

LIBERACIÓN DE PENTOSAS DEL BAGAZO GASTADO DE CERVECERÍA MEDIANTE ACONDICIONAMIENTO TERMOQUÍMICO CON ÁCIDO DILUIDO

Castiglioni, Ignacio.

*Facultad de Ingeniería y Ciencias Hídricas
Laboratorio de Ingeniería Ambiental*

Director: Dr. Comelli, Raúl N.
Co-Director: Dr. Leonardi, Rodrigo J.

Área: Ingeniería y Tecnologías

Palabras claves: Bagazo, Acondicionamiento termoquímico, pentosas.

INTRODUCCIÓN

El BSG, de sus siglas en inglés, *Brewery Spent Grain (BSG)*, también conocido como bagazo de cervecería gastado, es un subproducto sólido de la industria cervecera, generado en la etapa de maceración de la cebada malteada, que representa el 85 % del total de los subproductos de dicha industria. En las industrias productoras de cerveza a gran escala, el 31% del peso de la malta procesada resulta BSG, donde se estima que por cada 1 Kg de producto final producido (cerveza) se generan 0,20 Kg de BSG húmedo o 0,12 Kg de BSG seco.

El BSG es una biomasa lignocelulósica compuesta principalmente por celulosa (12-25 %), hemicelulosa (19-42 %), lignina (15-27 %), proteína (14-31 %), y que también contiene vitaminas, minerales, compuestos fenólicos, etc.

En Argentina, y particularmente en la Provincia de Santa Fe, la producción de cerveza se desarrolla continuamente durante todo el año, tanto en microcervecerías artesanales como en las grandes industrias. A nivel mundial, alrededor del 70 % del BSG se utiliza como alimento para animales (donde gran parte se desperdicia), el 10 % para la producción de biogás y el 20 % se deposita en vertederos sin tratamiento ni valorización. Por su composición química, disponibilidad (cantidad y frecuencia) y origen *eco-friendly*, este material puede ser considerado como una potencial materia prima para la producción de bioetanol de segunda generación (2G).

Independientemente de la tecnología de proceso, o las estrategias implementadas para la producción de etanol 2G (fermentación separada de azúcares C5 y C6, co-fermentación, etc.), la etapa de acondicionamiento de la biomasa lignocelulósica puede tener una influencia significativa en la economía global de un proceso, representando hasta un 35 %, por ejemplo, del costo total de un proceso de producción de bioetanol. Los pasos de acondicionamiento podrían cumplir una triple función: (1) eliminar la lignina, (2) despolimerizar los azúcares hemicelulósicos; y (3) mejorar la accesibilidad a la celulosa en la fracción sólida.

Título del proyecto: Evaluación de inóculos alternativos para la producción de etanol de segunda generación mediante bioprocesamiento consolidado.

Instrumento: PICT2018-01458

Año de la convocatoria: 2018

Organismo financiador: ANPCyT

Director/a: Comelli, Raúl Nicolás



El acondicionamiento con ácido diluido remueve principalmente la hemicelulosa (xilano, arabinano, etc.), y hace más accesibles las fibras de celulosa al ataque enzimático con celulasas. El proceso es normalmente llevado a cabo con ácidos diluidos (comúnmente H_2SO_4 , pero pueden utilizarse también ácidos orgánicos como láctico, acético y oxálico) entre 0.2-2.5 % m/v, a temperaturas entre 80-200 °C, con tiempos de residencia de minutos a horas. Las principales variables que afectan el proceso son el tipo y la concentración de ácido, temperatura, carga inicial de sólidos y tiempo de contacto.

En presente trabajo estudia la cinética [0-150 min] de liberación de pentosas (azúcares C5) en suspensiones con alta carga inicial de BSG (20 % m/v), durante el acondicionamiento termoquímico con ácido diluido, a diversas conc. de ácido sulfúrico (H_2SO_4) [0.5, 1, 2 y 3 % m/v] y temperaturas (T) [100, 110, 120 y 130 °C].

OBJETIVOS

- Identificar el efecto de las variables operativas tiempo, conc. de H_2SO_4 y temperatura sobre la liberación de pentosas desde el BSG.
- Recopilar información para la construcción de un modelo matemático dinámico que permita describir la liberación de pentosas en el tiempo, como función de la temperatura y la conc. de H_2SO_4 .
- Seleccionar las condiciones de acondicionamiento termoquímico ácido adecuadas para el diseño de un proceso de producción de etanol 2G.

METODOLOGÍA

El lote de BSG utilizado fue gentilmente cedido por una cervecera local con producción a gran escala. El bagazo fue recibido en forma húmeda (material sólido + líquido remante de la maceración de la malta), y fue rápidamente estabilizado a partir del siguiente tratamiento: el material fue lavado varias veces con agua de red y presionado contra un material filtrante de acero, con el objetivo de eliminar el líquido remante, que contiene restos del mosto cervecero (donde hay presentes compuestos nitrogenados producto de la hidrólisis parcial de las proteínas, y dextrinas, consecuencia de una hidrólisis incompleta del almidón). El material fue secado en estufa a 40 °C, y posteriormente fue molido utilizando un molinillo de laboratorio hasta alcanzar una granulometría de 500-2000 μm , y almacenado en condiciones ambientales en recipientes de vidrio.

La composición química básica del material (contenido de hemicelulosa, celulosa y lignina) fue efectuada siguiendo el procedimiento LAP-NREL/TP-510-42622 reportado por el *National Renewable Energy Laboratory* (NREL).

Los ensayos de acondicionamiento termoquímico con ácido diluido fueron realizados en un baño termostatzado de tipo bloque seco de 12 posiciones con control digital de T, y en tubos de vidrio borosilicato con tapones a rosca (HACH) de 16 x 100 mm. La conc. de la suspensión de 20 %m/v (200 g/L) fue obtenida pesando en balanza analítica aprox. 1,4 g de BSG y disolviendo esta cantidad en 7 mL de las diferentes soluciones de ácido H_2SO_4 .

Para el estudio del efecto de la T, se fijó la conc. de ácido H_2SO_4 diluido en 2% m/v, y se varió la T, tomando valores de 100, 110, 120 y 130 °C. Para el estudio del efecto de la conc. de ácido H_2SO_4 diluido, se fijó la T a 120 °C y se varió la conc. del mismo, 0.5, 1, 2 y 3 % m/v. El tiempo t de ensayo fue en el rango de 0-150 min [5, 10, 15, 30, 50, 70, 90, 120 y 150]. Todos los tubos fueron colocados al tiempo 0 y fueron retirados en los tiempos declarados. La reacción fue frenada colocando los tubos en un baño de agua fría. Luego fueron centrifugados, y el sobrenadante fue colectado y conservado en freezer para posterior procesamiento. Los

ensayos fueron realizados por duplicado, es decir, cada condición (t , T , conc. de ácido H_2SO_4) es representada por dos tubos.

La liberación de pentosas en los sobrenadantes de los hidrolizados fue seguida mediante una técnica colorimétrica basada en ácido clorhídrico, ácido acético y floroglucinol, utilizando xilosa como azúcar patrón para la generación de la curva de calibrado. Esta técnica permite observar la tendencia de liberación de azúcares, pero en mezclas de pentosas, puede requerirse de otras metodologías para cuantificar el tipo de pentosa presente, y su concentración real. Se realizaron mediciones en HPLC-RID (Thermo UltiMate 3000, RefractoMax520) para cuantificar las pentosas presentes y su concentración, utilizando una columna Shodex SUGAR SH1011 (8.0 mm I.D. x 300 mm), 0.6 ml de fase móvil (H_2SO_4 5 mM).

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

De la caracterización química ácida del lote de BSG utilizado, mediante el uso de protocolos estándares (NREL), resultó que este está compuesto por $15,42 \pm 0,23$ % m/m de celulosa y $19,06 \pm 1,39$ % de hemicelulosa. La hemicelulosa está principalmente formada por 68 % de xilano y 32 % de arabinano. No se consideraron aquí otros azúcares presentes en la hemicelulosa, como manosa, galactosa, y ácidos, como acético y derivados urónicos, debido a que estos se encuentran en muy bajas cantidades. La composición química en términos de carbohidratos obtenida resulta adecuada en función de los valores presentes en literatura. Los valores de composición fueron también validados a partir de los datos obtenidos por HPLC de las cinéticas de hidrólisis con ácido H_2SO_4 diluido.

Dada la composición obtenida, la máxima conc. de pentosas posible de obtener en suspensiones de BSG con conc. iniciales de 200 g/L resulta de aprox. 40 g/L. De la **Figura 1**, se puede observar que tanto la T como la conc. de ácido H_2SO_4 afectan la cinética de liberación de pentosas. Un incremento en la T o en la conc. H_2SO_4 conlleva a una velocidad mayor de liberación de pentosas, y mayores rendimientos finales de recuperación en el tiempo considerado. A una T de 130 °C y en conc. de H_2SO_4 de 2 % m/v, se recupera aprox. un 90 % del total inicial de pentosas presentes en el material sólido en menos de 30 min. Por otro lado, a una T de 120 °C con una conc. de H_2SO_4 de 3 % m/v, a los 30 min de proceso, se alcanza una recuperación de aprox. 60-75 %. A la menor conc. de H_2SO_4 evaluada (0.5 % m/v) la liberación es muy lenta, alcanzándose una recuperación menor al 40 %.

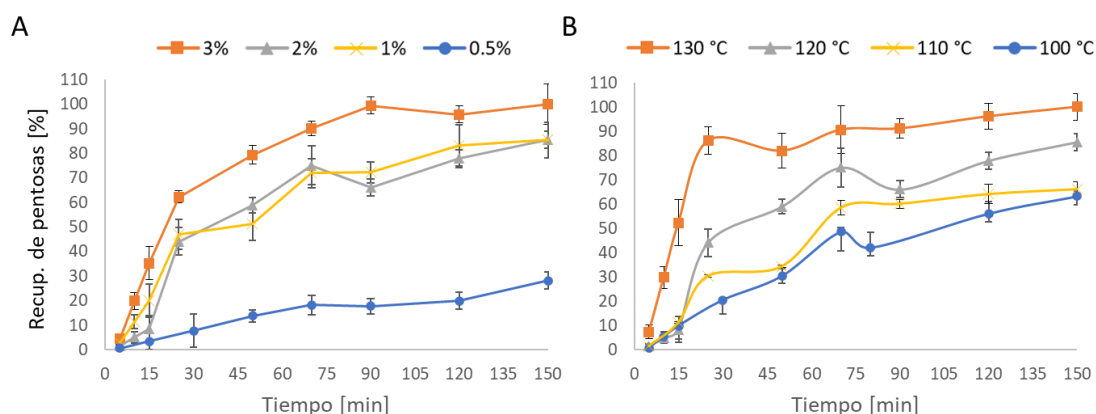


Figura 1. Perfiles de liberación de pentosas; A] Efecto de la conc. de H_2SO_4 (% m/v) a una T de 120 °C; B] Efecto de la T a 2 % m/v de H_2SO_4 .

De los resultados de HPLC se pudo observar que la arabinosa se libera más fácilmente que la xilosa desde la hemicelulosa. Este fenómeno ya fue reportado para varios materiales lignocelulósicos. El análisis de los datos experimentales ha evidenciado que las cinéticas se pueden aproximar a un orden de reacción de 1, existiendo en literatura antecedentes que declaran dinámicas similares para este tipo de acondicionamiento, y para diferentes materiales lignocelulósicos.

Las tendencias observadas permiten concluir que la metodología implementada resultó adecuada. Los sobrenadantes almacenados provenientes de los hidrolizados en diferentes condiciones operativas tienen el potencial para brindar datos que permitan la construcción de un modelo cinético para dicho tipo de pretratamiento, basado en cinéticas de primer orden.

Actualmente, en relación a la producción de etanol 2G, se están realizando ensayos de fermentación sobre los sobrenadantes de hidrolizados de BSG obtenidos con 2 % m/v H₂SO₄, 120°C y 1 hora, utilizando cepas de levaduras capaces de fermentar pentosas, entre ellas *Spathaspora passalidarum* y *Saccharomyces cerevisiae* TMB 3400 (cepa genéticamente modificada).

BIBLIOGRAFÍA

Lynch, K. M., Steffen, E. J., & Arendt, E. K. 2016. Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. *Journal Of The Institute Of Brewing*, 122(4), 553-568.

Pabbathi, N. P. P., Velidandi, A., Pogula, S., Gandam, P. K., Baadhe, R. R., Sharma, M., Sirohi, R., Thakur, V. K., & Gupta, V. K. (2022). Brewer's spent grains-based biorefineries: A critical review. *Fuel*, 317, 123435.

Rojas-Chamorro, J., Romero-García, J., Cara, C., Romero, I., & Castro, E. (2020). Improved ethanol production from the slurry of pretreated brewers' spent grain through different co-fermentation strategies. *Bioresource Technology*, 296, 122367

Rolón, M. G., Leonardi, R. J., Bolzico, B. C., Seluy, L. G., Benzzo, M. T., & Comelli, R. N. (2023). Multi-Response Optimization of Thermochemical Pretreatment of Soybean Hulls for 2G-Bioethanol Production. *Fermentation*, 9(5), 454.

Sluiter, A.; Hames, B.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, J.; Templeton, D.; Crocker, D. (2012) Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass; Technical Report; National Renewable Energy Laboratory: Golden, CO, USA.