

LIBERACIÓN DE XILOSA Y HEMICELULOSAS EN PRETRATAMIENTOS AL BAGAZO DE CAÑA CON EMPLEO DE ÁCIDO CÍTRICO

XYLOSE AND HEMICELLULOSE RELEASE ON SUGARCANE BAGASSE PRETREATMENTS USING CITRIC ACID

Luis Eduardo Guerra-Rodríguez^{1}, Antonio Zuorro², Carmen Rosselló-Mata³
y Erenio González-Suárez⁴*

¹ *Facultad de Ciencias Aplicadas. Universidad Ignacio Agramonte Loynaz, Camagüey. Carretera Circunvalación Norte km 5½. Camagüey, Cuba.*

² *Departamento de Ingeniería Química, Materiales y Ambiente, Universidad de Roma, Vía Eudossiana 18 00184 Roma, Italia.*

³ *Departamento de Química. Universitat de les Illes Balears, España. Carretera Valldemossa km 7½. Palma de Mallorca. España.*

⁴ *Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Química y Farmacia. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Carretera a Camajuani Km 5 ½. Santa Clara, Villa Clara, Cuba.*

Recibido: Diciembre 27, 2017; Revisado: Agosto 16, 2018; Aceptado: Septiembre 17, 2018

RESUMEN

Se evaluaron diferentes condiciones de pretratamiento al bagazo de caña de azúcar con el empleo de ácido cítrico, incorporando a los análisis el factor combinado de severidad como resultado del empleo de las variables temperatura, tiempo y concentración de ácido cítrico. Con ayuda de un cromatógrafo de gases Perkin Elmer-Clarus 400, fueron determinados los niveles de xilosa, glucosa y hemicelulosa que generó cada alternativa de tratamiento, además de evaluar su correlación con el valor del factor de severidad asociado a cada condición y determinándose la recuperación del material inicial. Fue demostrada la linealidad entre: la liberación de xilosa y hemicelulosa, la xilosa y la recuperación del material inicial y entre la hemicelulosa y el factor combinado de severidad, cuyos coeficientes de correlación lineal fueron superiores a 0,75 en todos los casos, con significación estadística superior al 95%. Son reportados tres modelos empíricos que fueron ajustados para predecir la liberación de xilosa, hemicelulosa y la recuperación del material inicial, empleando el factor combinado de severidad y la propia recuperación del material inicial para los dos primeros.

Copyright © 2019. Este es un artículo de acceso abierto, lo que permite su uso ilimitado, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada.

* Autor para la correspondencia: Luis E. Guerra, Email: eduardo.guerra@reduc.edu.cu

Palabras clave: ácido cítrico; bagazo de caña de azúcar; factor combinado de severidad; hemicelulosa; pretratamiento ácido.

ABSTRACT

Different conditions of sugarcane bagasse pretreatment were evaluated using citric acid, considering in further analysis the combined severity factor. Temperature, time and citric acid concentration were used as input variables. In a Gas Chromatographer Perkin Elmer-Clarus 400, the levels of xylose, glucose and hemicellulose were determinate. Initial recovery rate are also determinate for each pretreatment condition in addition to combined severity factor. The linearity was demonstrated between: the release of xylose and hemicellulose, the xylose and initial material recovery and between hemicellulose and combined factor of severity. Linear correlation coefficients were higher than 0.75 in all cases, with statistic significance greater than 95%. Three empirical models are reported that were adjusted to predict the release of xylose, hemicellulose and initial material recovery.

Key words: citric acid; sugarcane bagasse; combined severity factor; hemicelluloses; acid pretreatment.

1. INTRODUCCIÓN

Los residuos lignocelulósicos (RLC) se han reconocido como la principal fuente de carbono disponible para el desarrollo de procesos químicos afirmándose que, técnicamente, la casi totalidad de los materiales obtenidos de combustibles fósiles en la actualidad pueden ser sustituidos vía RLC. El bagazo de caña de azúcar (BCA) es uno de los residuos de cosecha más abundantes en el mundo y en Cuba es la principal fuente de RLC acopiada y disponible para su empleo industrial lo que lo convierte en un valioso recurso para la diversificación de las producciones agroindustriales cubanas (Bhutto et al., 2017). El uso industrial de los RLC y del BCA, particularmente, requiere de uno o varios tipos de pretratamientos antes de poner a disposición de las etapas de reacción y bio-reacción sus principales componentes: hemicelulosa, celulosa y lignina (Galbe y Zacchi, 2012 y Zhu et al., 2016). La eficiencia del pretratamiento es clave en la revalorización de los RLC (Alvira et al., 2010).

Entre los pretratamientos más empleados están los basados en ácidos fuertes y débiles que combinados con factores operacionales como temperatura, concentración y tiempo definen la eficiencia en esta (Manzoor et al., 2012 y Sun et al., 2016). En la actualidad los ácidos clorhídrico y sulfúrico son los más empleados con este fin, desarrollándose aguas abajo etapas de precipitación con la generación de sales que deben gestionarse, altos costos inversionistas, operacionales y ambientales. Diversas investigaciones han revelado la factibilidad del empleo de ácidos orgánicos como pretratamientos para la revalorización de RLC, con similares resultados a los obtenidos con ácidos convencionales (Negro, 1991; Zhang et al., 2016 y Yang et al., 2017).

El ácido cítrico (AC) es uno de los ácidos más comercializados a nivel mundial aproximándose a 1,6 millones de toneladas su producción anual (Bhutto et al., 2017) por lo que se ha manifestado un alto interés por su empleo en nuevas aplicaciones como

detergentes biodegradables, agentes estabilizantes en preparaciones farmacéuticas (Krupavathi y Mangala, 2015), novedosos nanocompuestos (Perera et al., 2015) y en el pretratamiento al BCA (Guerra y col., 2017).

Diferentes autores han identificado el factor combinado de severidad (FCS) como herramienta para cuantificar la magnitud de la intensidad del pretratamiento realizado a los RLC (Monschein et al., 2016 y Brienzo et al., 2017), pero sin relacionarse coherentemente con los resultados de liberación de hemicelulosa y otros componentes de la matriz sólida. La relación del FCS y la liberación de compuestos en el pretratamiento al bagazo de caña con ácido cítrico no ha sido identificada en reportes investigativos, definiéndose como objetivo de este trabajo: determinar relaciones empíricas para la obtención de hemicelulosa y xilosa empleando el FCS y considerando el nivel de recuperación del material inicial según diferentes condiciones de operación.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Condiciones experimentales.

Se determinaron diferentes FCS dadas condiciones prefijadas de los factores temperatura, tiempo y concentración de ácido cítrico (considerando la medición del pH). Posteriormente fueron determinados los carbohidratos liberados (xilosa, hemicelulosas y glucosa) como diferencia entre el valor inicial contenido en el bagazo sin tratar y el existente una vez se realizó el pretratamiento. El experimento elegido fue de superficie de respuesta, con cuatro factores experimentales. El tipo Draper-Lin small composite design fue seleccionado del catálogo del software profesional *Statgraphics Centurion XVI* (Montgomery y Runger, 2003). Este diseño es de tipo factorial fraccionario o Plackett-Burman de al menos Resolución V con puntos estrella añadidos, siendo capaz de determinar relaciones de segundo orden. Fueron determinadas 57 corridas experimentales incluyendo tres puntos centrales por bloque. Con el empleo del software *Statgraphics Centurion XVI* se generaron las combinaciones de factores y niveles a tener en cuenta. La tabla 1 muestra las condiciones del diseño, eligiendo el intervalo para la concentración según Guerra y col. (2017) y el resto de los factores según lo propuesto por Negro (1991) para pretratamientos con ácidos débiles.

Tabla 1. Factores en estudio para el diseño experimental

<i>Factores</i>	<i>Nivel Bajo</i>	<i>Nivel Alto</i>	<i>Continuo</i>
Temperatura (°C)	115,0	135,0	Sí
Tiempo (min)	15,0	75,0	Sí
Concentración de Ácido cítrico (%)	2,0	10,0	Sí
Relación Sólido/Líquido (%)	2,0	10,0	Sí

Se dispusieron, en autoclave y tubo cerrado de 50 ml, 0,5 g de bagazo previamente secado por tres horas a 60 °C y con diámetro de partículas menor de 0,7 mm colectado en la fábrica de azúcar Ignacio Agramonte Loynaz de la provincia de Camagüey, Cuba. Las especies fueron tratadas con ácido cítrico grado analítico según diseño y empleando agua MilliQ para obtener las diluciones requeridas.

2.2. Análisis y determinaciones.

La cuantificación de los carbohidratos se realizó a partir de lo recomendado (Minjares et al., 2016), para la determinación de azúcares neutros por hidrólisis química del material sólido pretratado, estas condiciones permitieron la hidrólisis de toda la glucosa no celulósica (Rodríguez et al., 2011). Los azúcares neutros de las posteriores etapas fueron derivatizados como sus respectivos acetatos de alditol y separados isotérmicamente en cromatógrafo Perkin Elmer-Clarus 400 con columna cromatográfica capilar DB-225 a 220 °C, empleando helio como gas portador y detector NFD y FID con H₂ y aire sintético.

La recuperación del material inicial fue determinada en balanza analítica como diferencia entre el material pesado al comenzar cada caso y el obtenido luego del tratamiento, lavado a pH neutro y secado previamente en estufa a 60 °C por 24 h. La determinación del FCS se realizó considerando las ecuaciones 1 y 2 (Mesa et al., 2017).

$$FCS = \log(Ro) - pH \quad (1)$$

$$\log(Ro) = \log \left(t * \exp \left(\frac{T - T_{ref}}{14,75} \right) \right) \quad (2)$$

donde: FCS (u), Ro (u), t (min), T (°C)

2.3 Determinación de correlaciones y modelos empíricos.

La correlación entre los datos obtenidos y el FCS fue estudiada a partir del producto del momento de Pearson “r” (Montgomery y Runger, 2003) que cuantifica en una escala de -1,0 a +1,0 la magnitud de la relación lineal entre cada pareja de variables estudiadas. Fue realizada una prueba t-Student modificada para este coeficiente validando la hipótesis de que existía un valor de relación poblacional (ρ) diferente de cero para la relación.

Todos los análisis fueron realizados con el software profesional *Statgraphics Centurion XVI*, empleando la herramienta *Múltiple Regression y Non Linear Regression* y un nivel de confianza estadística ($1-\alpha$) igual a 0,95. Luego de realizar las corridas experimentales y determinaciones correspondientes se ajustaron curvas usando diferentes técnicas de análisis de datos y evaluando en cada caso los modelos matemáticos obtenidos según los siguientes criterios (Montgomery y Runger, 2003):

- Coeficiente de determinación ajustado para los grados de libertad (R^2 -ajustado) superior a 95%.
- Error estándar de estimación, menor que 0,50.
- Análisis de varianza que considerara una hipótesis acerca de la falta de ajuste del modelo (*lack-of-fit*) donde la probabilidad de que el modelo no se ajustara a los datos no pudiera verificarse ($p > 0,05$).
- La visualización del comportamiento gráfico del error de la variable estudiada que debía demostrar no tener evidencias de heterocedasticidad.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Luego de realizar las corridas experimentales y determinaciones correspondientes, se exploraron las relaciones entre las variables de interés y se propusieron ajustes de curvas para validar los resultados obtenidos.

La Figura 1 muestra la matriz de correlaciones entre las variables estudiadas, significándose la relación evidentemente lineal entre la liberación de hemicelulosa y xilosa (dado que es su principal componente), igualmente se revela una muy importante relación lineal entre la recuperación del material inicial y la liberación de hemicelulosa y cuya relación explicativa puede ser de mucha utilidad cuando no se cuenta con técnicas analíticas sofisticadas para la determinación de monómeros y se precisa de una evaluación preliminar de la xilosa y hemicelulosa liberada. El FCS, cuya influencia es objetivo fundamental en este trabajo, tiene una notable relación lineal con la liberación de hemicelulosas, xilosa y la recuperación del material inicial. La relación sólido-líquido no muestra relación con los respuestas estudiadas en el intervalo seleccionado.

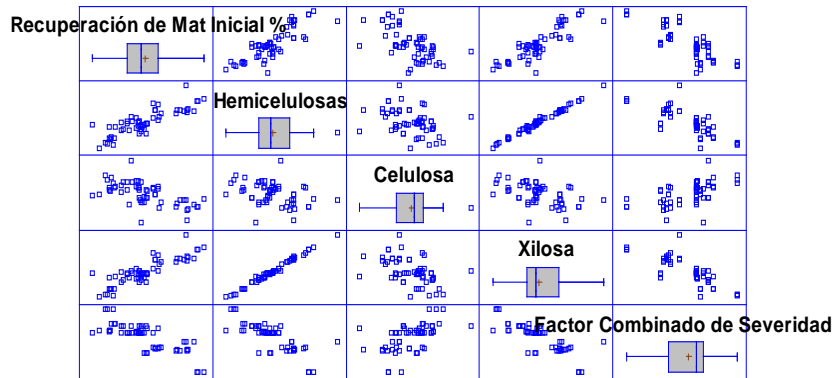


Figura 1. Matriz de correlaciones para las variables estudiadas

3.1 Modelo empírico para relacionar la liberación de xilosa a partir de la recuperación del material inicial.

El modelo ajustado para esta relación se muestra en la ecuación tres, obteniéndose muy alto coeficiente de determinación (99,81%) y bajo error estándar de estimación (0,21). Se grafica el modelo obtenido (Figura 2) evidenciándose su favorable ajuste a los datos experimentales. El análisis de varianza evidencia que no es necesario considerar un mejoramiento del modelo debido a que la probabilidad de que exista falta de ajuste es mayor que 0,05. La Figura 3 muestra una correcta distribución del error experimental, sin apreciarse tendencias evidentes.

$$Xilosa = e^{6,18562 * \text{Recuperación del material inicial}^{0,75}} \quad (3)$$

$$R^2 = 99,81\%$$

donde: Xilosa (mg/g bagazo seco), Recuperación del material inicial (%)

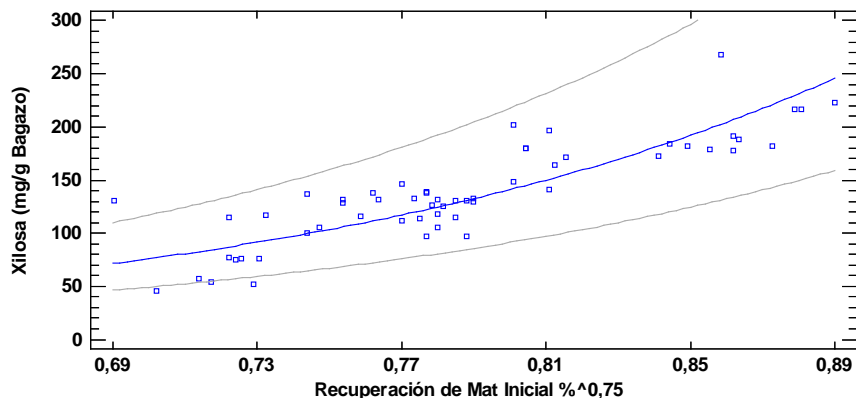


Figura 2. Modelo ajustado para la predicción de xilosa

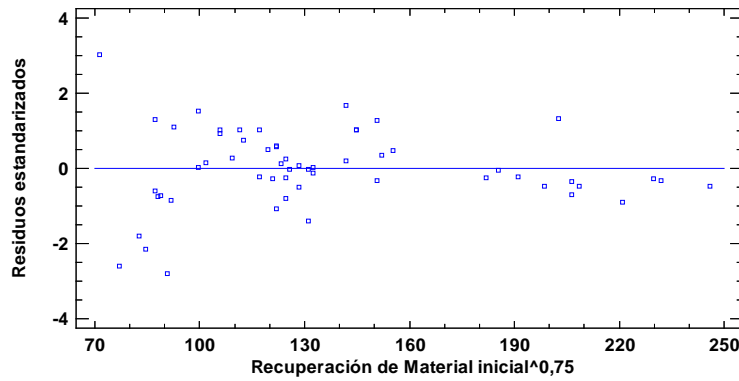


Figura 3. Distribución del error experimental para la predicción de xilosa

3.2. Modelo empírico para relacionar la liberación de hemicelulosa a partir de la recuperación del material inicial.

El modelo ajustado para esta relación se presenta en la ecuación cuatro, mostrando un favorable coeficiente de determinación (99,90 %) y muy bajo error estándar de estimación ($0,9 \cdot 10^{-3}$).

$$Hemicelulosas = e^{6,0455 * Recuperación del material inicial^{0,47}} \quad (4)$$

$$R^2 = 99,92\%$$

donde: Hemicelulosas (mg/g bagazo seco), Recuperación del material inicial (%)

Se grafica el modelo obtenido (Figura 4) evidenciándose su alto ajuste a los datos experimentales. Un análisis de varianza validó que no era necesario considerar nuevas mejoras en el modelo debido a que la probabilidad de que existiera falta de ajuste era mayor que 0,05. La Figura 5 muestra una correcta distribución del error experimental, sin apreciarse tendencias evidentes.

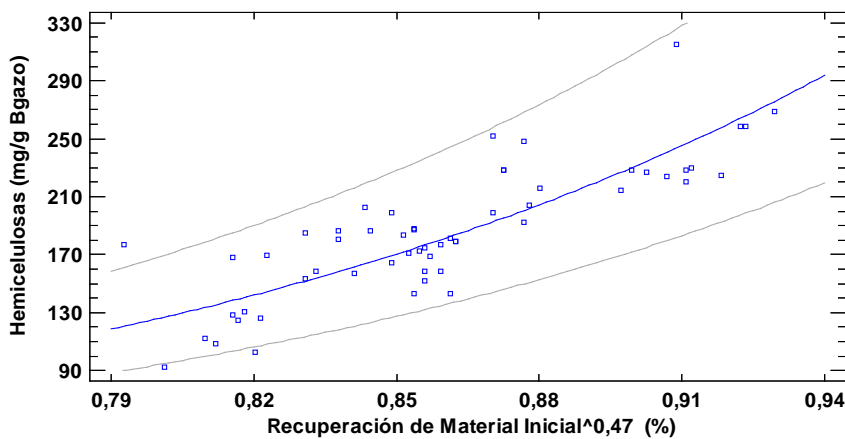


Figura 4. Modelo ajustado para la predicción de hemicelulosas

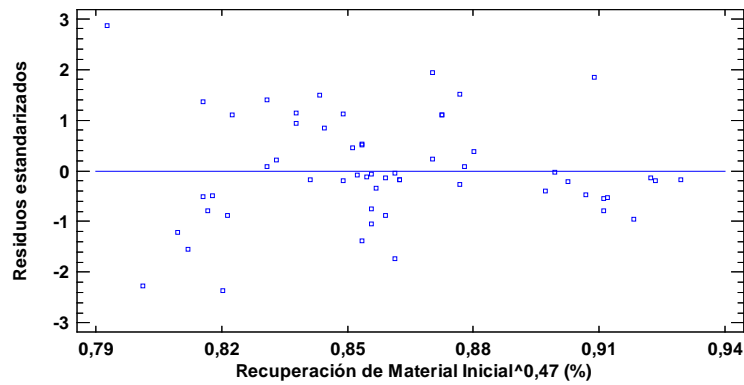


Figura 5. Distribución del error experimental para la predicción de hemicelulosa

3.3. Modelo empírico para relacionar la liberación de hemicelulosa a partir del FCS.

El modelo ajustado para esta relación se presenta en la ecuación cinco, mostrando buen coeficiente de determinación (97,23 %) y bajo error estándar de estimación ($0,3 \cdot 10^{-3}$).

$$Hemicelulosas = \frac{1}{(0,002408 * (\sqrt[2]{e^{FCS}}))} \quad (5)$$

$$R^2 = 97,23\%$$

donde: Hemicelulosas (mg/g bagazo seco), FCS (u)

Se grafica el modelo obtenido (Figura 6) evidenciándose su favorable ajuste a los datos experimentales. En este modelo se hizo evidente que es necesario introducir nuevas variables debido a que la probabilidad de que exista falta de ajuste es menor que 0,05; este último resultado hace recomendar el uso discreto de esta ecuación aún en el intervalo de trabajo en que fue estudiada y valida el interés de generar categorías de análisis para operacionalizar la liberación de azúcares fermentecibles con el empleo del FCS dada la incertidumbre mostrada para la determinación precisa. La Figura 7 muestra una favorable distribución del error experimental, sin apreciarse tendencias evidentes aunque existen cuatro puntos que contribuyen a la distorsión de los resultados anteriormente comentados.

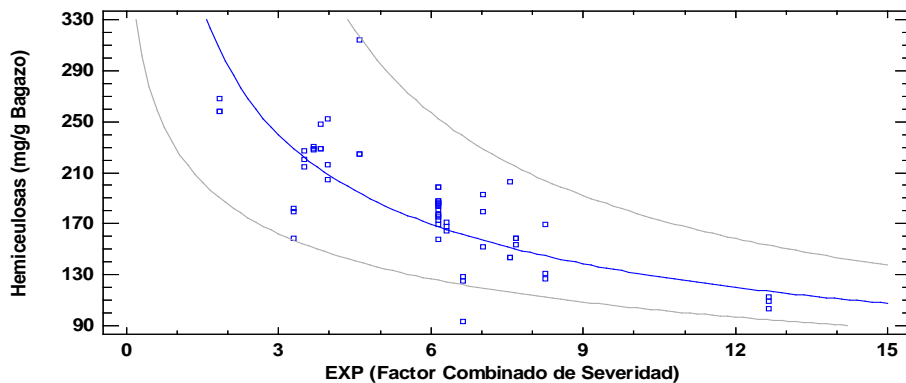


Figura 6. Modelo ajustado para la predicción de hemicelulosas

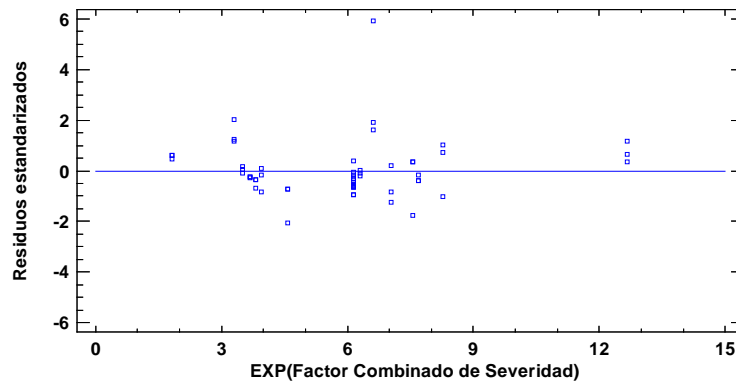


Figura 7. Distribución del error experimental para la predicción de hemicelulosa

Los modelos empíricos obtenidos responden a las condiciones de liberación de monómeros de interés en el bagazo de caña tratado, novedosamente, con ácido cítrico y no pudieron identificarse referentes comparables con literatura previa. Se libera el 62,4% de la xilosa y el 71,5% de la hemicelulosa contenida en el material lo cual puede contribuir al diseño de alternativas industriales ambientalmente más favorecedoras que las actuales que emplean ácidos inorgánicos (Guerra-Rodríguez y col., 2017). La alta reactividad de los ácidos sulfúrico y clorhídrico obliga al empleo de reacciones químicas posteriores al pretratamiento industrial del bagazo, con el incremento de los costos inversionistas, operacionales y medioambientales. Esta recuperación es posible realizarla por contacto líquido-líquido si se emplea AC (Krupavathi y Mangala, 2015) o por medio de contacto sólido-líquido según recientes reportes (Guerra-Rodríguez y col., 2018), revelando importantes aplicaciones prácticas a los resultados que se reportan en esta investigación.

4. CONCLUSIONES

1. Es posible solubilizar xilosa y hemicelulosa del bagazo de caña de azúcar a partir del empleo de ácido cítrico como agente de pretratamiento, generándose así una alternativa novedosa que permite sustituir los ácidos fuertes empleados en la actualidad.
2. Dos modelos empíricos ajustados contribuyen a la predicción de xilosa y hemicelulosa a partir del empleo de la recuperación del material inicial. Más del 99,8% de la variabilidad de las respuestas logra ser interpretada por los modelos propuestos lo que demuestra su potencia explicativa para ser empleados en la práctica ingenieril. Ambos modelos tienen como beneficio adicional el uso de la recuperación del material inicial como única variable independiente, lo que unido a la simplicidad en su determinación, los provee de utilidad adicional.
3. Fue ajustado un tercer modelo que relaciona la liberación de hemicelulosas con el FCS, que debe ser empleado conservadoramente dentro del rango experimental trabajado aunque se reporta para el mismo un alto coeficiente de regresión, explicando más del 97,2% de la variabilidad en las mediciones de hemicelulosa obtenidas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer el apoyo financiero, material y formativo brindado por la Universitat de les Illes Balears a partir de la iniciativa de proyectos de Cooperación Universitaria al Desarrollo referencia OCDS-CUD2016/09 otorgada a la Universidad de Camagüey, Cuba en el marco de la XIII convocatoria de proyectos CUD 2016.

REFERENCIAS

- Alvira, P., Tomás-Pejó, E., Ballesteros, M. & Negro, M.J., Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production processes based on enzymatic hydrolysis: A Review., *Bioresource Technology*, Vol. 101, No. 13, 2010, pp. 4851-4861.
- Bhutto, A.W., Qureshi, K., Harijan, K., Abro, R., Abbas, T., Bazmi, A.A., Karim, S. & Yu, G., Insight into progress in pre-treatment of lignocellulosic biomass., *Energy*, Vol. 122, March, 2017, pp. 724-745.
- Brienzo, M., Fikizolo, S., Benjamin, Y., Tyhoda, L. & Görgens, J., Influence of pretreatment severity on structural changes, lignin content and enzymatic hydrolysis of sugar cane bagasse samples., *Renewable Energy*, Vol. 104, April, 2017, pp. 271-280.
- Galbe, M., & Zacchi, G., Pretreatment: The key to efficient utilization of lignocellulosic materials., *Biomass and Bioenergy*, Vol. 46, November, 2012, pp. 70-78.
- Guerra-Rodríguez, L.E., Ferrer, H.O., Pérez-Martínez, A., Rossello-Matas, M.C., Simal-Florindo, S. and González-Suárez, E., Empleo de un ácido débil para el pretratamiento de residuos lignocelulósicos agroindustriales: una opción sostenible de diversificación., *Memorias del XIV Congreso Internacional sobre Azúcar y Derivados. DIVERSIFICACIÓN 2017*, La Habana, Recinto Ferial PABEXPO, La Habana, Cuba junio 2017, Cuba.
- Guerra-Rodríguez, L.E., Ventura-Muñoz, M.G., Carbajal-Arízaga, G.G., Rosselló-Matas, C. y González-Suárez, E., Nanopartículas de hidróxido de aluminio con estructura de bayerita en un proceso de producción de ácido cítrico., *Centro Azúcar*, Vol. 45, No. 2, 2018, pp. 68-75.
- Krupavathi, M. and Mangala, D.S., Production of Citric Acid - A Short Review., *International Journal of Development Research*, Vol. 5, No. 4, 2015, pp. 4002-4006.
- Manzoor, A., Zia-Ullah, K., Hussain, A., Uzma, Ahmad, Sh., Qurat-ul-Ain, S. & Baig, S., Diluted sulfuric acid: a cheap acid for optimization of bagasse pretreatment., *Science International (Lahore)*, Vol. 24, No. 1, 2012, pp. 41-45.
- Mesa, L., Martínez, Y., Barrio, E., & González, E., Desirability function for optimization of diluted acid pretreatment of sugarcane straw for ethanol production and preliminary economic analysis based in three fermentation configurations., *Applied Energy*, Vol. 198, No. 15, 2017, pp. 299-311.
- Minjares, R., Femenia, A., Garau, M.C., Candelas, M.G., Simal, S., & Rossello, C., Ultrasound assisted extraction of hemicelloses from grape pomace using response surface methodology., *Carbohydrate Polymers*, Vol. 138, No. 15, 2016, pp. 180-191.
- Monschein, M., & Nidetsky, B., Effect of pretreatment severity in continuous steam explosion on enzymatic conversion of wheat Straw: Evidence from kinetics analysis

- of hydrolysis time courses., *Bioresource Technology*, Vol. 200, January, 2016, pp. 287-296.
- Montgomery, D.C. & Runger, G.C., *Applied statistic and probability for engineers.*, Third Edition, John Wiley & Sons, Inc. 2003, pp. 506-555.
- Negro, M. J., *Degradación enzimática de la biomasa de Onopordum nervosum Bois.*, Tesis presentada en opción al grado de Doctor en Ciencias, Universidad Complutense de Madrid, España, 1991.
- Perera, J., Weerasekera, M. and Kottegoda, N. Slow release anti-fungal skin formulations based on citric acid intercalated layered double hydroxides nano hybrids. *Chemistry Central Journal*, Vol. 9, No. 27, 2015.
- Rodríguez, V.M., Femenia, A., González, R.F., Rocha, N.E., Gallegos, J.A., Candelas, M.G., Ramírez, P., Simal, S. & Rosselló, C., Effects of pasteurization on bioactive polysaccharides acemannan and cell wall polymers from *Aloe barbadensis* Miller., *Carbohydrate Polymers*, Vol. 86, No. 4, 2011, pp.1675-1683.
- Sun, S., Sun, S., Cao, X. & Sun, R., The role of pretreatment in improving the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials., *Bioresource Technology*, Vol. 199, January, 2016, pp. 49-58.
- Yang, L., Lübeck, M. & Lübeck, P.S., *Aspergillus* as a versatile cell factory for organic acid production., *Fungal Biology Reviews*, Vol. 31, No. 1, 2017, pp. 33-49.
- Zhang, K., Pei, Z., & Wang, D., Organic solvent pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuel and biochemical: A review., *Bioresource Technology*, Vol. 199, January, 2016, pp. 21-33.
- Zhu, Z., Liu, Z., Zhang, Y., Li, B., Lu, H., Duan, N., Si, B., Shen, R. & Liu, J., Recovery of reduced sugars and volatile fatty acids from cornstalks at different hydrothermal treatment severity., *Bioresource Technology*, Vol. 199, January, 2016, pp. 220-227.