

ANÁLISIS DEL PRETRATAMIENTO DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES Y BIOPRODUCTOS DE ALTO VALOR AGREGADO

Perla Araceli Meléndez Hernández (1), Javier Ulises Hernández Beltrán (2), Héctor Hernández-Escoto (2), Ricardo Morales-Rodríguez (2)

1 [Licenciatura en Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad De Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [pamh_3022@hotmail.com.]

2 [Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [ricardo.morales@ugto.mx]

Resumen

La búsqueda de nuevas formas de energía renovables ha impulsado el estudio de los biocombustibles a partir de la biomasa lignocelulósica como lo son la paja de trigo, de sorgo o bagazo de caña de azúcar, de la cual se obtienen los azúcares reductores fermentables mediante una hidrólisis enzimática. Para poder utilizar los azúcares reductores que posee esta biomasa, es necesario dar un pretratamiento previo. Por tanto, en este trabajo se hace un análisis de dos tipos de pretratamiento para dos tipos de bagazo de caña (bagazo natural y bagazo hidrolizado): el primer pretratamiento consiste en una autohidrólisis a 121°C y el segundo en un pretratamiento alcalino-oxidativo. Los productos de los dos tipos de pretratamiento se utilizaron para realizar una hidrólisis enzimática utilizando el complejo comercial Accellerase 1500, donde se encontró que el mejor pretratamiento fue el alcalino-oxidativo donde se obtuvieron hasta 12 g/L de glucosa para el bagazo hidrolizado (78.68% g/g) y 9.9 g/L para el bagazo natural (60.20% g/g), mientras que en la hidrólisis enzimática del bagazo pretratado mediante la autohidrólisis se obtuvieron concentraciones de 0.704 g/L para el bagazo natural (6.67% g/g) y de 1.899g/L para el bagazo hidrolizado (19.65% g/g).

Abstract

The search for new forms of renewable energy has promoted the study of biofuels from lignocellulosic biomass such as wheat straw, sorghum straw and sugarcane bagasse, which are the source to obtain reducing fermentable sugar through an enzymatic hydrolysis. To make use of these reducing sugars is necessary to perform a pretreatment. This research analyses two kinds of pretreatment for two types of bagasse (natural bagasse and hydrolysed bagasse): the first pretreatment consists of an autohydrolysis at 121°C and the second pretreatment is an alkaline-oxidative pretreatment. The products of these two types of pretreatments were used for enzymatic hydrolysis using the commercial complex Accellerase 1500, where it was found that the best pretreatment was the alkaline-oxidative which was obtained 12g/L of glucose to the hydrolyzed bagasse (78.68% g/g) and 9.9 g/L for natural bagasse (60.20% g/g) while in the enzymatic autohydrolysis concentration of 0.704 g/L for natural bagasse (6.67% g/g) were obtained and 1,899 g/L for the hydrolyzed bagasse (19.65% g/g).

Palabras Clave

Bagazo de Caña de azúcar 1; Autohidrólisis 2; Hidrolisis enzimática 3; Pretratamiento alcalino 4.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el estudio de los biocombustibles como el bioetanol, butanol o el biodiesel y los bioproductos de alto valor agregado como xilitol o el ácido láctico por ejemplo, han ganado importancia debido principalmente a los problemas ambientales y energéticos que se tienen en el presente.

Esto ha originado la búsqueda de alternativas energéticas basadas en el uso de recursos renovables como los residuos/desechos lignocelulósicos agroindustriales los cuales se componen principalmente de celulosa, hemicelulosa y lignina. Los combustibles obtenidos a partir de biomasa lignocelulósica se conocen como biocombustibles de segunda generación (2G) [1].

Algunos ejemplos de biomasa lignocelulósica son los residuos agrícolas como paja de trigo, paja de sorgo o bagazo de caña de azúcar. En ese trabajo se utilizó el bagazo de caña de azúcar como materia prima para su análisis. La composición del bagazo de caña reportada en la literatura es la celulosa está entre el 38 y el 50 %, la hemicelulosa entre 17 y 32 % y lignina entre el 15-30 % [2].

El proceso para la producción de un biocombustible (líquido) de 2G como el bioetanol consta de 4 etapas: pretratamiento de la biomasa, hidrólisis enzimática, fermentación y los procesos de separación y purificación.

El pretratamiento es posiblemente la etapa esencial del proceso debido a que se busca destruir la lignina (pared que recubre y protege la celulosa y hemicelulosa pero que no es hidrolizable) presente en la biomasa lignocelulósica, esto con la finalidad de permitir a las enzimas acceder a la conversión de la celulosa y hemicelulosa en azúcares fermentables, además de modificar la cristalinidad de la celulosa, aumentar el área superficial y eliminar o disminuir la presencia de sustancias que interfieren o dificultan la hidrólisis [3].

La hidrólisis enzimática convierte la celulosa en monómeros de glucosa (azúcar de 6 carbonos), la

hemicelulosa principalmente en xilosa (azúcar de 5 carbonos) por medio de complejos enzimáticos que contienen enzimas celulasas específicas y hemicelulasas.

En la fermentación los azúcares reductores son convertidos en un producto de interés, el cual depende del microorganismo que se desee utilizar, por ejemplo la glucosa es convertida en acetona, butanol y etanol por acción de la bacteria *Clostridium acetobutylicum* o también solamente etanol por la acción de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Finalmente en los procesos de purificación y recuperación, los productos de interés son purificados mientras que algunos reactantes son recuperados para su reúso.

Debido a que la información sobre el pretratamiento del bagazo de caña por distintos métodos no es muy extensa. El objetivo de este trabajo es analizar y obtener un mayor conocimiento en el pretratamiento de los residuos de la industria azucarera utilizando 2 tipos de pretratamientos, 1) autohidrólisis y 2) alcalino-oxidativo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sustrato

Los residuos de bagazo de caña fueron proporcionados por el ingenio "El Refugio", el cual pertenece a la unidad Central Motzorongo S. A de C.V. y se encuentra localizado en el Municipio de Carlos A. Carrillo Veracruz.

Se utilizaron dos tipos de bagazo de caña de azúcar: 1) crudo/normal y 2) previamente pretratado/hidrolizado.

Primeramente se caracterizaron las dos muestras de bagazo (forma, textura, color, olor, % de humedad y pH), después se puso a secar el bagazo en el horno a una temperatura de 60°C durante 24h y se realizó el tratamiento mecánico de molienda y tamizado hasta tener en existencia de distintos tamaños de malla (20, 40 y 60).

Pretratamiento

Se utilizaron dos pretratamientos, la autohidrólisis y el pretratamiento alcalino-oxidativo.

Autohidrólisis

En la autohidrólisis se utilizaron 2 g de cada tipo de bagazo y se le agregaron 20 ml de agua destilada para tener una solución al 10 %p/v; se agitó y se colocó en autoclave a 20 lb/pul² de presión que correspondía a una temperatura entre 121.1 y 121.7°C durante 20 min. Se dejó enfriar y se filtró para posteriormente utilizar el bagazo.

Alcalino-Oxidativo

En el pretratamiento alcalino-oxidativo se utilizó el bagazo que quedó entre las mallas 20 y 40. Para cada tipo de bagazo, se utilizó 1 matraz Erlenmeyer de 2 L, una parrilla eléctrica y un agitador magnético para cada tipo de bagazo. El procedimiento consistió en colocar 50 g de uno de los tipos de bagazo en el matraz erlenmeyer de 2 L, adicionar 475 mL de agua destilada, 35ml de NaOH al 50 % y 40 ml de H₂O₂ al 50%. Esta adición se hizo añadiendo y alternando 10 ml de NaOH y 10 ml de H₂O₂ y así sucesivamente hasta completar el volumen ya mencionado para cada reactivo, el pH se ajustó a 11.5, a una temperatura de 60 °C durante 5h.

Medición de Glucosa y Azúcares Totales

Se realizaron dos tipos de mediciones, la determinación de glucosa y azúcares totales.

En la medición de glucosa se utilizó el analizador bioquímico YSI 2700 Select, el cual arrojaba los valores en concentración de g/L.

Para la medición de los azúcares totales se utilizó la técnica de DNS (ácido 3,5 dinitro salicílico) [5].

Hidrólisis Enzimática

Se utilizó el complejo comercial Accellerase 1500 de Dupont-Genencor y se realizó en dos diferentes maneras: 1) utilizando un termomixer y 2) utilizando un reactor por lotes.

Termomixer para pretratamiento autohidrólisis:

Se llevó a cabo por 3 horas en tubos eppendorf a un volumen de 1.5 mL de ambos tipos de bagazo, a una temperatura de 45 °C, pH de 4.5, concentración 1 % p/v, una agitación de 900 rpm y una carga enzimática de 6 µL. Transcurrido el tiempo se inactiva la enzima y se prosigue a medir glucosa y azúcares totales.

Reactor por lotes de 0.5 L para pretratamiento Alcalino-Oxidativo:

Se ejecutaron 2 experimentos en paralelo (1 para cada tipo de bagazo) durante 8 horas tomando muestras primero cada 30 min dentro de la primera hora y después cada hora. El pretratamiento se realizó a una temperatura de 45 °C, pH de 4.5, concentración 3 %p/v, una agitación mecánica de 240 rpm y una carga enzimática de 7.5 mL.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan las propiedades físicas y químicas de los dos tipos de bagazo (bagazo natural y bagazo hidrolizado).

Propiedades	Bagazo natural	Bagazo hidrolizado
Forma	Fibras largas y delgadas	Fibras delgadas
Textura	Tierra	Húmedo
Color	Café claro	Negro
Olor	Pasto húmedo	Quemado/Descompuesto
% de humedad	36.05 %	54.95 %
pH	6.47	3.20

Tabla 1: Propiedades del bagazo de caña analizado.

La concentración de glucosa obtenida en la autohidrólisis, medida mediante el analizador YSI 2700 Select se presenta en la Tabla 2.

Muestra	Concentración de Glucosa (g/L).
<i>Muestra de sustrato</i>	
Bagazo natural (BN)	0.003
Bagazo hidrolizado (BH)	0.065
<i>Sobrenadante después del pretratamiento</i>	
Bagazo natural (BN)	0.015
Bagazo hidrolizado (BH)	
<i>Bagazo después del pretratamiento seguido de la hidrólisis enzimática</i>	
Bagazo natural (BN)	0.704
Bagazo hidrolizado (BH)	1.899

Tabla 2: Medición de glucosa por medio del YSI para el tratamiento de autohidrólisis.

Los resultados de las pruebas de DNS obtenidos del pretratamiento de autohidrólisis se pueden observar en la siguiente gráfica (Imagen 1: Gráfica de la concentración de azúcares totales para el bagazo natural y el bagazo hidrolizado) donde se presenta la concentración de azúcares para las dos muestra de bagazo en las distintas fases del proceso que serían el bagazo después del pretratamiento, el sobrenadante del pretratamiento y el bagazo después de la hidrolisis enzimática. Esta gráfica también presenta su desviación estándar.

El porcentaje de rendimiento en la autohidrólisis para el bagazo natural es del 6.67% y para el bagazo hidrolizado es del 19.65%.

Los resultados obtenidos del tratamiento alcalino se muestran en la Tabla 3. (Tabla 3: Medición de glucosa por medio del YSI para el pretratamiento alcalino). En esta podemos observar la concentración de glucosa a distintos tiempos.

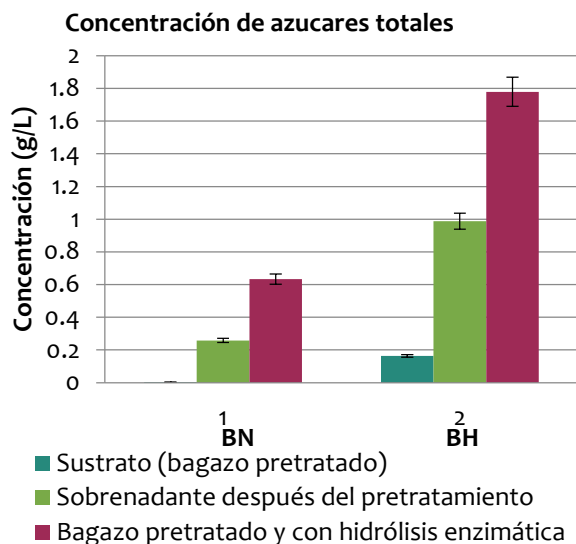


Imagen 1: Gráfica de la concentración de azúcares totales para el bagazo natural y el bagazo hidrolizado.

Con estos datos se pudo visualizar la trayectoria que sigue esta reacción desde el inicio hasta su estado estacionario. Esto lo podemos ver en la Imagen 2. (Imagen 2: Trayectoria de la glucosa con respecto al tiempo en el pretratamiento alcalino para los dos tipos de bagazo BN y BH.) También con estos datos se puede obtener la trayectoria que sigue el rendimiento de la glucosa con respecto a la muestra de bagazo y la

trayectoria de la glucosa con respecto a la cantidad máxima de celulosa que podían tener las muestras; eso se presenta en la Imagen 3. (Imagen 3: Trayectoria del rendimiento respecto al tiempo del pretratamiento alcalino para los dos tipos de bagazo BN y BH).

Muestra/tiempo	Concentración de glucosa (g/L)
<i>Bagazo natural (BN)</i>	
Inicial	0
30min	3.5865
1h	4.7665
2h	6.3165
3h	7.8565
4h	8.5065
5h	9.0165
6h	9.4065
7h	9.7865
8h	9.9965
Sobrenadante después del pretratamiento	0
<i>Bagazo hidrolizado (BH)</i>	
Inicial	0
30min	4.3565
1h	5.8965
2h	8.1265
3h	9.7265
4h	10.8965
5h	11.4965
6h	11.9965
7h	12.2965
8h	12.5965
Sobrenadante después del pretratamiento	0

Tabla 3: Medición de glucosa por medio del YSI para el pretratamiento alcalino.

Con estos datos obtenidos se puede observar que después de 5h el cambio en la concentración de glucosa es mínimo por lo que la reacción podría detenerse después de este tiempo.

Para el cálculo de los rendimientos se tomó de la literatura que la composición de celulosa es del 50%. Tomando esta composición se calcularon los rendimientos que alcanzan para el bagazo natural un 60% y para el bagazo hidrolizado 78%, si se toma el rendimiento con respecto a la cantidad de bagazo utilizado se tienen rendimientos del 30% para el bagazo natural y del 40% para el bagazo hidrolizado. Con estos resultados nos permite identificar que este pretratamiento es más eficiente para su posterior utilización en la fermentación.

Trayectoria de la concentración de glucosa respectoa al tiempo.

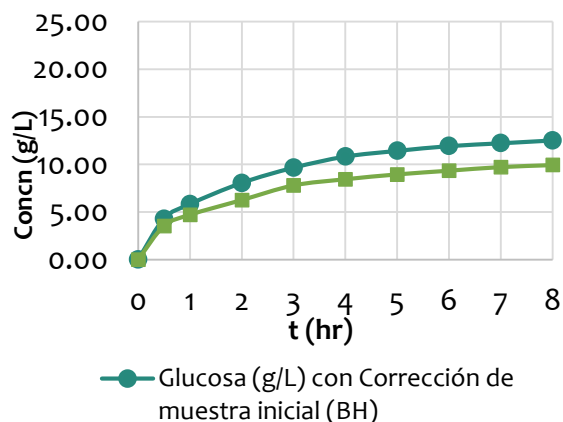


Imagen 2: Trayectoria de la glucosa con respecto al tiempo en el pretratamiento alcalino para los dos tipos de bagazo BN y BH.

Trayectoria del Rendimiento

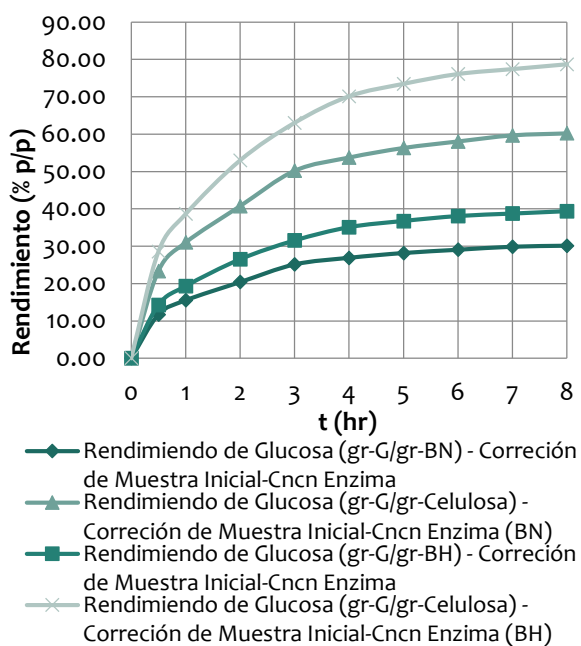


Imagen 3: Trayectoria del rendimiento respecto al tiempo del pretratamiento alcalino para los dos tipos de bagazo BN y BH.

CONCLUSIONES

En la literatura se reporta que el pretratamiento de autohidrólisis va de 130 a 200°C pero utilizan un tamaño de partícula relativamente grande (malla

20-40), por ello se partió de la hipótesis que la autohidrólisis a 121°C de bagazo molido (< malla 60) sería efectiva; sin embargo, no resultó en el éxito esperado. Se considera necesario realizar la autohidrólisis a temperaturas más elevadas en las actividades a futuro.

Por otra parte, el pretratamiento alcalino-oxidativo resultó con muy buenos resultados alcanzando una conversión de celulosa en glucosa del 60% para el bagazo crudo y 78% para el bagazo hidrolizado.

AGRADECIMIENTOS

Los autores a gradecen el apoyo del ingenio “El Refugio”, el cual pertenece a la unidad Central Motzorongo S. A de C.V. por facilitar la materia prima utilizada en el desarrollo de este estudio. CONCYTEG (Proyecto IJ.67) por el apoyo recibido para la realización de este proyecto.

Meléndez Hernández agradece al equipo del LABPI por todos los conocimientos transmitidos, a la Dra. Rosalba y a Miriam por el apoyo recibido y a la Universidad de Guanajuato por apoyar este tipo de proyectos.

REFERENCIAS

- [1] Niño López L., Acosta Cárdenas A. & Gelves Zambrano R., (2013). “Evaluación de pretratamientos químicos para la hidrólisis enzimática de residuos lignocelulósicos de yuca”. Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia, 69, 317-326.
- [2] Chandler C., Villalobos N., González E., Arenas E., Marmol Z., Ríos J. & Aiello Mazzarri C., (2012). “Hidrólisis ácida diluida en dos etapas de bagazo de caña de azúcar para la producción de azúcares fermentables”. Multiciencias, 12(3), 245-253
- [3] Pernalet, Z., Piña F., Suárez M., Ferrer M. & Aiello C., (2008). “Fraccionamiento del bagazo de caña de azúcar mediante tratamiento amoniacal: efecto de la humedad del bagazo y la carga de amoníaco”. Bioagro, 20(1), 3-10
- [4] Samarti Rios L., Sánchez Morales M., Avalos Farfán S., Rodríguez-Gomez D., Loera-Corral O., Favela-Torres E. & Morales-Rodríguez R., (2014). “Análisis experimental para la producción de acetona, butanol y etanol a partir de residuos de la industria azucarera”. Memorias del XXXV Encuentro Nacional de la AMIDIQ, 1357-1362
- [5] Miller, G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, 31, 426-428.