | |
|---------------|--------------------|------|--------|--------|-----|-------------------------|------|------|-----------------------|-----------------------|---------------------|
| | Elemental analysis | | | | | Molar mass distribution | | | TGA | | |
| | %C | %H | %S | %N | %O* | Mw | Mn | D | T _{max} (°C) | T _{50%} (°C) | % Residue at 600 °C |
| Suzano Lignin | 62,74 | 6,26 | < 2,00 | < 2,00 | −31 | 3100 | 1165 | 3,27 | 335,1 | 482,8 | 45,2 |

Oxygen is calculated by the difference between C, H, N and S.

monomers as products of oxidative lignin depolymerization. The major compounds identified included propenylguaiacol, 2,6-dimethoxyphenol, 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)ethanone, and 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzaldehyde (Fig. S5 shows the mass spectra corresponding to each compound), collectively accounting for a total yield of approximately 7–70 % (w/w) based on the initial lignin mass. These compounds are characteristic of selective cleavage of key interunit linkages in the lignin structure, particularly the β -O-4 ether bond, which is the most abundant and labile in native lignin. For example, the formation of 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)ethanone (acetovanillone) can result from oxidative cleavage of the β -O-4 bond followed by oxidation of the resulting benzylic alcohol intermediate. Similarly, propenylguaiacol may originate from coniferyl alcohol units via partial oxidation or dehydration steps, while 2,6-dimethoxyphenol and 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzaldehyde (syringaldehyde) likely derive from S-type units through side-chain scission and subsequent oxidation [31,

32]. Hydroxyl radicals (\bullet OH) generated during the reaction play a central role in this transformation by preferentially targeting ether (C–O–C) and carbon–carbon (C–C) bonds that connect lignin's phenylpropanoid units. The scission of these bonds disrupts the complex three-dimensional network of lignin, leading to the release of low-molecular-weight aromatic compounds functionalized with methoxy, hydroxyl, aldehyde, or ketone groups.

To contextualize the performance of this Fenton-like oxidative system, a comparative analysis with other lignin depolymerization strategies—such as classical Fenton, Sono-Fenton, thermal pyrolysis, catalytic oxidation, and biological processes—is presented in Table 2. This comparison considers key aspects such as operating temperature, pH, need for external catalysts or reductants, product yield, and selectivity. The proposed system demonstrates competitive performance under mild conditions (25 °C, pH 3), with no external catalysts or

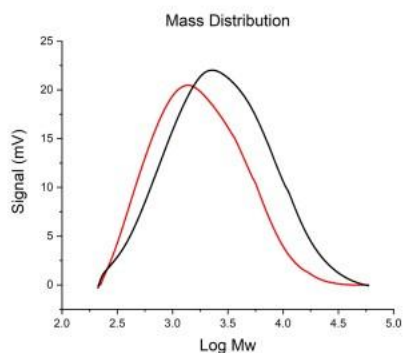


Fig. 6. Molecular Weight Distribution of Kraft lignin Before (black line) and After depolymerization (red line).

reductants, and high selectivity toward aromatic phenolic compounds, highlighting its potential for sustainable lignin valorization.

3.6. Limitations and future outlook

Although this study focused on acidic conditions (pH ~3), which are optimal for hydroxyl radical ($\bullet\text{OH}$) generation in Fenton-type systems, it is important to acknowledge that these conditions do not encompass the full range of possible operational settings for lignin depolymerization. Variables such as pH gradients, $\text{Fe}^{\text{II}}/\text{H}_2\text{O}_2$ ratios, the presence of interfering species, and different types of technical lignin were not explored in the present work.

Incorporating these parameters would allow for a more robust evaluation of the mechanism's generality and applicability under diverse and realistic conditions. Ongoing studies in our laboratory are addressing these variables and will be critical for broadening the

understanding of the system and optimizing its performance for environmental and biorefinery applications.

4. Conclusion

The oxidative valorization of lignin presents a compelling alternative to fossil-based resources for the sustainable production of functional aromatic compounds. This study explored a novel self-oxidative depolymerization approach based on a Fenton-like reaction conducted under mild conditions—ambient temperature, atmospheric pressure, and optimized concentrations of Fe^{II} and H_2O_2 . Through systematic experimental design and optimization, the process achieved a substantial 49 % reduction in lignin's weight-average molecular weight (Mw). Structural and surface transformations were confirmed by FT-IR spectroscopy, SEM imaging, and contact angle measurements.

The key innovation of this work lies in the elucidation of a catalyst-free mechanism in which lignin itself performs a dual role: as a chelating agent forming stable complexes with Fe^{II} , and as a reducing agent facilitating its conversion to Fe^{II} . This self-sustained redox cycle eliminates the need for external reducing agents or auxiliary energy inputs such as light or ultrasound, which are typically required in modified Fenton systems. The process begins with the coordination of Fe^{II} by lignin's phenolic and carboxylic groups, followed by in situ reduction to Fe^{I} , which then reacts with hydrogen peroxide to generate hydroxyl radicals ($\bullet\text{OH}$).

These reactive species, as extensively reported in biological lignin degradation, selectively cleave ether linkages—particularly $\beta\text{-O-4}$ bonds—thereby disrupting the polymeric matrix of lignin. This depolymerization yields a suite of low-molecular-weight aromatic products, including aldehydes, ketones, and phenolic derivatives. The GC-MS analysis confirmed the formation of representative compounds such as syringaldehyde, propenylguaiaicol, and acetovanillone, with a total yield of 7–70 %. These chemical transformations, coupled with molecular weight reduction, serve as complementary indicators of effective lignin breakdown and valorization potential.

Overall, this work not only advances the fundamental understanding of lignin's intrinsic redox chemistry but also presents a scalable and environmentally benign platform for lignin valorization. The findings

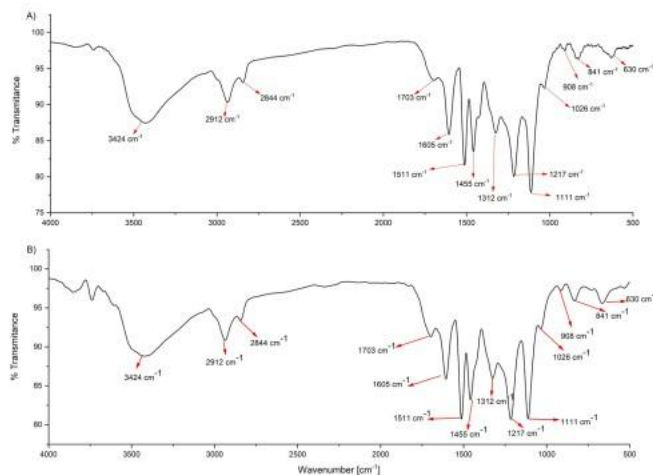


Fig. 7. FT-IR spectra of lignin before (A) and after (B) oxidative depolymerization.

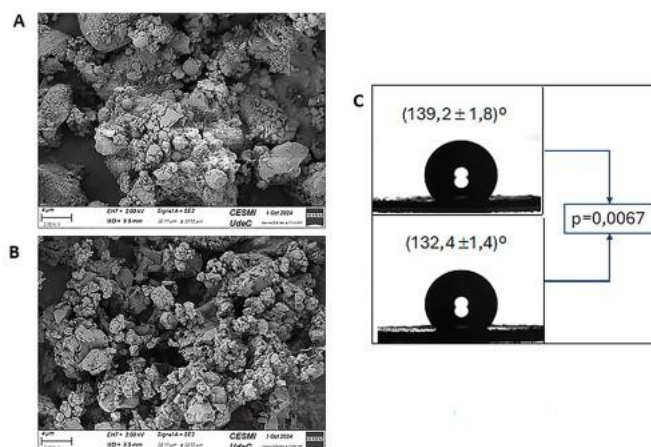


Fig. 8. Morphological and surface properties of lignin: (A) SEM of untreated lignin, (B) SEM of depolymerized lignin, and (C) contact angle measurement.].

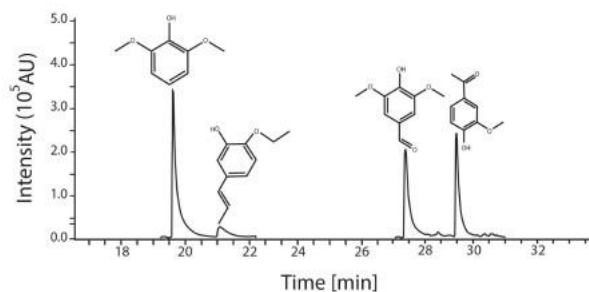


Fig. 9. GC-MS Chromatogram of aromatic compounds formed during lignin depolymerization.].

Table 2
Comparison of various depolymerization methods.

| Method | Reaction Conditions | Catalyst/ Additives | Selectivity | Yield (%) | Ref |
|-----------------|------------------------------------|---|-------------|-----------|------|
| Classic Fenton | 50–90 °C pH acidic, no light | FeSO ₄ , H ₂ O ₂ | Moderate | 10–30 | [37] |
| Sono-Fenton | 25–50 °C 450 W ultrasound power | FeSO ₄ , Ultrasound, H ₂ O ₂ | High | 15–35 | [38] |
| Metal catalyzed | 80–200 °C High Temp | Ru, Pd, Cu + oxidant | High | 20–50 | [39] |
| Biological | 25–37 °C Enzymatic | Laccases, peroxidases | Low | 1–10 | [40] |
| Thermal | 400–600 °C Harsh | — | Low | 10–25 | [41] |
| This work | 25 °C Mild, pH 3.00 | None (self-Fenton) | High | 7–70 | — |

underscore the potential of using lignin's own functional groups to drive selective oxidative depolymerization under mild, catalyst-free conditions. While this study focused on experimental and empirical evidence, further mechanistic insights—particularly regarding the radical

pathways involved—will be explored in future work. This ongoing investigation aims to deepen our understanding of lignin's reactivity and further optimize its conversion into high-value aromatic chemicals.

CRedit authorship contribution statement

Victoria Melín: Methodology, Investigation, Data curation. **Camila Méndez-Rivas:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Methodology, Investigation. **Eduardo Troncoso:** Methodology, Data curation. **Romina Romero:** Methodology, Data curation. **Montserrat Pérez-Moya:** Software, Methodology, Investigation, Data curation, Conceptualization. **Serguei Alejandro-Martín:** Methodology, Data curation. **David Contreras:** Writing – review & editing, Validation, Supervision, Software, Resources, Project administration, Methodology, Investigation, Funding acquisition, Formal analysis, Data curation, Conceptualization.

Declaration of Competing Interest

There are no conflicts to declare.

Acknowledgements

The authors thank the National Agency for Research and Development, FONDECYT 1252097, FONDAP SERC-CHILE 1523A0006, Fortalecimiento al Desarrollo Científico Tecnológico de Centros Regionales 2023 R23F0005, Fondecup EQM 170077, and ANID National Ph.D. Scholarship 21210203 for financially supporting this research

Appendix B. Supporting information

Supplementary data associated with this article can be found in the online version at [doi:10.1016/j.jece.2025.118812](https://doi.org/10.1016/j.jece.2025.118812).

Data availability

Data will be made available on request.

References

- [1] Janina Gysling Caselli and Daniel Soto Aguirre, *Industria Forestal primaria en Chile*, Santiago, 2016.
- [2] C. Chio, M. Sain, W. Qin, Lignin Utilization: A Review of Lignin Depolymerization from Various Aspects, Elsevier Ltd, 2019, <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.03.008>.
- [3] E.P. Feofilova, I.S. Myssyakina, Lignin: Chemical Structure, Biodegradation, and Practical Application (A Review), Maik Nauka Publishing/Springer SBM, 2016, <https://doi.org/10.1134/S0003683816060053>.
- [4] T. Vangeel, W. Schutyser, T. Renders, B.F. Sels, Perspective on Lignin Oxidation: Advances, Challenges, and Future Directions, Springer International Publishing, 2018, <https://doi.org/10.1007/978-94-007-018-0-207-2>.
- [5] C. Crestini, M. Crucianelli, M. Orlandi, R. Saladino, Oxidative strategies in lignin chemistry: a new environmental friendly approach for the functionalization of lignin and lignocellulosic fibers, *Catal. Today* 156 (1–2) (2010) 8–22, <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2010.03.057>.
- [6] C. Xu, F. Ferdosian, Degradation of Lignin by Depolymerization, 2017, pp. 35–54, https://doi.org/10.1007/978-3-662-54959-9_3.
- [7] C. Liu, S. Wu, H. Zhang, R. Xiao, Catalytic Oxidation of Lignin to Valuable Biomass-based Platform Chemicals: A Review, Elsevier B.V., 2019, <https://doi.org/10.1016/j.juproc.2019.04.007>.
- [8] V. Arantes, A.M.F. Milagres, T.R. Filley, B. Goodell, Lignocellulosic polysaccharides and lignin degradation by wood decay fungi: the relevance of nonenzymatic Fenton-based reactions, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 38 (4) (2011) 541–555, <https://doi.org/10.1007/s10295-010-0798-2>.
- [9] R. Andreozzi, V. Caprio, A. Imola, and R. Marotta, Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery, 1999.
- [10] V. Arantes, J. Jellison, and B. Goodell, Peculiarities of brown-rot fungi and biochemical Fenton reaction with regard to their potential as a model for bioprocessing biomass, 2012, <https://doi.org/10.1007/978-94-002-53-012-3954-y>.
- [11] A. Manassa, P. Seesuriyachan, Valorization of alkaline lignin and optimization of vanillin production by heterogeneous Fenton-type catalysts, *Biomass Convers. Biorefin.* 11 (3) (2021) 1029–1039, <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00902-y>.
- [12] Y. Zhang, M. Zhou, A critical review of the application of chelating agents to enable Fenton and Fenton-like reactions at high pH values, *J. Hazard. Mater.* 362 (2019) 436–450, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.09.035>.
- [13] V. Arantes, A.M.F. Milagres, The effect of a catechol chelator as a redox agent in Fenton-based reactions on degradation of lignin-model substrates and on COD removal from effluent of an ECF kraft pulp mill, *J. Hazard. Mater.* 141 (1) (2007) 273–279, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.06.134>.
- [14] S. Zhou, Y. Xue, A. Sharma, X. Bai, Lignin valorization through thermochemical conversion: comparison of hardwood, softwood and herbaceous lignin, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 4 (12) (2016) 6608–6617, <https://doi.org/10.1021/acscuschemeng.6b01488>.
- [15] O. Ringena, S. Lebiada, R. Lehnen, B. Saake, Size-exclusion chromatography of technical lignins in dimethyl sulfoxide/water and dimethylacetamide, *J. Chromatogr. A* 1102 (1–2) (2006) 154–163, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.10.037>.
- [16] P. Andreo-Martínez, V.M. Ortiz-Martínez, N. García-Martínez, F.J. Hernández-Fernández, A.P. de los Ríos, J. Quesada-Medina, A simple fractionation method and GPC analysis of organosolv extracts obtained from lignocellulosic materials, *Biomass Convers. Biorefin.* 11 (5) (2021) 1807–1821, <https://doi.org/10.1007/s13399-019-00593-0>.
- [17] R.J. Sammons, D.P. Harper, N. Labbé, J.J. Bozell, T. Elder, T.G. Riels, Characterization of organosolv lignins using thermal and FT-IR spectroscopic analysis, *Bioresources* 8 (2) (2013) 2752–2767, <https://doi.org/10.15376/biores.8.2.2752-2767>.
- [18] B. Puentes, F. Vallejo, S. Alejandro-Martín, Synergistic effects and mechanistic insights into the Co-Hydrolysis of Chilean oak and polyethylene: unlocking the potential of Biomass-Plastic valorisation, *Polymers* 15 (12) (2023), <https://doi.org/10.3390/polym15122747>.
- [19] F.S. Chakar, A.J. Ragauskas, Review of current and future softwood kraft lignin process chemistry, *Ind. Crops Prod.* (2004) 131–141, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2004.04.016>.
- [20] R.C. Sun, Lignin Source and Structural Characterization, 2020, NLM (Medline), <https://doi.org/10.1002/cssc.202001324>.
- [21] T.L.K. Yang, Y. Matsumura, Reaction kinetics of the lignin conversion in supercritical water, *Ind. Eng. Chem. Res.* 51 (37) (2012) 11975–11988, <https://doi.org/10.1021/ie300921d>.
- [22] G. Jiang, D.J. Nowakowski, A.V. Bridgwater, A systematic study of the kinetics of lignin pyrolysis, *Thermochim. Acta* 498 (1–2) (2010) 61–66, <https://doi.org/10.1016/j.tca.2009.10.003>.
- [23] V. Melin, et al., Reduction reactivity of catecholamines and their ability to promote a Fenton reaction, *Inorg. Chim. Acta* 453 (2016) 1–7, <https://doi.org/10.1016/j.ica.2016.07.044>.
- [24] V. Arantes, J. Jellison, B. Goodell, Peculiarities of Brown-rot Fungi and Biochemical Fenton Reaction with Regard to Their Potential as a Model for Bioprocessing Biomass, 2012, pp. 323–338, <https://doi.org/10.1007/978-94-002-53-012-3954-y>.
- [25] B. Goodell, G. Daniel, J. Jellison, Y. Qian, Iron-reducing capacity of low-molecular-weight compounds produced in wood by fungi, *Holzforchung* 60 (6) (2006) 630–636, <https://doi.org/10.1515/HF.2006.106>.
- [26] A.S. Mandalika, T.M. Runge, Iron complexation by biomass model compounds, *Environ. Sci. Adv.* 3 (11) (2024) 1616–1627, <https://doi.org/10.1039/d3va00383c>.
- [27] E. Guillon, P. Merdy, M. Aplincourt, J. Dumouneau, H. Vezin, Structural characterization and iron(III) binding ability of dimeric and polymeric lignin models, *J. Colloid Interface Sci.* 239 (1) (2001) 39–48, <https://doi.org/10.1006/jcis.2001.7535>.
- [28] Y. Tamaru, M. Yoshida, L.D. Eltis, B. Goodell, International journal of biological macromolecules multiple iron reduction by methoxylated phenolic lignin structures and the generation of reactive oxygen species by lignocellulose surfaces, *Int J. Biol. Macromol.* 128 (2019) 340–346, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.149>.
- [29] J. Rodríguez-Mirasol, T. Cordero, and J.J. Rodríguez, Preparation and Characterization of Activated Carbons from Eucalyptus Kraft-Lignin, 1993.
- [30] M.J. Suota, et al., Chemical and structural characterization of hardwood and softwood LignoForce™ lignins, *Ind. Crops Prod.* 173 (2021), <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114138>.
- [31] W. He, W. Gao, P. Fatchi, Oxidation of kraft lignin with hydrogen peroxide and its application as a dispersant for kaolin suspensions, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 5 (11) (2017) 10597–10605, <https://doi.org/10.1021/acscuschemeng.7b02582>.
- [32] M. Davaritouchae, W.C. Hiscoc, E. Terrell, R.J. Mancini, S. Chen, Mechanistic studies of milled and kraft lignin oxidation by radical species, *Green Chem.* 22 (4) (2020) 1182–1197, <https://doi.org/10.1039/c9gc04162a>.
- [33] T.V. Lourençon, F.A. Hansel, T.A. Da Silva, L.P. Ramos, G.L.B. De Muniz, W.L. E. Magalhães, Hardwood and softwood kraft lignins fractionation by simple sequential acid precipitation, *Sep. Purif. Technol.* 154 (2015) 82–88, <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.09.015>.
- [34] L. Passauer, K. Fischer, F. Liebner, Activation of pine kraft lignin by Fenton-type oxidation for cross-linking with oligo(oxyethylene) diglycidyl ether, *Holzforchung* 65 (3) (2011) 319–326, <https://doi.org/10.1515/HF.2011.045>.
- [35] X. Lin, S. Sui, S. Tan, C.U. Pittman, J. Sun, Z. Zhang, Fast pyrolysis of four lignins from different isolation processes using Py-GC/MS, *Energies* 8 (6) (2015) 5107–5121, <https://doi.org/10.3390/en8065107>.
- [36] D. Robertson, P. Nousiainen, L. Pitkänen, I. Schlapp-Hackl, D. Rusakov, M. Hummel, Carbonisation of lignin in the presence of a eutectic salt mixture: identifying the lignin properties that govern the characteristics of the resulting carbon material, *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 183 (2024), <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2024.106811>.
- [37] L. Ramos, G. Maltempo-Mendes, A.F. Siqueira, D. Aparecida dos Santos Napoleão, A.K. Chandel, Kinetic analysis of kraft lignin conversion via the Fenton process: process optimization and stochastic modeling, *React. Chem. Eng.* (2024), <https://doi.org/10.1039/d4re00401a>.
- [38] P. Kumari, R. Vinu, Sono-Fenton-Assisted depolymerization of lignin to valuable phenolic compounds, *ACS Omega* (2025), <https://doi.org/10.1021/acsomega.5c00431>.

- [39] X. Yang, et al., Reductive depolymerization of lignin by bifunctional Ru-based catalysts supported on tungstated-zirconia, *Discov. Catal.* 2 (1) (2025) 8, <https://doi.org/10.1007/s44344-025-00012-9>.
- [40] D.L. Gall, et al., In vitro enzymatic depolymerization of lignin with release of syringyl, guaiacyl, and tricin units, *Appl. Environ. Microbiol.* 84 (3) (2018), <https://doi.org/10.1128/AEM.02076-17>.
- [41] A. Singh-Morgan, A. Puente-Urbina, J.A. van Bokhoven, *Technology Overview of Fast Pyrolysis of Lignin: Current State and Potential for Scale-Up*, John Wiley and Sons Inc, 2022, <https://doi.org/10.1002/cssc.202200343>.

CAPÍTULO 9. Referencias.

- [1] “Produccion_combustibles-junio-2024”.
- [2] C. Chio, M. Sain, and W. Qin, “Lignin utilization : A review of lignin depolymerization from various aspects,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 107, no. March, pp. 232–249, 2019, doi: 10.1016/j.rser.2019.03.008.
- [3] Z. Yuan, S. Cheng, M. Leitch, and C. C. Xu, “Hydrolytic degradation of alkaline lignin in hot-compressed water and ethanol,” *Bioresour. Technol.*, vol. 101, no. 23, pp. 9308–9313, Dec. 2010, doi: 10.1016/j.biortech.2010.06.140.
- [4] J. Reiter, H. Strittmatter, L. O. Wiemann, D. Schieder, and V. Sieber, “Enzymatic cleavage of lignin β -O-4 aryl ether bonds via net internal hydrogen transfer,” *Green Chemistry*, vol. 15, no. 5, pp. 1373–1381, 2013, doi: 10.1039/c3gc40295a.
- [5] E. P. Feofilova and I. S. Mysyakina, “Lignin : Chemical Structure , Biodegradation , and Practical Application (a Review),” vol. 52, no. 6, pp. 573–581, 2016, doi: 10.1134/S0003683816060053.
- [6] F. M. Casimiro, C. A. E. Costa, C. Vega-Aguilar, and A. E. Rodrigues, “Hardwood and softwood lignins from sulfite liquors: Structural characterization and valorization through depolymerization,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 215, pp. 272–279, Aug. 2022, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.06.067.
- [7] A. Lourenço and H. Pereira, “Compositional Variability of Lignin in Biomass,” in *Lignin - Trends and Applications*, InTech, 2018. doi: 10.5772/intechopen.71208.
- [8] O. Yu and K. H. Kim, “Lignin to materials: A focused review on recent novel lignin applications,” Jul. 01, 2020, *MDPI AG*. doi: 10.3390/app10134626.

- [9] N. Mahmood, Z. Yuan, J. Schmidt, and C. Xu, "Production of polyols via direct hydrolysis of kraft lignin: Effect of process parameters," *Bioresour. Technol.*, vol. 139, pp. 13–20, 2013, doi: 10.1016/j.biortech.2013.03.199.
- [10] K. Koljonen, M. € O. Osterberg, M. Kleen, A. Fuhrmann, and P. Stenius, "Precipitation of lignin and extractives on kraft pulp: effect on surface chemistry, surface morphology and paper strength," Kluwer Academic Publishers, 2004.
- [11] T. Vangeel, W. Schutyser, T. Renders, and B. F. Sels, "Perspective on Lignin Oxidation: Advances, Challenges, and Future Directions," Aug. 01, 2018, *Springer International Publishing*. doi: 10.1007/s41061-018-0207-2.
- [12] C. Crestini, M. Crucianelli, M. Orlandi, and R. Saladino, "Oxidative strategies in lignin chemistry: A new environmental friendly approach for the functionalisation of lignin and lignocellulosic fibers," *Catal. Today*, vol. 156, no. 1–2, pp. 8–22, Oct. 2010, doi: 10.1016/j.cattod.2010.03.057.
- [13] C. Xu and F. Ferdosian, "Degradation of Lignin by Depolymerization," 2017, pp. 35–54. doi: 10.1007/978-3-662-54959-9_3.
- [14] C. Liu, S. Wu, H. Zhang, and R. Xiao, "Catalytic oxidation of lignin to valuable biomass-based platform chemicals: A review," Aug. 01, 2019, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.fuproc.2019.04.007.
- [15] R. Andreozzi, V. Caprio, A. Insola, and R. Marotta, "Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery," 1999.
- [16] F. Haber and J. Weiss, "Über die Katalyse des Hydroperoxydes," *Naturwissenschaften*, vol. 20, no. 51, pp. 948–950, 1932, doi: 10.1007/BF01504715.

- [17] F. Haber and J. Weiss, "Über die Katalyse des Hydroperoxydes," *Naturwissenschaften*, vol. 20, no. 51, pp. 948–950, 1932, doi: 10.1007/BF01504715.
- [18] C. Walling and T. Weil, "The ferric ion catalyzed decomposition of hydrogen peroxide in perchloric acid solution," *Int. J. Chem. Kinet.*, vol. 6, no. 4, pp. 507–516, 1974, doi: 10.1002/kin.550060406.
- [19] R. M. Milburn and W. C. Vosburgh, "A spectrophotometric Study of the Hydrolysis of Iron (III) Ion. II. Polynuclear Species," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 77, no. 5, pp. 1352–1355, 1955, doi: 10.1021/ja01610a084.
- [20] P. Salgado, V. Melin, and D. Contreras, "The Reactivity and Reaction Pathway of Fenton Reactions Driven by Substituted 1,2-Dihydroxybenzenes," no. 1, 2017, doi: 10.1021/acs.est.6b05388.
- [21] V. Melin, "Determinación de la capacidad de las catecolaminas para amplificar la reacción de Fenton," 2014, doi: 10.13140/RG.2.2.28212.04485.
- [22] V. Arantes, J. Jellison, and B. Goodell, "Peculiarities of brown-rot fungi and biochemical Fenton reaction with regard to their potential as a model for bioprocessing biomass," pp. 323–338, 2012, doi: 10.1007/s00253-012-3954-y.
- [23] G. Xu and B. Goodell, "Mechanisms of wood degradation by brown-rot fungi: Chelator-mediated cellulose degradation and binding of iron by cellulose," *J. Biotechnol.*, vol. 87, no. 1, pp. 43–57, 2001, doi: 10.1016/S0168-1656(00)00430-2.
- [24] B. Goodell, G. Daniel, J. Jellison, and Y. Qian, "Iron-reducing capacity of low-molecular-weight compounds produced in wood by fungi," *Holzforschung*, vol. 60, no. 6, pp. 630–636, 2006, doi: 10.1515/HF.2006.106.

- [25] Y. Tamaru, M. Yoshida, L. D. Eltis, and B. Goodell, "International Journal of Biological Macromolecules Multiple iron reduction by methoxylated phenolic lignin structures and the generation of reactive oxygen species by lignocellulose surfaces," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 128, pp. 340–346, 2019, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.01.149.
- [26] C. Ma, J. Zhang, Y. Yin, C. Suo, and S. Liu, "Free radical theory in lignin oxidation depolymerization," May 01, 2024, *Cell Press*. doi: 10.1016/j.trechm.2024.03.006.
- [27] M. M. Roessler and E. Salvadori, "Principles and applications of EPR spectroscopy in the chemical sciences," Apr. 21, 2018, *Royal Society of Chemistry*. doi: 10.1039/c6cs00565a.
- [28] E. Brillas, I. Sirés, and M. A. Oturan, "Electro-fenton process and related electrochemical technologies based on fenton's reaction chemistry," *Chem. Rev.*, vol. 109, no. 12, pp. 6570–6631, 2009, doi: 10.1021/cr900136g.
- [29] W. a Pryor, "OXY-RADICALS AND RELATED and Reactions," *Annu. Rev. Physiol.*, vol. 48, pp. 657–667, 1986.
- [30] T. Ijbiomac, "Submission Files Included in this PDF".
- [31] P. Soni, S. K. Sar, A. Kamavisdar, and R. Patel, "Simple and sensitive spectrophotometric method for determination of tricyclic antidepressant imipramine using Fe(III)-SCN-complex," *Journal of Analytical Chemistry*, vol. 66, no. 6, pp. 596–599, 2011, doi: 10.1134/S1061934811060153.
- [32] L. L. Stookey, "Stookey1970," vol. 42, no. 7, pp. 779–781, 1970.
- [33] A. Manassa and P. Seesuriyachan, "Valorization of alkaline lignin and optimization of vanillin production by heterogeneous Fenton-type catalysts," *Biomass Convers. Biorefin.*, vol. 11, no. 3, pp. 1029–1039, Jun. 2021, doi: 10.1007/s13399-020-00902-y.

- [34] S. Zhou, Y. Xue, A. Sharma, and X. Bai, "Lignin Valorization through Thermochemical Conversion: Comparison of Hardwood, Softwood and Herbaceous Lignin," *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 4, no. 12, pp. 6608–6617, Dec. 2016, doi: 10.1021/acssuschemeng.6b01488.
- [35] O. Ringena, S. Lebioda, R. Lehnen, and B. Saake, "Size-exclusion chromatography of technical lignins in dimethyl sulfoxide/water and dimethylacetamide," *J. Chromatogr. A*, vol. 1102, no. 1–2, pp. 154–163, Jan. 2006, doi: 10.1016/j.chroma.2005.10.037.
- [36] P. Andreo-Martínez, V. M. Ortiz-Martínez, N. García-Martínez, F. J. Hernández-Fernández, A. P. de los Ríos, and J. Quesada-Medina, "A simple fractionation method and GPC analysis of organosolv extracts obtained from lignocellulosic materials," *Biomass Convers. Biorefin.*, vol. 11, no. 5, pp. 1807–1821, Oct. 2021, doi: 10.1007/s13399-019-00593-0.
- [37] "CALIBRATION OF GPC SYSTEMS 1 4X 0 HE A V Y-BO D1 1 D A L K V D-* LIGHT-BODIED A L K Y D TIME (m i n)."
- [38] R. J. Sammons, D. P. Harper, N. Labbé, J. J. Bozell, T. Elder, and T. G. Rials, "Characterization of organosolv lignins using thermal and FT-IR spectroscopic analysis," *Bioresources*, vol. 8, no. 2, pp. 2752–2767, 2013, doi: 10.15376/biores.8.2.2752-2767.
- [39] X. Meng *et al.*, "Determination of hydroxyl groups in biorefinery resources via quantitative ³¹P NMR spectroscopy," *Nat. Protoc.*, vol. 14, no. 9, pp. 2627–2647, Sep. 2019, doi: 10.1038/s41596-019-0191-1.
- [40] M. Norambuena *et al.*, "Optimization of Experimental Variables to Modify Lignin from Eucalyptus Globulus Under Alkaline Catalysis," *Bioresources*, vol. 11, no. 1, pp. 1828–1842, Feb. 2016, doi: 10.15376/BIORES.11.1.1828-1842.
- [41] B. Puentes, F. Vallejo, and S. Alejandro-Martín, "Synergistic Effects and Mechanistic Insights into the Co-Hydropyrolysis of Chilean Oak and Polyethylene: Unlocking the Potential of

- Biomass–Plastic Valorisation,” *Polymers (Basel)*., vol. 15, no. 12, Jun. 2023, doi: 10.3390/polym15122747.
- [42] S. V. Patil and D. S. Argyropoulos, “Stable Organic Radicals in Lignin: A Review,” Sep. 11, 2017, *Wiley-VCH Verlag*. doi: 10.1002/cssc.201700869.
- [43] V. Melin, A. Henríquez, J. Freer, and D. Contreras, “Reactivity of catecholamine-driven Fenton reaction and its relationships with iron (III) speciation,” vol. 20, no. 2, pp. 89–96, 2015.
- [44] R. Romero, D. Contreras, C. Segura, B. Schwederski, and W. Kaim, “Hydroxyl radical production by a heterogeneous Fenton reaction supported in insoluble tannin from bark of *Pinus radiata*,” *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 24, no. 7, pp. 6135–6142, 2017, doi: 10.1007/s11356-016-7532-1.
- [45] P. Salgado, V. Melin, D. Contreras, Y. Moreno, and H. D. Mansilla, “Fenton reaction driven by iron ligands,” *Journal of the Chilean Chemical Society*, vol. 58, no. 4, pp. 2096–2101, 2013, doi: 10.4067/S0717-97072013000400043.
- [46] T. Q. Yuan, S. N. Sun, F. Xu, and R. C. Sun, “Characterization of lignin structures and lignin-carbohydrate complex (LCC) linkages by quantitative ¹³C and 2D HSQC NMR spectroscopy,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 59, no. 19, pp. 10604–10614, Oct. 2011, doi: 10.1021/jf2031549.
- [47] H. Sotome-Yukisada *et al.*, “Quantitative Characterization of Modified Lignin Using Solid-State ¹³C NMR Spectroscopy,” *Anal. Chem.*, vol. 97, no. 17, pp. 9512–9517, May 2025, doi: 10.1021/acs.analchem.5c01084.
- [48] E. I. Evstigneyev, A. S. Mazur, A. V. Kalugina, A. V. Pranovich, and A. V. Vasilyev, “Solid-State ¹³C CP/MAS NMR for Alkyl-O-Aryl Bond Determination in Lignin Preparations,”

Journal of Wood Chemistry and Technology, vol. 38, no. 2, pp. 137–148, Mar. 2018, doi: 10.1080/02773813.2017.1393436.

- [49] P. Merdy, E. Guillon, and M. Aplincourt, “Iron and manganese surface complex formation with extracted lignin. Part 1: Adsorption isotherm experiments and EPR spectroscopy analysis,” *New Journal of Chemistry*, vol. 26, no. 11, pp. 1638–1645, 2002, doi: 10.1039/b206352b.
- [50] P. Merdy, E. Guillon, M. Aplincourt, and J. Duomonceau, “Interaction of metallic cations with lignins. Part 1: Stability of iron (III), manganese (II) and copper (II) complexes with phenolic lignin model compounds: coumaric, ferulic and sinapic acids and coniferyl alcohol,” *Journal of Chemical Research - Part S*, no. 2, pp. 76–77, 2000, doi: 10.3184/030823400103166427.
- [51] A. Solano-Peralta *et al.*, “Magnetic and high-frequency EPR studies of an octahedral Fe(III) compound with unusual zero-field splitting parameters,” *Dalton Transactions*, no. 9, pp. 1668–1674, 2009, doi: 10.1039/b814225d.
- [52] G. Mathies *et al.*, “High-frequency EPR study of the high-spin FeII complex Fe[(SPPH₂)₂N]₂,” *Journal of Magnetic Resonance*, vol. 224, pp. 94–100, Nov. 2012, doi: 10.1016/j.jmr.2012.09.005.
- [53] H. Sotome-Yukisada *et al.*, “Quantitative Characterization of Modified Lignin Using Solid-State ¹³C NMR Spectroscopy,” *Anal. Chem.*, vol. 97, no. 17, pp. 9512–9517, May 2025, doi: 10.1021/acs.analchem.5c01084.
- [54] T. L. K. Yong and Y. Matsumura, “Reaction kinetics of the lignin conversion in supercritical water,” *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 51, no. 37, pp. 11975–11988, Sep. 2012, doi: 10.1021/ie300921d.

- [55] G. Jiang, D. J. Nowakowski, and A. V. Bridgwater, "A systematic study of the kinetics of lignin pyrolysis," *Thermochim. Acta*, vol. 498, no. 1–2, pp. 61–66, Jan. 2010, doi: 10.1016/j.tca.2009.10.003.
- [56] "Safou-Tchiama et al," 2017. [Online]. Available: <http://www.jmaterenvironsci.com/>
- [57] A. Tejado, C. Peña, J. Labidi, J. M. Echeverria, and I. Mondragon, "Physico-chemical characterization of lignins from different sources for use in phenol-formaldehyde resin synthesis," *Bioresour. Technol.*, vol. 98, no. 8, pp. 1655–1663, May 2007, doi: 10.1016/j.biortech.2006.05.042.
- [58] S. Sathawong, W. Sridach, and K. A. Techato, "Lignin: Isolation and preparing the lignin based hydrogel," *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 6, no. 5, pp. 5879–5888, Oct. 2018, doi: 10.1016/j.jece.2018.05.008.
- [59] G. C. DSouza, C. Chio, M. B. Ray, A. Prakash, W. Qin, and C. Xu, "Synthesis and characterization of biodegradable Kraft lignin-based hydrophilic phenol formaldehyde foams," *Sustainable Materials and Technologies*, vol. 41, Sep. 2024, doi: 10.1016/j.susmat.2024.e01064.
- [60] O. Faix, "Supplement Classification of Lignins from Different Botanical Origins by FT-IR Spectroscopy," 1991.
- [61] W. He, W. Gao, and P. Fatehi, "Oxidation of Kraft Lignin with Hydrogen Peroxide and its Application as a Dispersant for Kaolin Suspensions," *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 5, no. 11, pp. 10597–10605, Nov. 2017, doi: 10.1021/acssuschemeng.7b02582.
- [62] M. Davaritouchaee, W. C. Hiscox, E. Terrell, R. J. Mancini, and S. Chen, "Mechanistic studies of milled and Kraft lignin oxidation by radical species," *Green Chemistry*, vol. 22, no. 4, pp. 1182–1197, Feb. 2020, doi: 10.1039/c9gc04162a.

- [63] T. V. Lourençon, F. A. Hansel, T. A. Da Silva, L. P. Ramos, G. I. B. De Muniz, and W. L. E. Magalhães, “Hardwood and softwood kraft lignins fractionation by simple sequential acid precipitation,” *Sep. Purif. Technol.*, vol. 154, pp. 82–88, Nov. 2015, doi: 10.1016/j.seppur.2015.09.015.
- [64] L. Ramos, G. Maltempi-Mendes, A. F. Siqueira, D. Aparecida dos Santos Napoleão, and A. K. Chandel, “Kinetic analysis of kraft lignin conversion via the Fenton process: process optimization and stochastic modelling,” *React. Chem. Eng.*, Oct. 2024, doi: 10.1039/d4re00401a.
- [65] P. Kumari and R. Vinu, “Sono-Fenton-Assisted Depolymerization of Lignin to Valuable Phenolic Compounds,” *ACS Omega*, Jun. 2025, doi: 10.1021/acsomega.5c00431.
- [66] X. Yang *et al.*, “Reductive depolymerization of lignin by bifunctional Ru-based catalysts supported on tungstated-zirconia,” *Discover Catalysis*, vol. 2, no. 1, p. 8, May 2025, doi: 10.1007/s44344-025-00012-9.
- [67] D. L. Gall *et al.*, “In vitro enzymatic depolymerization of lignin with release of syringyl, guaiacyl, and tricin units,” *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 84, no. 3, Feb. 2018, doi: 10.1128/AEM.02076-17.
- [68] A. Singh-Morgan, A. Puente-Urbina, and J. A. van Bokhoven, “Technology Overview of Fast Pyrolysis of Lignin: Current State and Potential for Scale-Up,” Jul. 21, 2022, *John Wiley and Sons Inc.* doi: 10.1002/cssc.202200343.
- [69] ISSI, “Calibration Systems - ISSI”.
- [70] R. Romero, D. Contreras, C. Segura, B. Schwederski, and W. Kaim, “Hydroxyl radical production by a heterogeneous Fenton reaction supported in insoluble tannin from bark of

Pinus radiata,” *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 24, no. 7, pp. 6135–6142, 2017, doi: 10.1007/s11356-016-7532-1.

CAPÍTULO 10. Anexos.

I. Formación del complejo Lignina-Fe(III)

1. A continuación, se muestran los espectros EPR correspondientes a la cinética de la formación del complejo lignina-Fe(III)., durante 2 hrs.

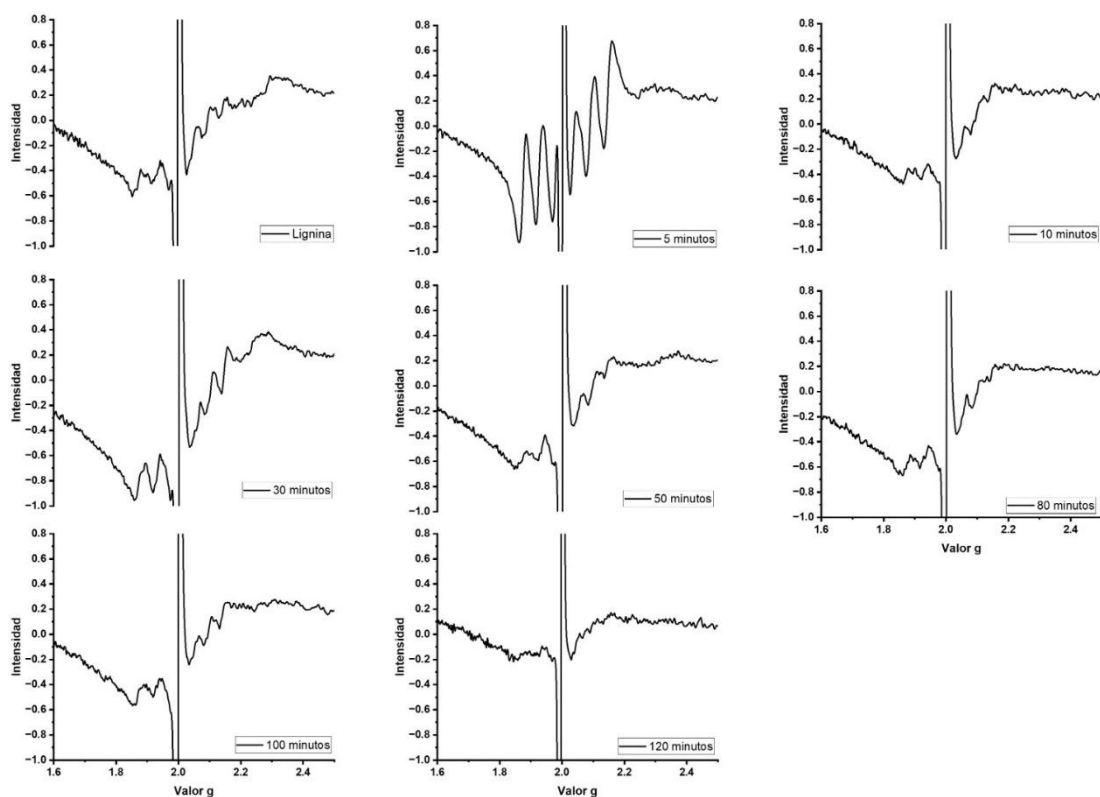


Figura A 1: Espectros EPR correspondientes a la cinética de la formación del complejo de Lignina-Fe(III)

Tabla A 1: Variación de la separación hiperfina de las 6 señales del espectro Fe(III)-LIG

| <i>Tiempo (min)</i> | <i>Distancia señal 1-2</i> | <i>Distancia señal 2-3</i> | <i>Distancia señal 3-4</i> | <i>Distancia señal 4-5</i> | <i>Distancia señal 5-6</i> |
|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 5 | 92 | 90 | 113 | 81 | 102 |
| 10 | 74 | 81 | NH | NH | 107 |
| 30 | 75 | 72 | NH | NH | 100 |
| 50 | 71 | 79 | 146 | 62 | 107 |
| 80 | 70 | 86 | NH | NH | 105 |
| 100 | 72 | 79 | NH | NH | 107 |
| 120 | 71 | 74 | NH | NH | 99 |

**NH: no se observa la señal*

2. Se muestran a continuación las respectivas curvas de calibración para la quelación y reducción de Fe(III), con las cuales se cuantifico el Fe(III) y el Fe(II), respectivamente

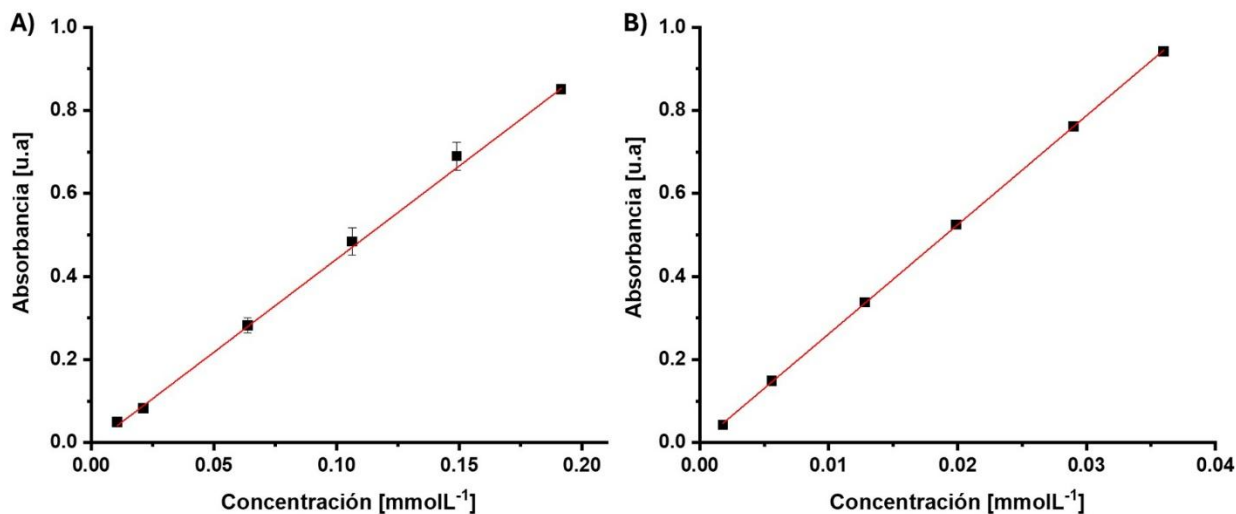


Figura A2:A) Curva de calibración para $[Fe(SCN)]^{2+}$ con $y = 4.45x - 0.0065$ como ecuación de la recta y B) Curva de calibración para Fe^{2+} -Ferozina con $y = 26.26x - 6.84$ como ecuación de la recta, ambos con un $R^2 = 0.999$.

II. Diseño experiemetal

1. Resultados implementación y validación de metodología GPC

Se implemento y valido la metodología de GPC para las mediciones del Mw, Mn y la dispersidad de la lignina Kraft usando un equipo Waters el cual se echó a andar desde cero. Los resultados se presentan a continuación:

Esta información resulta crucial para establecer las condiciones óptimas de Fe^{3+} y de H_2O_2 , con el objetivo de alcanzar un mínimo en Mw. La validación del método GPC no solo garantiza la fiabilidad de los resultados, sino que también asegura que las condiciones experimentales sean óptimas para obtener datos significativos y relevantes en el estudio de las interacciones entre el Sistema Tipo Fenton y la lignina.

A continuación, se describen los parámetros analíticos que fueron validados para este método cromatográfico.

Curva de calibración y linealidad: Para la evaluación de estos parámetros analíticos se realizó una curva de calibración de estándares de poliestireno por triplicado, cuyo rango de masas se encontraba entre $78 - 600000 \text{ g mol}^{-1}$. Se usaron estándares de poliestireno debido a que este es el método más usado en estos casos [70].

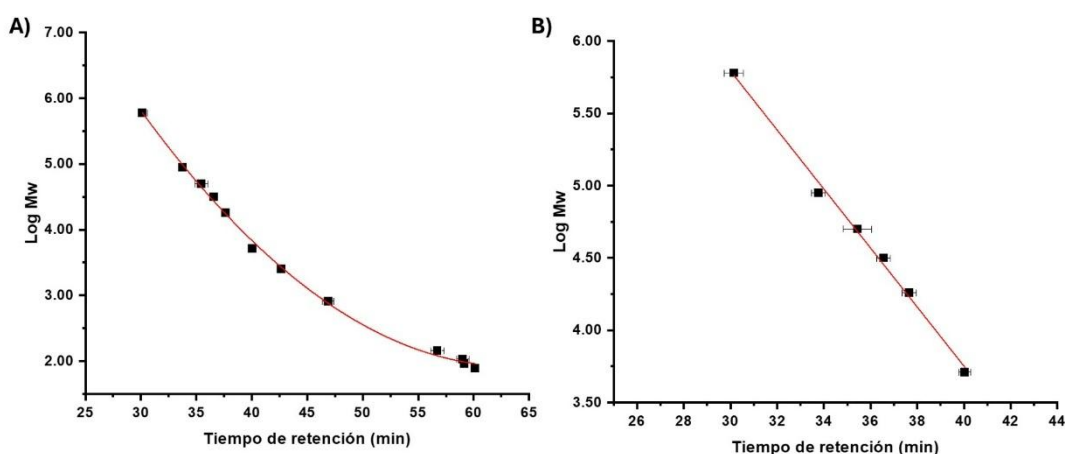


Figura A3: A) curva de calibración polinómica de grado 2, para un rango de estándares de poliestireno de $78 - 600000 \text{ g mol}^{-1}$, con un $R^2 = 0,9976$ y una ecuación de la recta de $0,00346x^2 - 0,4398x + 15,891$. B) rango lineal de la curva de calibración, con un $R^2 = 0,994$

En la curva de calibración observamos en el eje “y” el log de la masa molecular y en el eje “x” el tiempo de retención correspondiente a cada estándar de poliestireno. Se observa de la Figura A2 que la recta se ajusta a un polinomio de grado 2, observando una mayor dispersión en los puntos más bajos, correspondiente a estándares con masa molecular más pequeñas, por lo que al sacar estos puntos se observa un rango lineal (Figura 6 B)), sin embargo, teniendo en cuenta el tamaño de la muestra de lignina y su tiempo de retención (el cual se verá más adelante) se decidirá trabajar con la curva polinómica pero solo de 5 puntos, la cual se muestra en la Figura A3

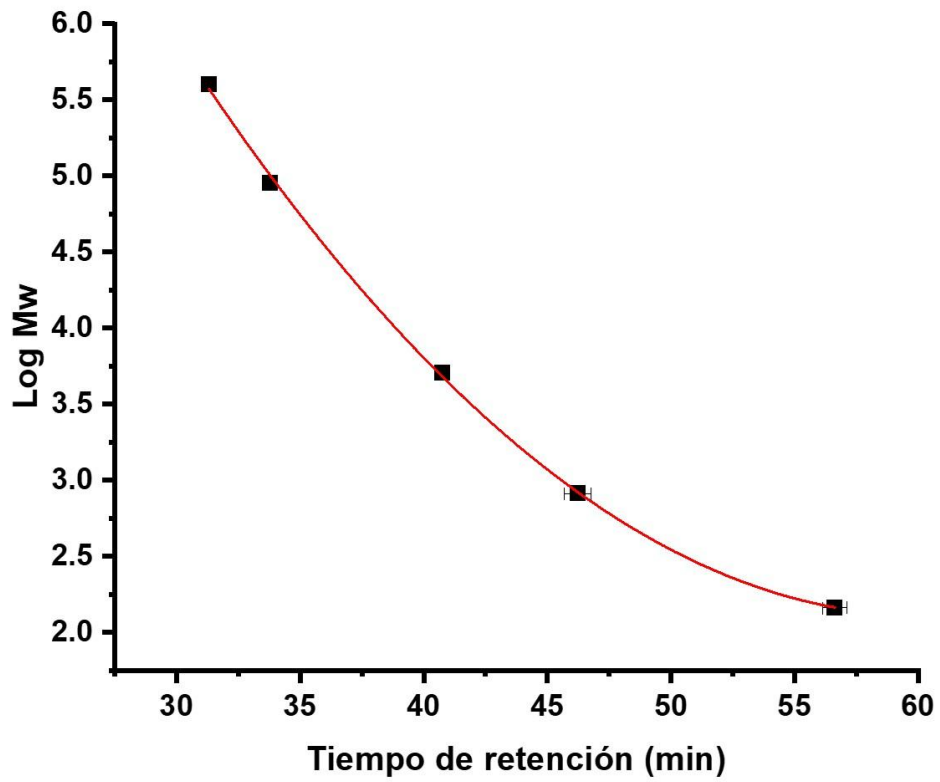


Figura A4: Curva de calibración para GPC acotada en 5 puntos, cuya ecuación de la recta es $0,00414x^2 - 0,498x + 17.122$ con un $R^2 = 0,998$

Bias y precisión: Para la evaluación del Bias (exactitud) de este método se procedió a medir un estándar de la curva de calibrado y comparar su valor con el valor certificado, para ello se midió 15 veces el estándar cuyo valor certificado es de 5100 gmoL⁻¹, y se determinó el Bias:

Tabla A2: Resultados de Mw para evaluar Bias y precisión.

| N° de muestra | Mw [gmoL ⁻¹] | N° de muestra | Mw [gmoL ⁻¹] | N° de muestra | Mw [gmoL ⁻¹] |
|---------------|--------------------------|---------------------------------------|--------------------------|---|--------------------------|
| 1 | 5061 | 6 | 4807 | 11 | 4708 |
| 2 | 4781 | 7 | 6942 | 12 | 6102 |
| 3 | 4781 | 8 | 5656 | 13 | 5546 |
| 4 | 5503 | 9 | 6581 | 14 | 4716 |
| 5 | 5587 | 10 | 5458 | 15 | 5943 |
| Valor μ_0 | 5100 gmoL ⁻¹ | Promedio [X]: 5478 gmoL ⁻¹ | | Desviación estándar: 696 gmoL ⁻¹ | |
| | Bias (%) = 7,4 % | $T_{cal} = 0,14$ | | $t_{crit}(\alpha=0,05) = 2,14$ | |

Para un $H_0: x=5100$ y $H_1: x \neq 5100$, tenemos que el valor de t calculado es menor que el valor crítico registrado en la tabla student para n-1, $\alpha=0,05$ y de 2 colas, por lo que se acepta la hipótesis nula, la cual afirma que el valor de x es igual al valor de μ_0 , también podemos observar que el valor del Bias es de 7,4% lo que indica que el método tiende a desviarse un 7,4% en promedio al valor verdadero. Sin embargo, el sesgo por si solo no garantiza la precisión del método analítico, puesto que la precisión se refiere a la capacidad del método para proporcionar resultados consistentes y cercanos entre si cuando se analiza la misma muestra repetidamente. Es por lo que a continuación se presentan los resultados para precisión, evaluando el resultado de tres puntos de la curva de calibración (uno bajo, uno central y uno alto):

Tabla A3: Resultados de Precisión para datos de curva de calibrado.

| | Estándar de 146 gmoL ⁻¹ | Estándar de 5100 gmoL ⁻¹ | Estándar de 400000 gmoL ⁻¹ |
|--|------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|
| <i>Mw</i> <i>Experimental</i> <i>gmoL⁻¹</i> | 152 | 5061 | 443378 |
| | 167 | 4781 | 389746 |
| | 164 | 5503 | 437849 |
| | 159 | 4989 | 398458 |
| | 163 | 5587 | 410635 |
| | 154 | 4903 | 478934 |
| | 158 | 5398 | 378946 |
| | 162 | 4975 | 407483 |
| | 147 | 5253 | 395726 |
| | 148 | 5487 | 456829 |
| Promedio Mw | 157 | 5193 | 419798 |
| Desviación | 7 | 301 | 33494 |

Podemos observar de la tabla anterior que la dispersión más grande se encuentra a valores bajos de la curva de calibración. Los valores de desviación estándar nos indican la dispersiones o variabilidad de los resultados frente al promedio, esta medida es fundamental para comprender la consistencia y la distribución de los datos, por lo que consideramos que el método es preciso dentro de los límites de concentraciones establecidas.

Robustez: Este parámetro se evaluó mediante el test de Youden-Steinen, usando para ello un estándar con Mw de 25000 gmoL⁻¹, evaluando la Temperatura del horno, el analista y el volumen de inyección como variables propensas a cambios. Todas las demás variables se mantuvieron igual (flujo, fase móvil, Columnas) debido al método cromatográfico usado, a continuación, se muestra la tabla con los resultados de Mw:

Tabla A4: Test de Youden-Steinen.

| | A | B | C | D | E | F | G | H |
|---------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Temperatura (°C) | 40 | 40 | 40 | 40 | 35 | 35 | 35 | 35 |
| Volumen de inyección (µL) | 100 | 100 | 50 | 50 | 100 | 100 | 50 | 50 |
| Analista | B | A | B | A | B | A | B | A |
| Tiempo de retención (min) | 36,833 | 36,587 | 37,222 | 37,228 | 37,311 | 37,289 | 37,307 | 37,142 |
| log Mw | 4,41 | 4,46 | 4,33 | 4,33 | 4,31 | 4,32 | 4,32 | 4,35 |
| Mw (gmoL ⁻¹) | 25778 | 28953 | 21508 | 21448 | 20644 | 20854 | 20682 | 22318 |
| Desviación Estándar | 4570 | | | | | | | |

| | Temperatura °C | Volumen de inyección (µL) | Analista |
|------------------|-------------------|------------------------------|-------------|
| Valor alto (X) | 24422 | 24057 | 23393 |
| Valor bajo (x) | 21125 | 21489 | 22153 |
| Diferencia (X-x) | 3297 | 2568 | 1241 |
| $\sqrt{2 * DS}$ | 6463 | | |

Este test nos permite observar que los cambios en los parámetros experimentales no producen diferencias significativas en los resultados analíticos. Los resultados de la tabla 5 muestran que al ser la diferencia entre los valores altos y bajos de cada variable menor al criterio de aceptación ($\sqrt{2 * DS}$), el método se considera robusto en relación con los cambios observados durante este análisis.

Basándonos en los resultados observados, podemos concluir que el método analítico en cuestión demuestra ser exacto, preciso y robusto. Nuestro análisis revela una coincidencia cercana entre los valores medidos y los valores verdaderos o aceptados, lo que respalda la exactitud del método. Además, la precisión del método se evidencia por la consistencia y la reproducibilidad de los resultados obtenidos en múltiples pruebas. Finalmente, la robustez del método se confirma al

comprobar que las variaciones en los parámetros experimentales no afectan significativamente la fiabilidad y la integridad de los resultados analíticos. Estos resultados respaldan la confianza en la idoneidad y la eficacia del método analítico para su aplicación en el contexto deseado.

Con respecto a la linealidad, esta se ve limitada en un rango específico de concentraciones, sin embargo, debido a los valores de concentración de la muestra a medir se decide usar una curva polinómica de grado 2.

2. Ensayos preliminares de despolimerización.

A continuación, se describe todos los ensayos realizados hasta llegar al diseño óptimo con lignina Kraft de Eucalipto. Inicialmente se estaba trabajando con lignina Kraft de Pino.

Lignina Kraft de PINO → Se trataron 1000mg/L de lignina Kraft, probando diferentes concentraciones de Fe^{3+} y de H_2O_2 , buscando las concentraciones óptimas para la disminución de la masa molar de la lignina, mediante la determinación de su Mw por GPC. Se realizaron varias metodologías, buscando la mejor para la optimización de las condiciones de reacción y la obtención de un valor mínimo de Mw, a continuación, se describen:

- a) Se inicio con concentraciones de $0,15\text{mmolL}^{-1}$ de Fe^{3+} y $1,5\text{mmolL}^{-1}$ de H_2O_2 a pH 3,0 teniendo en cuenta lo descrito por Romero et al (2017)[71] lo cual fue para taninos. Se usaron reactores de 50mL, se dejó impregnar la lignina con Fe^{3+} por 24 hrs y luego se añadió la alícuota de H_2O_2 dejando reaccionar el sistema por 1 hr. Se filtro la solución con papel filtro cualitativo n°2 en embudo Buchner, se secó el sólido a 40° por 24 hrs. Luego se pesó 20mg y se derivatizó como se describe en el punto 5.1.1
- b) Se realizo un primer diseño experimental, evaluando un rango amplio de concentraciones de Fe^{3+} y de H_2O_2 y variando el tiempo entre 30 a 120 minutos.
- c) Se realizo un segundo diseño experimental, esta vez usando ultrasonido para mejorar la reproducibilidad de los resultados (el ultrasonido ayuda a dispersar mejor las partículas de

lignina en el sistema, haciéndolas más pequeñas para que los reactivos puedan interactuar de mejor manera). Las concentraciones variaron de 5-15 μ M para Fe³⁺, 1-10mM para H₂O₂, el tiempo de 15-45 minutos y también se decidió variar el pH de 2.00-4.00 para ver su efecto en la reacción.

- d) Teniendo en cuenta los resultados del diseño anterior ((c)), se decide realizar dos ensayos, aumentando las concentraciones anteriores 100 y 1000 veces, quedando 150, 1500 μ M para Fe³⁺ y 100, 1000mM para H₂O₂, por un tiempo constante de 60 minutos a pH 3.00.
- e) Se realizo un ensayo para observar si la adición gradual de H₂O₂ variaba en algo el resultado, para ello se procedió a dejar 100 mg de lignina más 0,3mM de Fe³⁺, reaccionando con 10mM de H₂O₂ introducidos gradualmente al sistema durante 48 hrs en un reactor de 200mL a pH 3.00.

Resultados

Como vimos en la metodología (Anexo2.se realizaron diferentes diseños experimentales buscando las condiciones óptimas en cuanto a concentración de Fe^{3+} , de H_2O_2 y tiempo de reacción, para obtener un valor mínimo de Masa promedio en peso (Mw) de la lignina Kraft. A continuación, se describen los resultados de estos ensayos preliminares y finales, tanto para la lignina kraft de Pino como para la lignina kraft de Eucalipto.

1. Lignina Kraft de Pino: Se describen a continuación todos los resultados en orden según la metodología punto 5.3.1.

Tabla A 5: Resultados metodología a) primeros ensayos preliminares en reactores de 50 mL, agua ajustada a pH 3,0 y un tiempo de reacción de 24 hrs.

| | Concentración Fe^{3+}/Fe^{2+} | de Concentración de H_2O_2 | Valor de Mw [gmoL ⁻¹] |
|--------------------|------------------------------------|------------------------------|--------------------------------------|
| <i>Control</i> | ---- | ---- | 6128 |
| <i>Fenton</i> | 0,15 mM | 1,5 mM | 6183 |
| <i>Tipo-Fenton</i> | 0,15 mM | 1,5 mM | 7351 |

De la tabla A4 podemos observar los valores de Mw de los primeros ensayos preliminares de la despolimerización de lignina kraft de Pino con reacción de Fenton y Tipo Fenton, en donde podemos concluir que no se observa cambios significativos en lo que respecta a la reacción de Fenton, pues el valor de Mw se mantiene respecto al valor de Mw de la muestra control. Por el contrario, el valor de Mw de la reacción de Tipo Fenton muestra un aumento respecto del valor de Mw del control, concluyendo una posible polimerización.

De esta metodología podemos destacar varios puntos clave; primero, el tiempo de reacción de 24 hrs es muy excesivo y requiere una optimización. Segundo, en el proceso de filtrado se pierde gran cantidad de muestra, lo que indica la necesidad de revisar y modificar este paso para evitar dichas

perdidas. Tercero, no se observaron cambios significativos en los valores de Mw en los experimentos en comparación con el control, lo que sugiere la importancia de explorar otras condiciones de concentración y tiempo de reacción para obtener resultados más prometedores.

a) Tabla A 6: Valores del diseño descrito en sección de metodología punto 5.3.1 a):

| $Fe^{3+}(mM)$ | $H_2O_2 (mM)$ | Tiempo de reacción (Min) | Mw ($gmoL^{-1}$) |
|---------------|---------------|-----------------------------|--------------------|
| 0,01 | 0,1 | 30 | 3756 |
| 1 | 0,1 | 30 | 4785 |
| 0,01 | 10 | 30 | 5756 |
| 1 | 10 | 30 | 5926 |
| 0,01 | 0,1 | 120 | 5101 |
| 1 | 0,1 | 120 | 3971 |
| 0,01 | 10 | 120 | 4736 |
| 1 | 10 | 120 | 4972 |
| 0,505 | 5,05 | 75 | 4761 |
| 0,505 | 5,05 | 75 | 4259 |
| 0,505 | 5,05 | 75 | 6189 |

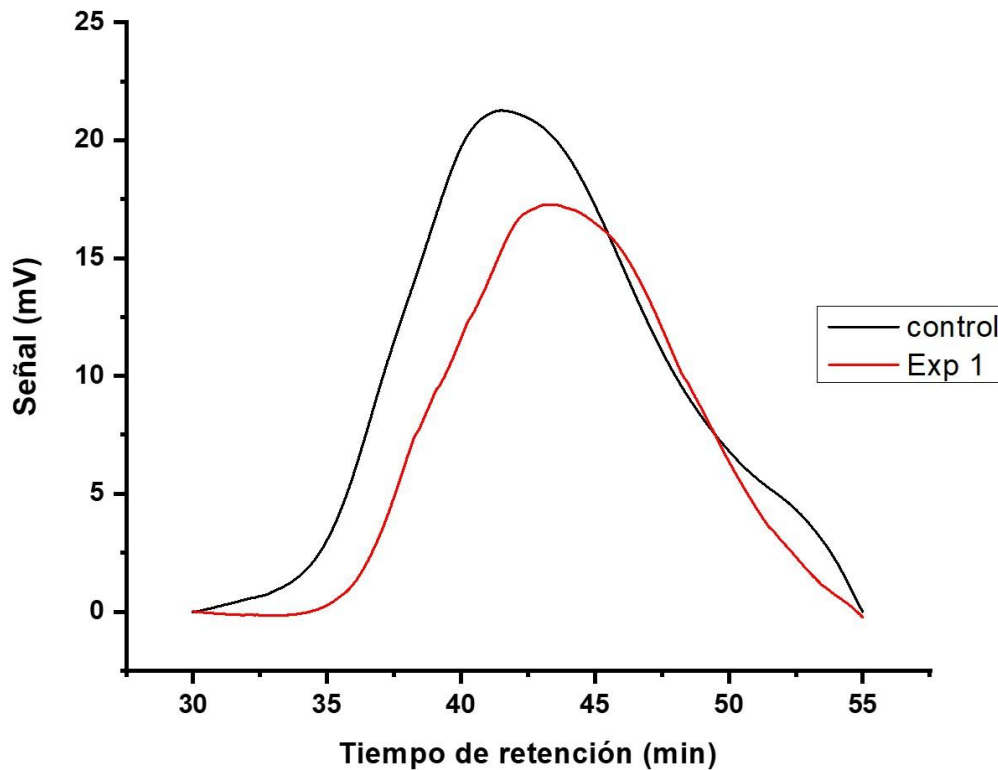


Figura A 5: : Representación gráfica de la distribución de masas molares de a) los puntos centrales del diseño 1 y b) la muestra control (negro) y el experimento 1 (rojo).

De la Figura A5 Podemos observar la poca repetibilidad del diseño (lo cual se apoya con los valores de la tabla A5 y un valor de R^2 de 0,5581. Por otro lado, de la Figura A4 se observa el punto que dio un mínimo en M_w , y se compara con la distribución de la muestra control, debido a la poca repetibilidad, producida por la dispersión del solido en el sistema acuoso, este diseño es descartado.

Se decide cambiar de sustrato debido a que no se logró llegar a ningún resultado optimo, de lo contrario solo se logró aumentar el valor de M_w , lo que indico que estábamos polimerizando la lignina en vez de despolimerizar.

2. **Lignina kraft de Eucalipto** → La lignina Kraft de Eucalipto a diferencia de la lignina kraft de Pino, posee en su estructura química un mayor porcentaje de unidades S (siringil), con

respecto a las unidades H y G, lo que creemos evitaría su repolimerización. Se tomo en cuenta las mismas condiciones que se usaron para la lignina de Pino y se procedió a realizar los siguientes diseños experimentales:

a) *Tabla A 7: : Se realizo un primer diseño experimental con las siguientes variables independientes:*

| <i>Variable</i> | <i>Valor bajo</i> | <i>Valor alto</i> |
|--|-------------------|--------------------|
| <i>Concentración de Fe³⁺</i> | 1 μM | 100 μM |
| <i>Concentración de H₂O₂</i> | 10 μM | 1000 μM |
| <i>Tiempo de reacción</i> | 15 min | 45 min |

b) Debido a los resultados del diseño anterior, se decide realizar 4 experimentos, manteniendo los valores de tiempo y concentración de Fe³⁺ y modificando el valor de la concentración de H₂O₂ a 1500 μM , manteniendo este último valor fijo en los 4 experimentos, quedando de la siguiente manera:

Tabla A 8:Valores del nuevo diseño experimental

| <i>Experimento</i> | <i>Concentración de Fe³⁺</i> | <i>Concentración de H₂O₂</i> | <i>Tiempo de reacción</i> |
|--------------------|---|--|---------------------------|
| 1 | 1 μM | 1500 μM | 45 min |
| 2 | 100 μM | 1500 μM | 45 min |
| 3 | 1 μM | 1500 μM | 15 min |
| 4 | 100 μM | 1500 μM | 15 min |

c) Después de analizar los resultados anteriores, se decidió realizar un segundo diseño experimental, acotando el valor de las variables, quedando de la siguiente manera:

Tabla A 9: Valores del nuevo diseño experimental

| <i>Variable</i> | <i>Valor bajo</i> | <i>Valor alto</i> |
|--|-------------------|-------------------|
| <i>Concentración de Fe³⁺</i> | 1 μM | 1,5μM |
| <i>Concentración de H₂O₂</i> | 1500μM | 2000 μM |
| <i>Tiempo de reacción</i> | 40 min | 50 min |

- d) Se observa que los mejores resultados se obtienen con un tiempo de reacción de 50 minutos, por lo que se decide dejar fijo este valor y solo variar las concentraciones de Fe³⁺ y de H₂O₂, además se decide realizar los puntos estrellas, para completar y optimizar el diseño:

Tabla A 10: Valores del diseño experimental final

| <i>Número de experimento</i> | <i>Concentración Fe³⁺ [mg/L]</i> | <i>Concentración H₂O₂ [mg/L]</i> | <i>Mw [g/mol]</i> |
|------------------------------|---|--|-------------------|
| 1 | 0,2 | 51 | 2774 |
| 2 | 0,6 | 51 | 2400 |
| 3 | 0,2 | 85 | 2396 |
| 4 | 0,6 | 85 | 2026 |
| 5* | 0,1172 | 68 | 1765 |
| 6 | 0,6828 | 68 | 2543 |
| 7 | 0,4 | 43,962 | 2574 |
| 8 | 0,4 | 92,038 | 2286 |

| | | | |
|----|-----|----|------|
| 9 | 0,4 | 68 | 1427 |
| 10 | 0,4 | 68 | 1449 |
| 11 | 0,4 | 68 | 1580 |

Tabla A 11: Tabla ANOVA para el diseño optimizado

| | DF | SS | MS | F | P |
|-------------|----|-----------------------|-----------------------|-------|--------------|
| Total | 9 | $7,34 \times 10^{-5}$ | $8,15 \times 10^{-6}$ | | |
| Regression | 4 | $7,07 \times 10^{-5}$ | $1,76 \times 10^{-5}$ | 32,85 | 0,001 |
| Residual | 5 | $2,69 \times 10^{-6}$ | $5,38 \times 10^{-7}$ | | |
| Lack of Fit | 3 | $1,68 \times 10^{-6}$ | $5,63 \times 10^{-7}$ | 1,12 | 0,503 |
| Pure Error | 2 | $1,00 \times 10^{-6}$ | $5,01 \times 10^{-7}$ | | |

Tabla A 12: Valores de Mw para los sistemas que se usaron como controles.

| Control | Sistema | Mw [g/mol] |
|---------|--|------------|
| 1 | Lignina en agua pH 3.00 | 3161 |
| 2 | Lignin + Fe ³⁺ | 2845 |
| 3 | Lignin + H ₂ O ₂ | 2982 |

III. Cinética de Despolimerización

A continuación, se muestran los espectros EPR correspondientes a la cinética del radical hidroxilo para el sistema Lignina-Tipo Fenton.

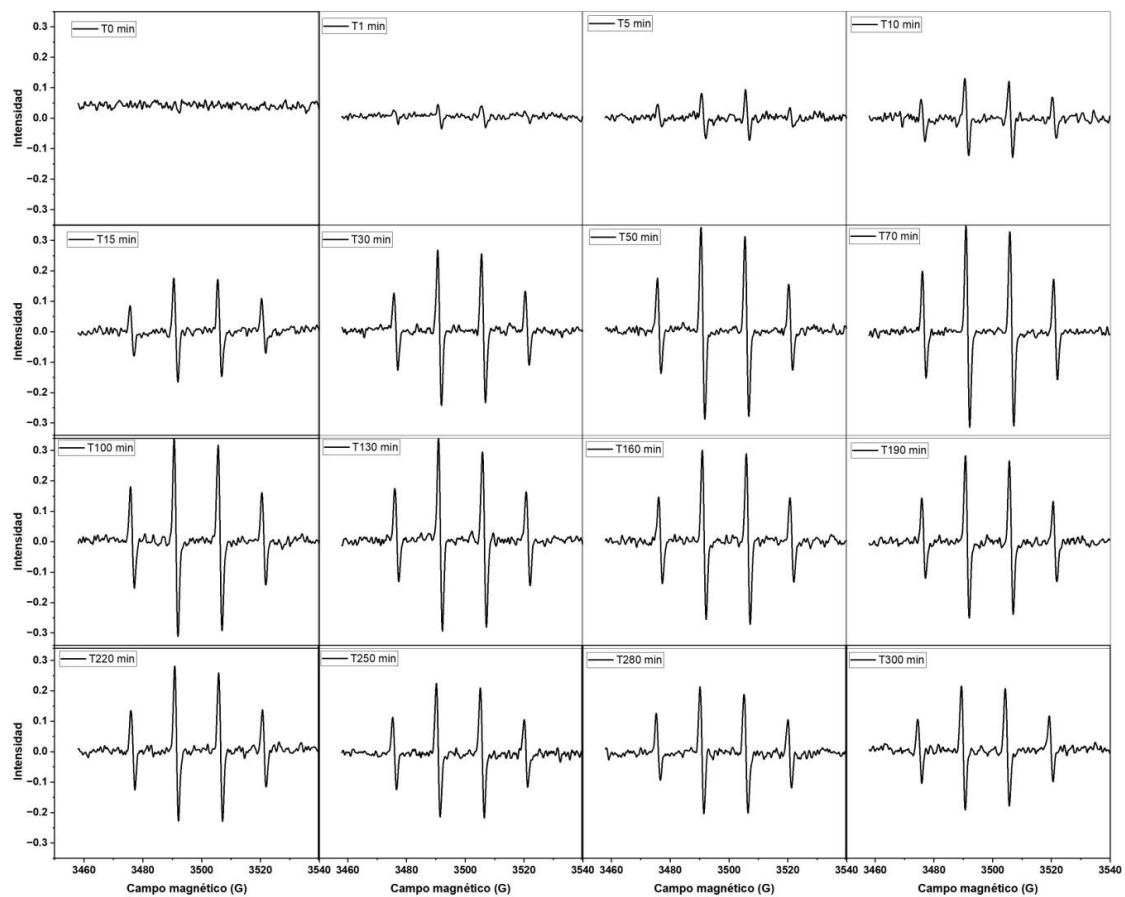


Figura A 6: Espectros EPR de la cinética de la reacción Lignina-Fe(III)-H₂O₂.

A continuación, se muestran los espectros EPR correspondientes a la cinética del radical hidroxilo para el sistema Tipo Fenton.

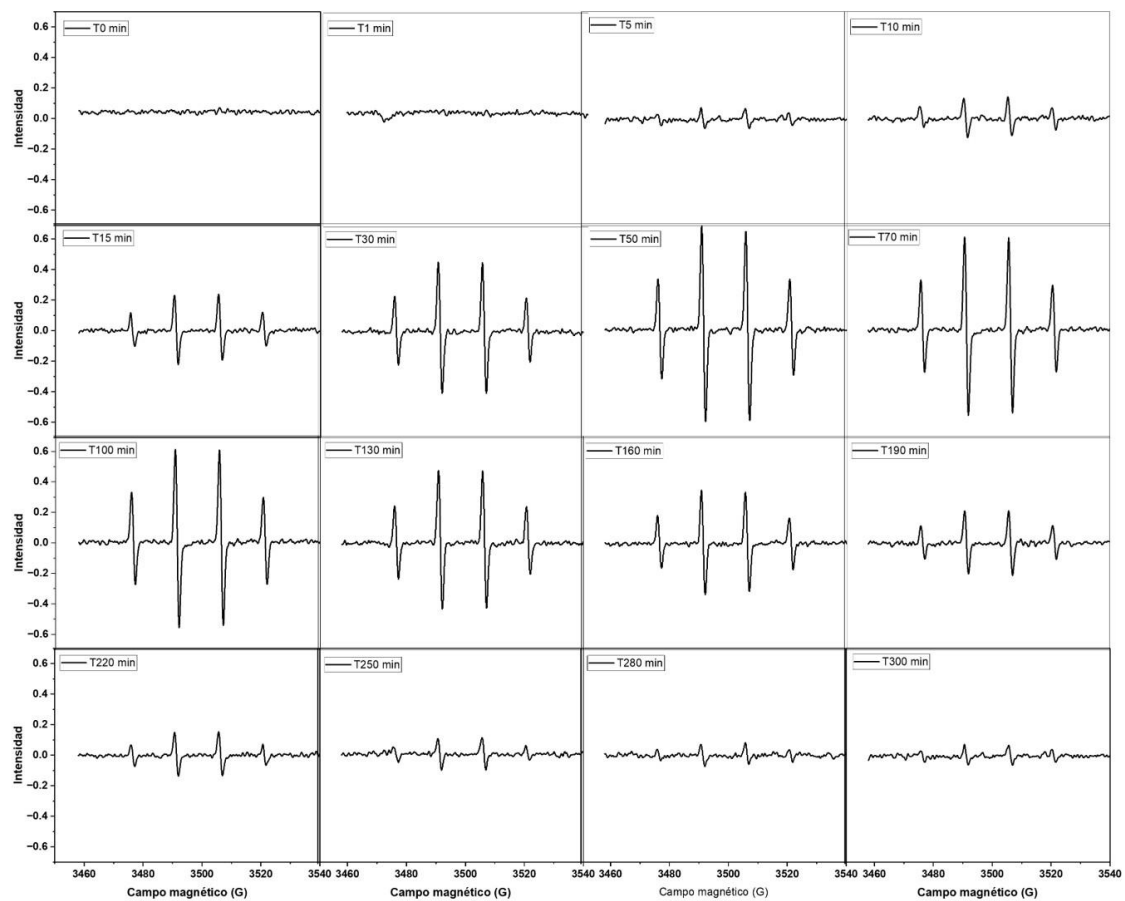


Figura A 7: Espectros EPR para la cinética de radical $\bullet\text{OH}$ en el control de la reacción Fenton like.

A continuación, se muestran los espectros EPR correspondientes a la cinética del radical Fenóxilo para el sistema Lignina-Tipo Fenton.

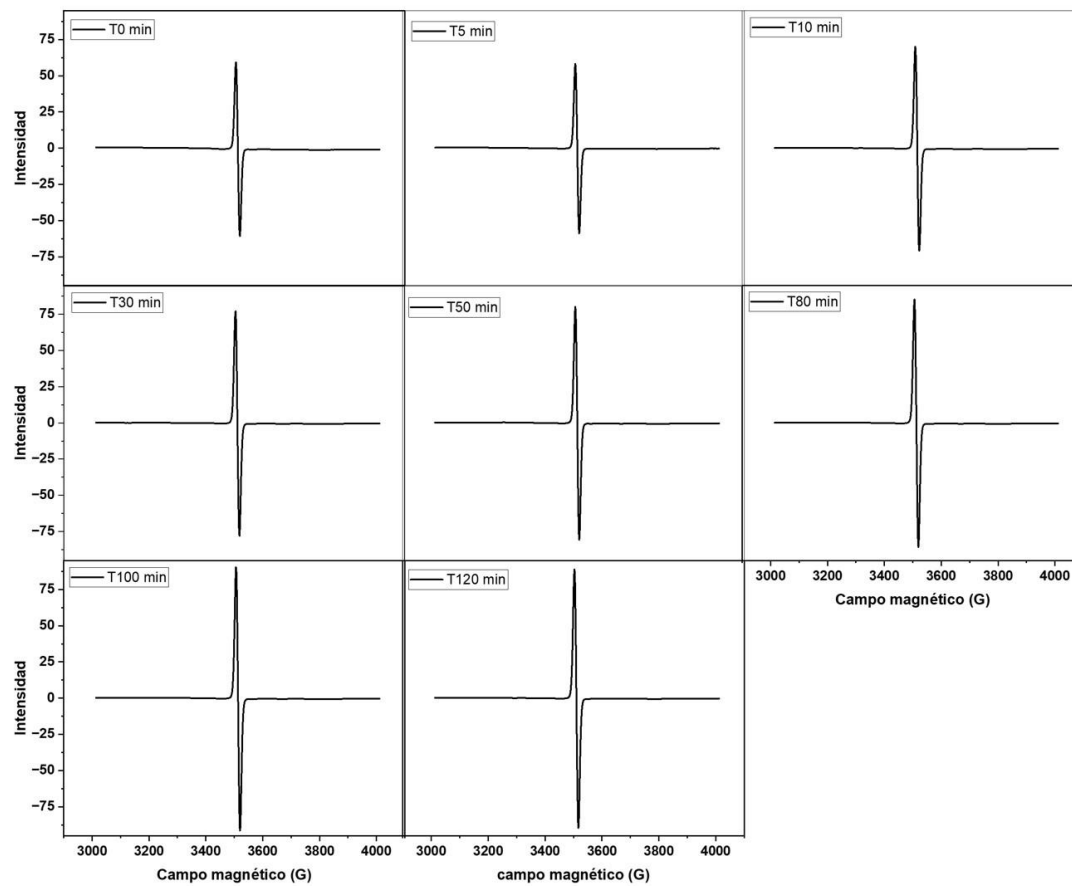


Figura A 8: Espectros EPR para la cinética de radical Fenóxilo para el sistema Lignina-Tipo Fenton

A continuación, se muestran los espectros EPR correspondientes a la cinética del radical Fenóxilo para el sistema control Lignina-Fe(III).

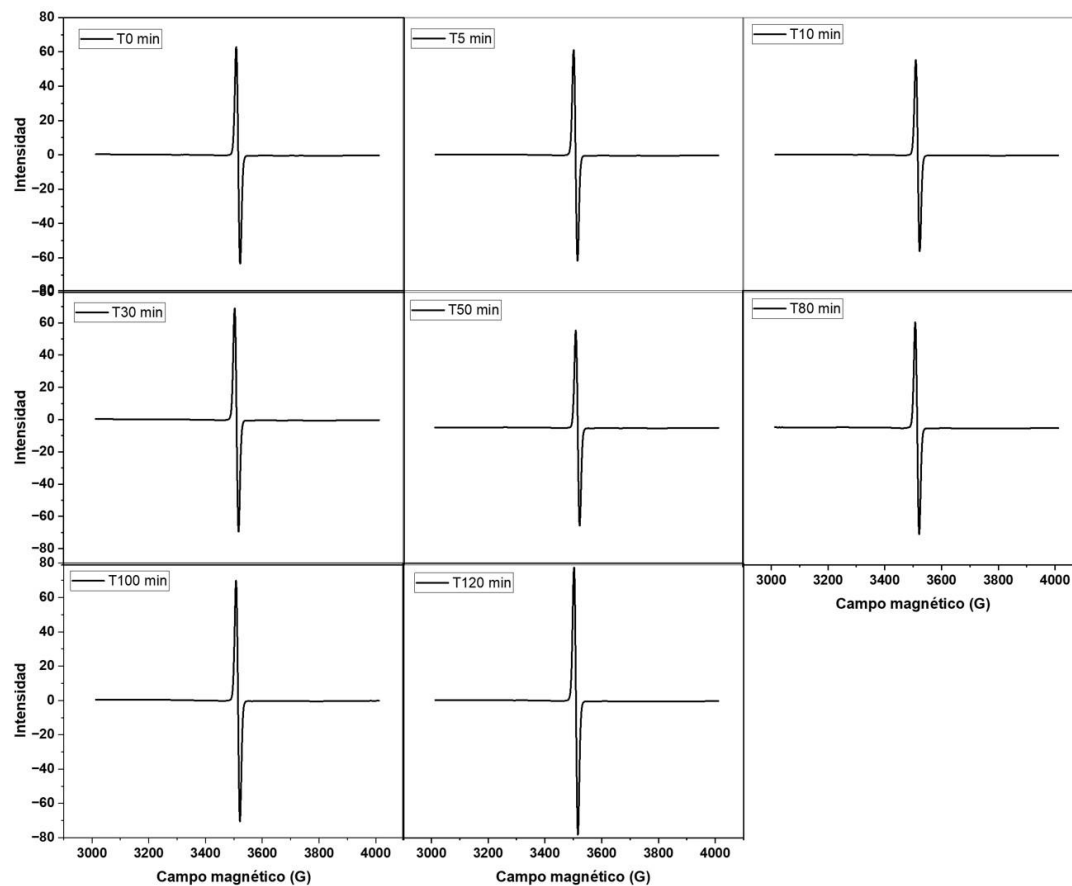


Figura A 9: Espectros EPR de la cinética del radical Fenoxi en el sistema control Lignina-Fe(III)

A continuación, se muestran los espectros EPR correspondientes a la cinética del radical Fenóxilo para el sistema control Lignina-H₂O₂.

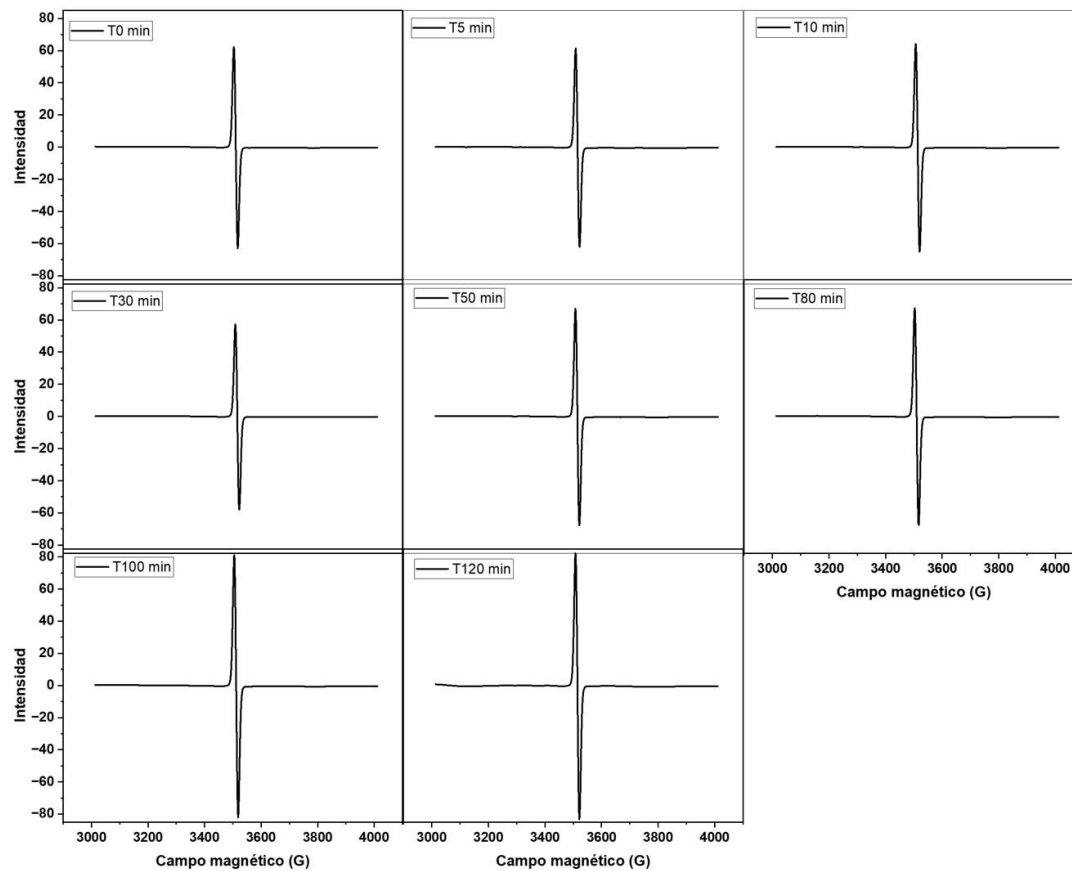


Figura A 10: Espectros EPR de la cinética del radical Fenoxi en el sistema control Lignina-H₂O₂.

A continuación, se muestran los espectros FT-IR correspondientes a la cinética de despolimerización:

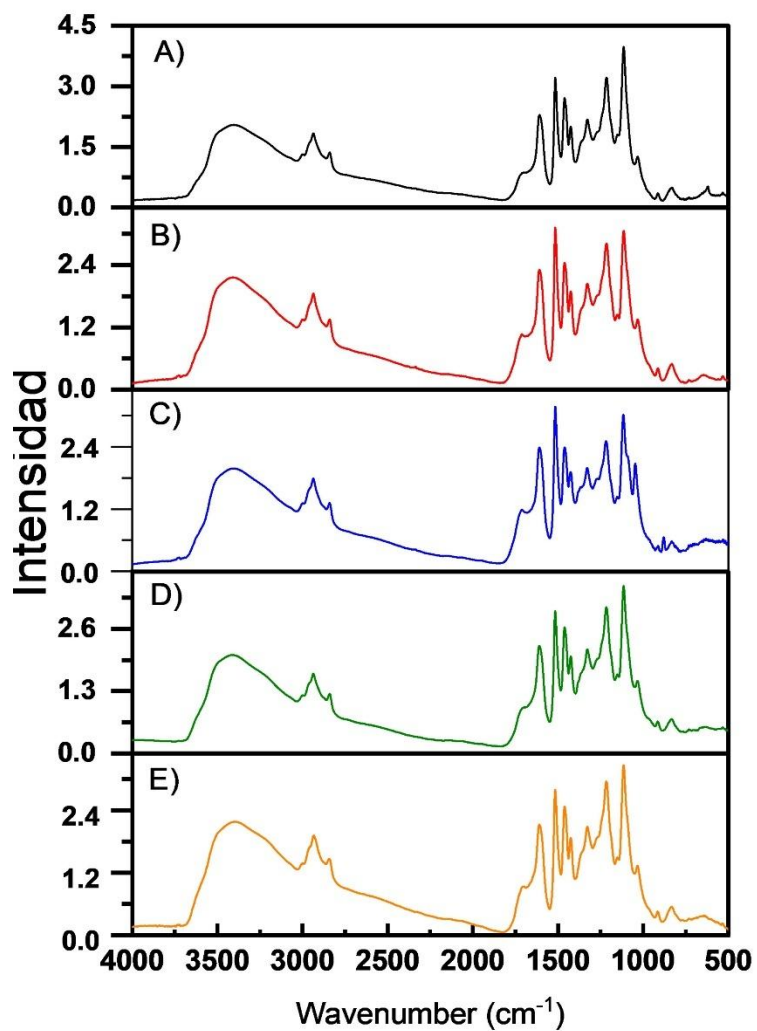


Figura A 11: Espectros FT-IR para la cinética de despolimerización; A) Tiempo 0 min, B) Tiempo 30 min, C) Tiempo 50 min, D) Tiempo 80 min, E) Tiempo 120 min

A continuación, se muestra en la tabla A los valores del ángulo de contacto de cada punto de la cinética de despolimerización:

Tabla A 13: Valores por triplicado del ángulo de contacto

| Tiempo (min) | Valor de ángulo de contacto | | | Promedio | DS |
|--------------|-----------------------------|-----|-----|----------|------|
| 0 | 110 | 115 | 109 | 111 | 3.2 |
| 10 | 100 | 97 | 107 | 101 | 5.1 |
| 30 | 112 | 95 | 100 | 102 | 8.7 |
| 50 | 87 | 93 | 82 | 87 | 5.5 |
| 80 | 79 | 105 | 105 | 96 | 15.0 |
| 120 | 83 | 87 | 85 | 85 | 2.0 |

IV. Productos de Oxidación

A continuación, se muestra los espectros de masa/carga, correspondientes a cada compuesto identificado:

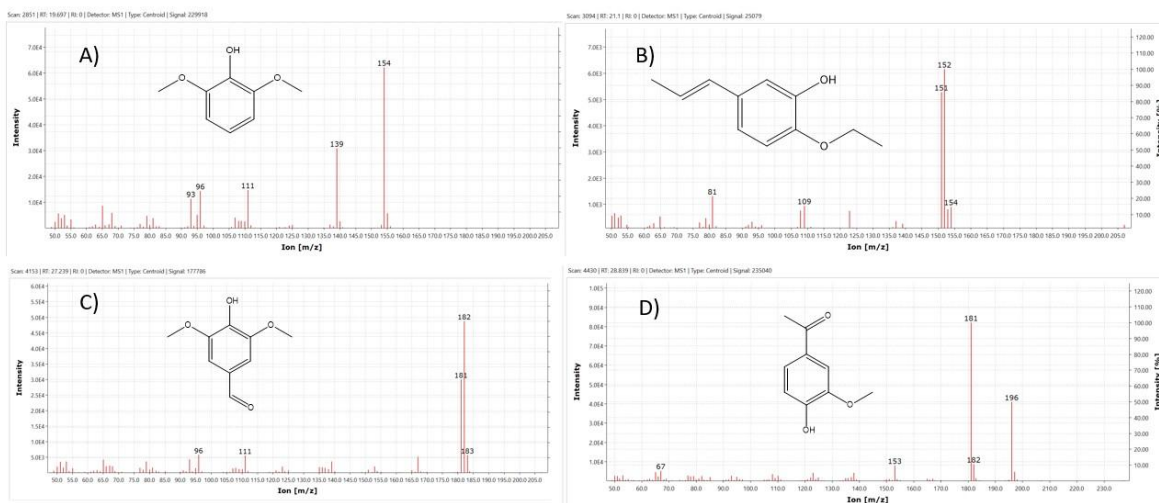


Figura A 12: Espectros de masa/cargas correspondientes a A) 2,6-dimetoxifenol, B) Popenilguaicol, C) 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzaldehyde y D) 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)ethanone