

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

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

En este trabajo se hace un análisis de dos tipos de pretratamientos alcalino-oxidativo sobre el bagazo de caña de azúcar: utilizando hidróxido de sodio (NaOH) e hidróxido de calcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ). El Bagazo pretratado se utilizó para realizar hidrólisis enzimáticas al 5 % w/v en reactor batch de 0.5 L durante 8 horas, empleando el complejo enzimático comercial Cellic CTec de Novozymes® (NC-3). Se encontró que la hidrólisis enzimática con bagazo pretratado con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  obtuvo una concentración de 18.29 g/L de azúcares fermentables lo que representa un rendimiento del 52.98 % con respecto a la cantidad de bagazo inicial, mientras que para el bagazo pretratado con NaOH se logró obtener una concentración de 24.99 g/L de azúcares fermentables, lo que representa un rendimiento de 62.69 % con respecto a la cantidad de bagazo inicial. Debido a estos resultados se encontró que el pretratamiento donde se utiliza NaOH es más efectivo que el que pretratamiento con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ .

## Abstract

In this study two kinds of alkaline-oxidative pretreatments on sugar cane bagasse had been analyzed: using sodium hydroxide (NaOH) and calcium hydroxide ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ). The pretreated bagasse was used for enzymatic hydrolysis to 5% w/v in 0.5 L batch reactor for 8 hours, using the Cellic Novozymes® ctec of commercial enzyme complex (CN-3). After this process was found that the enzymatic hydrolysis bagasse pretreated with  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  resulted in a concentration of 18.29 g/L of fermentable sugars; representing a yield of 52.98% g/g relative to the initial amount of bagasse, while for bagasse pretreated with NaOH it was possible to obtain a concentration of 24.99 g/L of fermentable sugars, which represent 62.69% of yield relative to the initial amount of bagasse. For these results it was found that pretreatment where NaOH is used, was more effective than the pretreatment with  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ .

## Palabras Clave

Pretratamiento alcalino-oxidativo1; Bagazo de caña de azúcar 2; Hidróxido de sodio 3; Hidróxido de calcio 4; Hidrólisis enzimática 5.

## INTRODUCCIÓN

Los distintos problemas ambientales y energéticos que han ido surgiendo en todo el mundo han llevado al desarrollo de distintos métodos para la obtención de biocombustibles y distintos bioproductos de alto valor agregado como el biobutanol, butanol, biodiesel, xilitol y ácido láctico.

La materia prima principalmente utilizada para la obtención de estos productos, es la biomasa lignocelulósica. Los carbohidratos contenidos en los materiales lignocelulósicos pueden ser convertidos en azúcares mediante hidrólisis enzimática y posteriormente utilizados para diferentes tipos de fermentación.

El principal problema que presentan los materiales lignocelulósicos es la difícil accesibilidad de la enzima para degradar la celulosa, causada por la estructura rígida de lignocelulosa; [1] debido a esto, es necesario que se realice un pretratamiento para remover la lignina, hidrolizar la hemicelulosa a azúcares fermentables, y reducir la cristalinidad de la celulosa para liberar la glucosa. [2]

Durante el pretratamiento de la biomasa, no sólo la estructura física se ve afectada; también una cantidad significativa de componentes de la biomasa, principalmente hemicelulosa, se disuelven en la solución del pretratamiento. [3]

El pretratamiento alcalino es típicamente usado en materiales lignocelulósicos con un gran contenido en lignina como la paja de trigo y el bagazo de caña de azúcar. El pretratamiento alcalino es realizado con bases como hidróxido de sodio, calcio, potasio y amonio, ya que son efectivos para modificar la estructura y solubilidad de la lignina.

El uso de un compuesto oxidante en combinación con un pretratamiento alcalino es cada vez más común con el fin de mejorar la digestibilidad de los residuos de los cultivos, en comparación con un pretratamiento alcalino.

El proceso se lleva a cabo normalmente a temperaturas moderadas, utilizando peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) e hidróxido de sodio (NaOH), que conduce a una menor formación de inhibidores para procesos subsecuentes. [4]

En la etapa de hidrólisis enzimática convierte la celulosa en monómeros de glucosa (azúcar de 6

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

En este trabajo se presenta el efecto que tiene la utilización de dos soluciones alcalinas diferentes (NaOH y  $Ca(OH)_2$ ) durante el pretratamiento del bagazo de caña de azúcar para su posterior utilización en la hidrólisis enzimática.

## 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 utilizó un tipo de bagazo de caña de azúcar: crudo/normal.

Primeramente se caracterizó la muestra de bagazo (forma, textura, color, olor, % de humedad y pH), después se puso a secar el bagazo en el horno a una temperatura de  $60^\circ C$  durante 24h y se realizó el tratamiento mecánico de molienda y tamizado hasta tener muestras de distintos tamaños de malla (20, 40 y 60).

### Pretratamiento

Se utilizaron dos tipos de pretratamiento alcalino-oxidativo: con hidróxido de sodio (NaOH) y con hidróxido de calcio ( $Ca(OH)_2$ ).

En el pretratamiento alcalino-oxidativo con hidróxido de calcio se utilizó el bagazo que quedó entre las mallas 40 y 60 para el pretratamiento y menor a la malla 60 para el pretratamiento con hidróxido de sodio. Para cada pretratamiento se utilizó 1 matraz Erlenmeyer de 2 L, una parrilla eléctrica y un agitador magnético. El procedimiento consistió en colocar 60 g de bagazo natural para cada pretratamiento en el matraz Erlenmeyer de 2 L, adicionar 925 ml de agua destilada, 35 ml de NaOH al 50 % y 40 ml de  $H_2O_2$  al 50% para el pretratamiento con hidróxido de sodio, mientras que para el pretratamiento con hidróxido de calcio se le agregaron 90 ml de  $Ca(OH)_2$  al 25% y 40 ml de  $H_2O_2$  al 50%. Esta adición se hizo añadiendo y alternando 10 ml de

NaOH y 10 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y en el pretratamiento con Ca(OH)<sub>2</sub> se alternaron 20 ml de Ca(OH)<sub>2</sub> y 10 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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.

### Hidrólisis Enzimática

#### Sistema Micro- reacción

Para conocer las condiciones óptimas del complejo enzimático Cellic CTec, se llevó a cabo por 1 hora en microtubos a un volumen de 1.5 mL de ambos tipos de bagazo, a una temperatura de 45, 50 y 55 °C; pH de 4, 4.5 y 5; concentración al 1 % p/v, una agitación de 900 rpm y una carga enzimática de 1.5, 3.5, 5.5 y 7.5µL. Transcurrido el tiempo se inactiva la enzima y se prosigue a medir glucosa y xilosa.

Los datos obtenidos son analizados mediante el software estadístico Minitab ver 17, por la metodología de superficie de respuesta, encontrando los valores óptimos de los factores (temperatura, carga enzimática y pH) para luego escalarlos a un sistema de reacción de 0.5 Lde 0.5L.

#### Reactor por lotes de 0.5 L

Se ejecutaron 2 experimentos durante 8 horas(1 para cada tipo de pretratamiento) en un sistema de reacción de un volumen de 0.5 L en reator batch, calentado por una parrilla que contaba con un termopar y motor con agitación mecánica La hidrólisis enzimática se realizó a las condiciones de proceso óptimas, que fueron: una temperatura de 45 °C, pH de 4.5, adición de enzima de 7.5 µL/0.015 gr-bagazo, a una concentración 5 % p/v y una agitación mecánica de 150 rpm. Se tomó muestra cada hora.

### Medición de Glucosa, Xilosa y Azúcares Totales

Para las micro reacciones se llevó a cabo la medición de glucosa y xilosa en el analizador bioquímico YSI 2700 Select, el cual arrojaba los valores en concentración de g/L.

Para el sistema de 0.5 L se realizó la determinación de azúcares totales mediante la técnica de DNS (ácido 3,5 dinitro salicílico) [6].

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la siguiente tabla (Tabla 1) se presentan las propiedades físicas y químicas del bagazo natural utilizado.

Tabla 1: Propiedades del bagazo de caña analizado

Propiedades	Bagazo natural
Forma	Fibras largas y delgadas
Textura	Terrosa
Color	Café claro
Olor	Pasto húmedo
% de humedad	22.5%
pH	6.21

Los datos obtenidos del software estadístico Minitab el cuál analizó los resultados obtenidos en las micro reacciones se presentan en la Tabla 2.

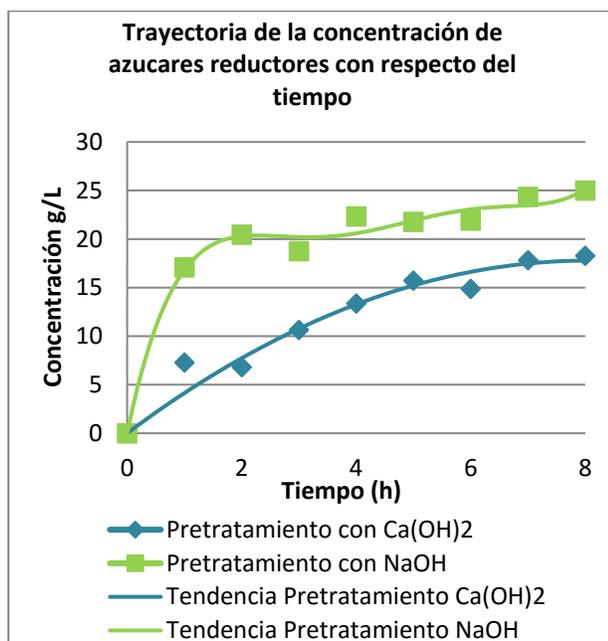
Tabla 2: Valores óptimos para la hidrólisis enzimática

Variable	Valor de configuración
Carga enzimática	7.5
pH	4.6
Temperatura	45

Con los datos obtenidos después del análisis que realizó el software de los resultados de las micro reacciones se esperaba obtener las máxima cantidad de conversión de azúcares reductores después de la hidrolisis enzimática; debido a esto, estos datos son utilizados como condiciones para la hidrólisis enzimática en los reactores de 0.5L.

Con los datos obtenidos de las hidrólisis realizadas en los reactores de 0.5L se puede visualizar la trayectoria que sigue la concentración de azúcares durante el tiempo de reacción de la hidrólisis enzimática. Esta trayectoria puede verse en la Imagen1.

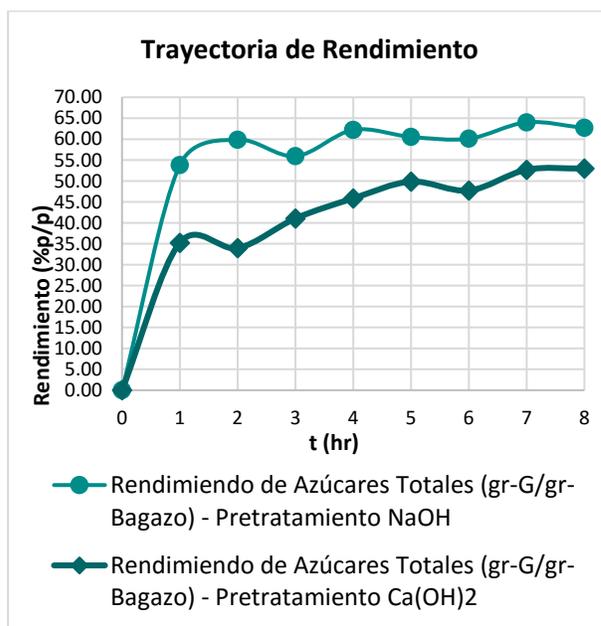
La Tabla 2 muestra el rendimiento de azúcares con respecto a la cantidad inicial de bagazo en peso seco (25 g) con respecto al tiempo.



**IMAGEN 1:** Trayectoria de la concentración de azúcares reductores con respecto del tiempo para los dos tipos de pretratamientos.

Se puede observar que en las dos últimas horas de hidrólisis enzimática, la concentración de azúcares reductores totales no varía demasiado por lo que se puede decir que la reacción ha llegado a su estado estacionario donde a pesar de que transcurra el tiempo la concentración no va a variar demasiado, por este motivo se puede parar la reacción después de este tiempo.

El rendimiento obtenido con respecto a la cantidad de muestra inicial es aproximadamente 10% mayor al utilizar NaOH en el pretratamiento lo cual nos puede indicar que el tipo de álcali utilizado si afecta negativamente a la enzima, otro aspecto por el cual se puede ver esta diferencia en el rendimiento, y de manera general en la concentración de azúcares obtenidos, es al tamaño del bagazo utilizado, debido a que para el pretratamiento con Ca(OH)<sub>2</sub> se utilizó un tamaño de partícula mayor que el utilizado para el pretratamiento con NaOH.



**IMAGEN 2:** Trayectoria del rendimiento respecto al tiempo de reacción de la hidrólisis enzimática para los dos tipos de pretratamiento.

Podría ser conveniente realizar más experimentos utilizando un tamaño de partícula mayor al que se usó para este trabajo para poder observar si se ve influenciada la conversión de azúcares debido al tamaño de partícula y del tipo de álcali que se utiliza en el pretratamiento. Además de que podría monitorizarse la reacción durante un tiempo mayor para poder conocer si después de este tiempo la concentración de azúcares se mantiene muy cercanos a los valores obtenidos después de 8 horas de reacción.

## CONCLUSIÓN

En la literatura se presenta el pretratamiento alcalino-oxidativo como uno de los mejores métodos para deslignificar debido a que la cantidad de inhibidores para las etapas subsecuentes que se generan son mínimos, por lo que resulta interesante conocer el efecto que se puede tener en estas etapas al realizar el pretratamiento con diferentes álcalis; pudiendo observar con los resultados de este trabajo de investigación que si se ve afectada tanto la concentración de azúcares al final de la hidrólisis

como el rendimiento con respecto a la cantidad de materia prima utilizada.

El pretratamiento donde se utilizó en NaOH resultó con una concentración de 24.99 g/L de azúcares reductores totales y un rendimiento del 62.69% con respecto a la cantidad inicial de bagazo.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen 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.

## REFERENCIAS

- [1] Peiyong Q., Ping L., Changjing C., (2016). Effect of dilute alkaline pretreatment on the conversion of different parts of corn stalk to fermentable sugars and its application in acetone–butanol–ethanol fermentation. *Bioresource Technology*. Vol. (211), pp. 117-124
- [2] Cuervo, L., Folch, J. L., Quiroz, R. E., (2009). Lignocelulosa Como Fuente de Azúcares Para la Producción de Etanol. *Bio Tecnología*, Vol (13), pp.11-21.
- [3] Alvarez-Vasco C., Zhang X., (2013). Alkaline hydrogen peroxide pretreatment of softwood: Hemicellulose degradation pathways. *Bioresource Technology*. Vol. (150), pp. 321-327.
- [4] Bolado-Rodríguez S., Toquero C., Martín-Juárez J., (2015). Effect of thermal, acid, alkaline and alkaline-peroxide pretreatments on the biochemical methane potential and kinetics of the anaerobic digestion of wheat straw and sugarcane bagasse. *Bioresource Technology*. Vol. (201), pp. 182-190.
- [5] 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
- [6] Miller, G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, 31, 426-428