

ENSAYOS PRELIMINARES DE DESLIGNIFICACIÓN DE ASERRÍN DE ALGARROBO NEGRO, EN VISTAS A LA PRODUCCIÓN EFICIENTE DE AZÚCARES FERMENTABLES

E.P. Dagnino¹, C. Ruiz¹, E. Chamorro¹

¹Centro de Investigación en Química Orgánica Biológica, Instituto de Modelado e Innovación Tecnológica (UTN, CONICET-UNNE), Facultad Regional Resistencia, Universidad Tecnológica Nacional, C.P. 3500-Chaco e-mail: pdagnino@frre.utn.edu.ar

Recibido 16/08/18, aceptado 02/10/18

RESUMEN: Las biorrefinerías industriales han sido identificadas como las rutas más prometedoras para la creación de una bioeconomía sustentable. En este marco se realizaron ensayos preliminares de deslignificación organosolv de aserrín de algarrobo negro para obtener el rango de las variables a optimizar en estudios posteriores, en vistas de obtener holocelulosa (celulosa más hemicelulosas) listas para la etapa de hidrólisis y fermentación para la producción de bioetanol. La separación secuencial se realizó en dos etapas, la primera consistió en el lavado con agua, en la segunda etapa se aplicó un proceso soda-etanol-agua, que puede definirse como un proceso de soda aditivado con etanol, que muestra ventajas significativas sobre el proceso de soda-antraquinona para el fraccionamiento de materiales lignocelulósicos. Se encontró que la materia prima más adecuada es el aserrín libre de taninos, gracias al proceso de lavado. Luego, se definió el rango de las variables hidróxido de sodio y relación etanol:agua para la posterior optimización.

Palabras clave: biorrefinería, azúcares fermentables, deslignificación, aserrín de algarrobo negro.

INTRODUCCION

Las biorrefinerías industriales han sido identificadas como las rutas más prometedoras para la creación de una bioeconomía sustentable. Estos sistemas pueden mejorar mediante la optimización en la utilización de los residuos, desarrollo de procesos y el aumento de valor agregado total, creación de múltiples productos y combustibles basados en la biomasa, en lugar de utilizar la biomasa como una fuente de energía directa (Plaza y Wandzich, 2016).

A través de un proceso de biorrefinería aplicado a residuos lignocelulósicos se logra el aprovechamiento integral del mismo. A partir de diferentes etapas de procesamiento se consigue la separación de los componentes estructurales principales, la celulosa, las hemicelulosas, la lignina e inorgánicos, que pueden ser utilizados como materia prima para la producción de bio-productos de mayor valor.

El cuidado del ambiente se ha convertido en uno de los focos de atención de la sociedad en su conjunto y por ello, la producción industrial se hace más competitiva a través de la utilización de tecnologías avanzadas y recursos renovables. En este contexto, la posibilidad de reciclar, reutilizar, hacer del descarte un recurso y recurrir a las bioenergías, representa un tema de fundamental importancia en la economía de algunos sectores industriales (Area y Vallejos, 2012). Las biorrefinerías están destinadas a cumplir un rol central, tanto en lo que hace a la complementación de fuentes energéticas como al aprovechamiento integral de la biomasa. Esto representa una importante oportunidad de desarrollo para nuestro país, que debería orientarse hacia la diversificación de la producción vegetal y animal, así como hacia el incremento de la calidad y el valor agregado de la actividad agroindustrial (Zalazar y Cárdenas, 2012). Argentina tiene una importante disponibilidad de materias primas para producir biocombustibles, principalmente si se les presta atención a los residuos generados por la agroindustria. Estos pueden convertirse en materias primas para la producción de

bioetanol, pero para que cierre el balance económico deben ser aprovechados todos los componentes de los mismos.

El algarrobo negro (*Prosopis Nigra*) es un árbol leguminoso de Sudamérica que habita la ecorregión del Gran Chaco (en particular, la zona de transición entre el Chaco Húmedo y el Chaco del Sudeste), en Argentina, Bolivia, Paraguay y Uruguay. Es conocido como algarrobo negro, algarrobo dulce, algarrobo morado y algarrobo amarillo. Principalmente en la provincia del Chaco (Argentina) existe abundante producción de algarrobo negro, siendo su principal mercado consumidor el de muebles y aberturas, utilizando del 20 al 30% del árbol el resto es residuos que se lo destina para diferentes fines. Se estima que en el Chaco se procesan mensualmente 28.000 tn de maderas y que la producción diaria de desperdicios es de 70 tn (Cuadra, 2012).

En el marco del aprovechamiento integral de la biomasa lignocelulósica, en particular el aserrín de algarrobo negro, en el presente trabajo se realizaron ensayos preliminares de deslignificación organosolv para conocer el rango de las variables a optimizar en estudios posteriores, en vistas de obtener holocelulosa (celulosa más hemicelulosas) listas para la etapa de hidrólisis y fermentación para la producción de bioetanol. La separación secuencial se realizó en dos etapas, la primera consistió en el lavado con agua, en la segunda etapa se aplicó un proceso soda-etanol-agua, que puede definirse como un proceso de soda aditivado con etanol, que muestra ventajas significativas sobre el proceso de soda-antraquinona para el fraccionamiento de materiales lignocelulósicos (Dagnino et al., 2017). La lignina se recuperó del licor por disminución de pH.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materias Primas e insumos

Se utilizó aserrín de algarrobo negro (*Prosopis nigra*; AAN) como materia prima de estudio, la cual fue proporcionada por una industria maderera de la ciudad de Resistencia-Chaco. El tamaño de la materia prima se determinó mediante el método de alimentación, rechazo y tamizado. Luego, se lavó minuciosamente con agua deionizada a temperatura de ebullición, se agitó durante dos minutos y se filtró sobre un tamiz de 100 μm . La muestra lavada se secó a temperatura ambiente durante 48 h. Finalmente, el serrín de algarrobo negro lavado (AANL) y el material no lavado se caracterizaron por las técnicas descritas en la sección de caracterización y se almacenaron en un recipiente cerrado a temperatura ambiente hasta su uso posterior.

Caracterización de la materia prima y productos de reacción

La caracterización de la biomasa lignocelulósica se llevó a cabo, principalmente, de acuerdo con las normas estándar del Laboratorio de Procedimiento Analítico, Informes Técnicos (NREL/TP). Consistió en la determinación de: **a.** Contenido de humedad y / o sustancias volátiles, usando una balanza analítica preparada para determinar el contenido de humedad, **b.** Contenido de sustancias extraíbles solubles en agua y etanol, según la norma estándar NREL/TP 510-42621, **c.** Contenido de glucanos y xilanos, según el estándar NREL / TP-510-42618. La muestra sólida se hidrolizó en dos etapas, usando 72% y 4% de solución de ácido sulfúrico durante 1 hora a 30°C y 121°C, para el primer y segundo paso, respectivamente. La fracción líquida de hidrólisis se analizó por HPLC (Shimadzu), con una columna RezexTM RHM-Monosacárido H+ (8%) (phenomenex) con las siguientes condiciones cromatográficas: 4mM H₂SO₄ como fase móvil, caudal de 0,6 ml/min, 55°C y con detectores de índice de refracción y UV. **d.** Contenido de lignina, según el estándar NREL / TP-510-42618. Para este propósito, se utilizó la fracción sólida del método detallado en el punto **c.** y se calcinó en mufla a 575°C durante 2 horas. Todos los resultados se expresaron como un porcentaje en base seca (% ODW).

El sólido pretratado se caracterizó de la misma manera, excluyendo la determinación de sustancias extractivas en agua y alcohol. El líquido de pretratamiento se caracterizó por la determinación del contenido de azúcar (glucosa, xilosa, arabinosa) y productos de degradación: ácidos orgánicos (acético), furfural y 5-hidroximetilfurfural (HMF).

Pretratamiento con ácido

El AANL libre de hemicelulosas se obtuvo mediante pretratamiento con ácido diluido. El AANL se mezcló con una solución de ácido sulfúrico de 1,2% p/v, a 152°C durante 10 minutos; la mezcla se coloca en el reactor y se calienta con vapor a 152°C (5atm de presión de vapor). Luego, el calentamiento se detiene y el sólido se separa del líquido en caliente. Este procedimiento está de acuerdo con el proceso optimizado para AANL detallado en un trabajo previo (Dagnino et al., 2013).

Ensayos preliminares de deslignificación

Se llevaron a cabo una serie de tratamientos organosolv con y sin catalizadores. Los resultados serán aprovechados en futuras investigaciones, para seleccionar la metodología de deslignificación y los niveles de las variables a optimizar. Las condiciones preliminares de los ensayos realizados se muestran en la Tabla 1. Estas pruebas se realizaron sobre el AANL libre de hemicelulosas (prueba 2 a 10) y AANL (prueba 1, 11, 12), se realizaron ensayos sin químicos, con NaOH y con H₂SO₄, se varió también la relación etanol agua utilizada (EtOH:H₂O) y el tiempo de reacción.

Trial	Tratamiento ácido* Si/no	Químicos	EtOH:H₂O	T°C	%sólidos	Tiempo min
1	No	-	-	-	-	-
2	Si	-	-	-	-	-
3	Si	-	50:50	160	10	60
4	Si	2%NaOH	50:50	160	10	60
5	Si	10%NaOH	50:50	160	10	60
6	Si	15%NaOH	0:100	160	10	60
7	Si	18%NaOH	50:50	160	10	60
8	Si	25%NaOH	50:50	160	10	60
9	Si	1%NaOH	50:50	160	10	120
10	Si	0,15% H ₂ SO ₄	50:50	160	10	120
11	No	8%NaOH	50:50	160	10	60
12	No	25%NaOH	50:50	160	10	60

Tabla 1: Condiciones preliminares de tratamientos de deslignificación química.

Los fraccionamientos organosolv se llevaron a cabo en un reactor de acero inoxidable AISI 316 de 180 ml. El reactor se sumergió en el baño de silicona líquida a 160°C durante 60 minutos, en una proporción de 10% de sólidos, sin agitación. Después del tiempo de reacción, el reactor se colocó en un baño de agua fría. Las mezclas líquido-sólido se filtraron mediante un tamiz de malla 150 y los sólidos pretratados se lavaron repetidamente con agua desionizada para eliminar la solución restante. Los sólidos se enfriaron a 4°C hasta la caracterización. Se determinaron las concentraciones de lignina, carbohidratos e inorgánicos en la fracción sólida.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de las Materias Primas

La composición del aserrín original de algarrobo negro, el AAN y el lavado AANL libre de hemicelulosas se muestran en la Tabla 2. Como puede observarse en esta Tabla el proceso de lavado disminuye de forma importante la concentración de sustancias solubles en agua, que pueden entorpecer las reacciones siguientes. Esta disminución de la concentración de extractivos produce un aumento en la concentración de lignina de aproximadamente 19% a 36,6%, debido a que las proporciones se encuentran expresadas como porcentaje en base seca. Sin embargo, la concentración de inorgánicos disminuye levemente, debido probablemente a la solubilización de algunos minerales provenientes de suciedades que pudieron acompañar a la muestra. Luego, en el pretratamiento ácido se logran extraer a las hemicelulosas (xilanos y arabanos), el restante de los extractivos y, debido a que es un tratamiento ácido, se extrae también la proporción de lignina soluble en ácido.

	AAN	AANL	AANL - sin hemicelulosas
Extractivos	17,6	3,3	-
Lignina total	31,2	36,6	45,1
Lignina ácido soluble	0,5	0,4	-
Lignina ácido insoluble	30,7	36,2	45,1
Inorgánicos	2,8	1,8	0,18
Carbohidratos totales	48,4	53,8	-
Glucanos	34,1	37,5	54,0
Xilanos	12,6	14,8	-
Arabanos	1,7	1,5	-
Otros (por diferencia)	0,3	4,5	-

Tabla 2. Composición expresada %OD de aserrín de algarrobo negro (AAN), aserrín de algarrobo negro lavado (AANL) y aserrín de algarrobo negro lavado libre de hemicelulosas (AANL sin hemicelulosas).

Ensayos preliminares

Se realizaron ensayos utilizando aserrín de algarrobo con distintos tratamientos, las concentraciones se expresan como porcentaje en peso seco (%OD) de lignina remanente en el sólido pretratado, la concentración de lignina remanente en el sólido pretratado en función a los diferentes tratamientos que se muestran en la Tabla 1, pueden observarse en la Figura 1. Como puede verse, el tratamiento Soda-etanol-agua partiendo de AANL libre de hemicelulosas no llegó a buenos resultados. Se evaluaron concentraciones de NaOH entre 0 y 25%OD y, la lignina remanente en el sólido pretratado, se mantuvo entre 33,02% y 36,57% en base seca referido al sólido pretratado.

Adicionalmente, se evaluó el efecto de un tratamiento etanol-agua catalizado con ácido sulfúrico (0,01M), obteniéndose un sólido con 37,91% de lignina remanente y un 28,04% de deslignificación, considerando que AANL libre de hemicelulosas presenta un 45% de lignina inicial. Por lo que, la catálisis ácida tampoco arrojó buenos resultados sobre la deslignificación de AANL libre de hemicelulosas. Además, se llevaron a cabo ensayos con tratamientos sucesivos. Es decir, se pretrató AANL libre de hemicelulosas con el tratamiento soda-etanol-agua con 3 y 6% de NaOH por una hora y luego se renovó el licor y se trató una hora más obteniendo un sólido con 37,0% de lignina en ambos casos y en ambas etapas de proceso.

Con los resultados encontrados sobre AANL sin hemicelulosas, se comienza a inferir que el tratamiento ácido para la obtención de AANL libre de hemicelulosas genera algún tipo de resistencia a la liberación de la lignina. Existen investigaciones que demuestran que se forman huminas (o pseudo-lignina) por la condensación de lignina y furanos de monosacáridos en condiciones de reacción ácida (Yoon et al., 2014). Además, según Li y Lundquist, la difícil eliminación de lignina luego de tratamientos térmicos intensos es provocada por la repolimerización de lignina a través de la formación de un intermediario de ion carbonio, que promueve la formación de nuevos enlaces (Li et al., 2000). Asimismo, se ha demostrado la mejora en la extractabilidad de la lignina cuando se realizó la autohidrólisis en presencia de captadores de iones de carbono como 2-naftol (Wayman y Lora, 1978). Este estudio explica la disparidad entre las tasas de escisión de enlaces β -O-4 observadas en experimentos de compuestos modelo y pretratamiento ácido de biomasa, e implica que la despolimerización de lignina durante el pretratamiento catalizado por ácido o fraccionamiento se realizará a través de un mecanismo heterolítico de descompresión en el que los enlaces β -O-4 se escinden de los extremos fenólicos de cadenas poliméricas ramificadas hacia el interior del núcleo del polímero (Sturgeon et al., 2014).

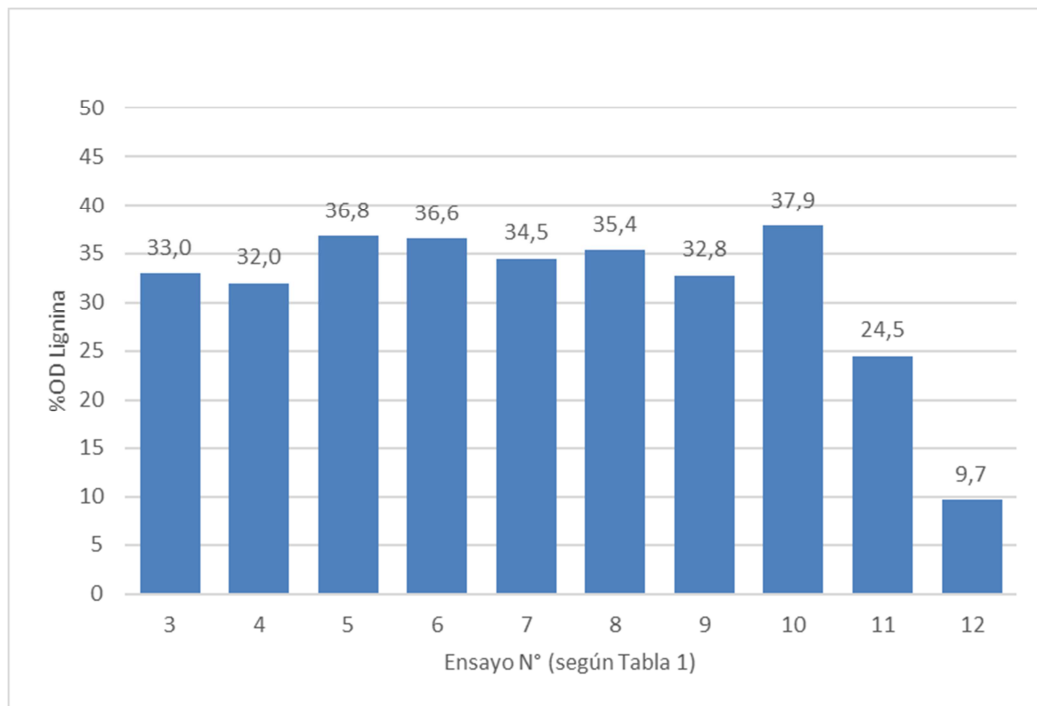


Figura 1: contenido de lignina residual, expresado como porcentaje en base seca %OD, en los sólidos pretratados según ensayos de Tabla 1.

Debido a los resultados obtenidos con AANL libre de hemicelulosas, se realizaron ensayos de preliminares con AANL sin tratamiento ácido. Se estudiaron procesos de deslignificación soda-etanol-agua con concentraciones de 25% y 8% de NaOH, obteniéndose un sólido con 9,73% y 24,5% de lignina residual, respectivamente. Al observar una mejora importante en la deslignificación de AANL, se seleccionó el proceso soda-etanol sobre AANL como tratamiento para ser optimizado en próximos trabajos de investigación.

Con los resultados obtenidos se concluye que se optimizará el proceso organosolv etanol- agua con hidróxido de sodio, utilizando como materia prima al aserrín de algarrobo lavado. El rango de optimización será para la variable hidróxido de sodio de 10 a 20% en peso de la materia prima y 50:50 a 60:40 la relación etanol:agua.

CONCLUSIONES

Se realizaron estudios de campo sobre aserrín de algarrobo con diferentes tratamientos para lograr la deslignificación y con ello obtener la fracción de holocelulosa libre y lista para la etapa de hidrólisis y fermentación para la obtención de azúcares fermentables y con ello, el bietanol.

Se encontró que la materia prima más adecuada es el aserrín que cuenta solo con la extracción de los taninos gracias al proceso de lavado. Luego, se definió el rango de las variables hidróxido de sodio y relación etanol:agua para la posterior optimización, siendo para la variable hidróxido de sodio de 10 a 20% en peso de la materia prima y 50:50 a 60:40 la relación etanol:agua.

REFERENCIAS

- Area, M. C., & Vallejos, M. E. (Eds.). (2012). *Biorrefinería a partir de residuos lignocelulósicos: Conversión de residuos a productos de alto valor*. Editorial Académica Española. ISBN 978-3-659-05295-8.
- Cuadra, D. E. (2012). *Industria maderera y vulnerabilidad socioambiental: el caso de Machagai en el centro del Chaco*. En A. M. H. Foschiatti, (Ed.), *Escenarios vulnerables del Nordeste Argentino*. (pp. 315-336). Resistencia, Chaco. UNNE - CONICET.

- Dagnino, E. P., Chamorro, E. R., Romano, S. D., Felissia, F. E., & Area, M. C. (2013). Optimization of the Pretreatment of *Prosopis nigra* Sawdust for the Production of Fermentable Sugars. *BioResources* 8(1):499-514.
- Dagnino, E. P., Chamorro E. R., Romano S. D., Felissia F. E., Area M. C. (2017). Optimization of the soda-ethanol delignification stage for a rice husk biorefinery. *Industrial Crops and Products*. 97:156-165.
- Li, S., Lundquist, K., & Westermark, U. (2000). Cleavage of arylglycerol β -aryl ethers under neutral and acid conditions. *Nordic Pulp & Paper Research Journal*, 15(4):292-299.
- Lora, J. H., & Wayman, M. (1978). Delignification of hardwoods by autohydrolysis and extraction. *Tappi*, 61(6), 47-50.
- Plaza, G. A., & Wandzich, W. (2016). Biorefineries-new green strategy for development of smart and innovative industry. *Management Systems in Production Engineering*. 3:150-155.
- Sturgeon, M. R., Kim, S., Lawrence, K., Paton, R. S., Chmely, S. C., Nimlos, M., Foust, T. Beckham, G. T. (2013). A mechanistic investigation of acid-catalyzed cleavage of aryl-ether linkages: Implications for lignin depolymerization in acidic environments. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2(3): 472-485.
- Yoon, S.Y. & Shin, S.J. (2014). The effect of hemicelluloses and lignin on acid hydrolysis of cellulose. *Energy*. 77:19-24.
- Zalazar, R., & Cárdenas, G. (2012). *Bioeconomía y biorrefinerías*. Argentina: Proyectos Agroindustriales. Disponible en www.eeaoc.org.ar/upload/publicaciones/archivos/356/20131204115302000000.pdf (NREL) American National Renewable Energy Laboratory de 2007.

ABSTRACT: Industrial biorefineries have been identified as the most promising routes for the creation of a sustainable bioeconomy. In this framework, preliminary tests of organosolv delignification of black carob tree sawdust were carried out to obtain the range of variables to be optimized in subsequent studies, in order to obtain holocellulose (cellulose plus hemicelluloses) ready for the hydrolysis and fermentation stage for the production of bioethanol. The sequential separation was carried out in two stages, the first one consisted in washing with water, in the second stage a soda-ethanol-water process was applied, which can be defined as a soda process with ethanol, which shows significant advantages over the soda-anthraquinone process for the fractionation of lignocellulosic materials. It was found that the most suitable raw material is the tannin-free sawdust, thanks to the washing process. Then, the range of the variables sodium hydroxide and ethanol: water ratio was defined for the subsequent optimization.