

**Valorización integral de biomasa
agroalimentaria mediante fluidos
presurizados.**

Estudio de caso: bagazo de cerveza

**Área de Ingeniería Química
Universidad de Burgos**
Septiembre, 2019



ÍNDICE

INTRODUCCIÓN

OBJETIVO

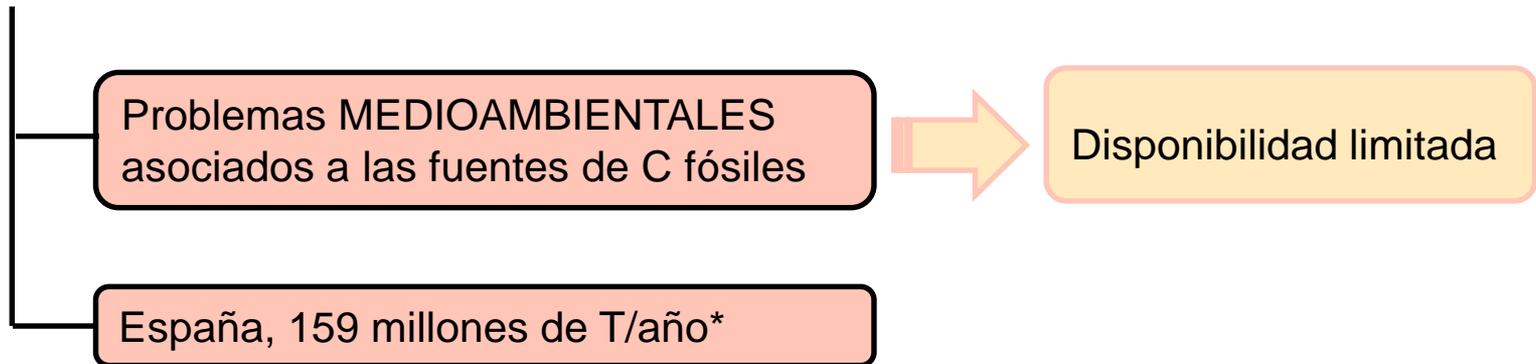
RESULTADOS

- VALORIZACIÓN DE EXTRACTABLES.
- CO₂-SC: VALORIZACIÓN DE LA FRACCIÓN LIPÍDICA
- AGUA PRESURIZADA: VALORIZACIÓN DE LA FRACCIÓN PROTEICA, POLIFENOLES E HIDRATOS DE CARBONO

CONCLUSIONES

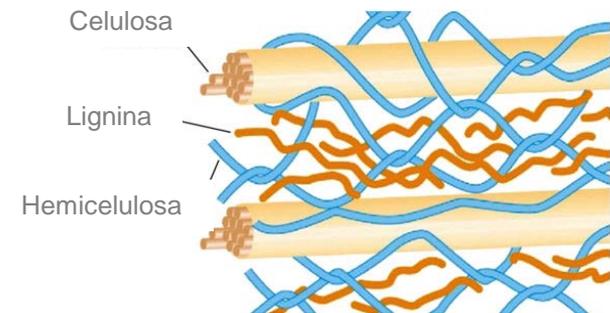
INTRODUCCIÓN

- Empleo de biomasa como recurso para la obtención de diferentes productos.



- La composición de la biomasa depende del tipo de materia prima:

- Extractivos/Lípidos
- Carbohidratos
- Lignina
- Proteína



INTRODUCCIÓN

Selección de la biomasa



Residuos del maíz



Subproductos del trigo



Hojas y ramas



Residuos ganadería



Residuos alimentos

- **Coste** (transporte, estabilización, almacenaje, pretratamiento..)
- **Disponibilidad**



Procesos de fraccionamiento

- Mecánicos
- Químicos
- Biológicos



Obtención de bioproductos



Biocombustibles



Bioplásticos



Textil



Productos químicos



Bioenergía

Alimentación

CONFIGURACIÓN DE UNA BIOREFINERÍA

INTRODUCCIÓN

Selección de la biomasa



Procesos de fraccionamiento



Obtención de bioproductos

Residuos agroalimentarios



Biomasa marina

- SALVADO DE TRIGO Y ARROZ
- HOJAS DE OLIVO
- PIELES DE CEBOLLA
- BAGAZO DE CERVEZA

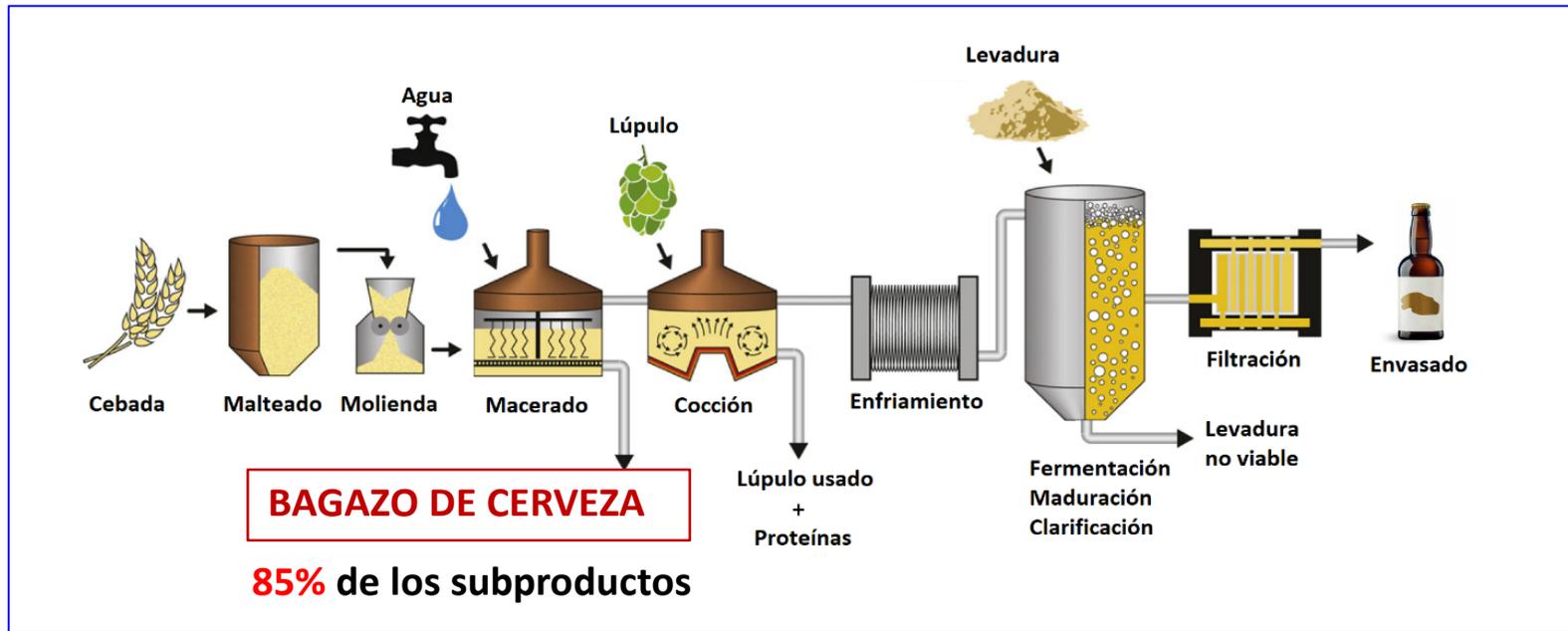


Biomasa lignocelulósica (2ª generación)

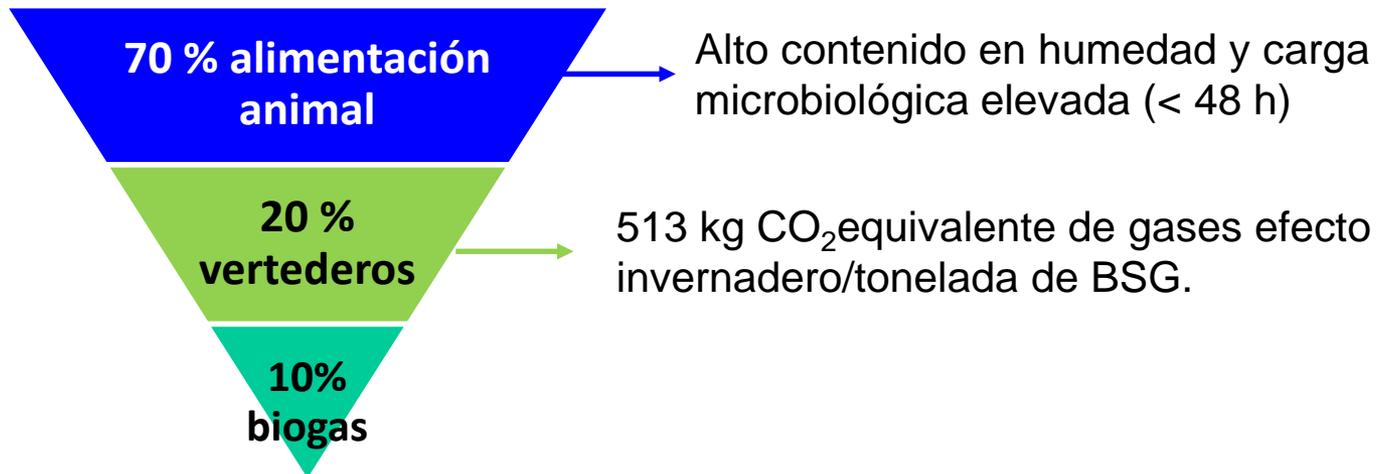
- SUBPRODUCTO DE MACROALGAS ROJAS (*G. Sesquipedale*)



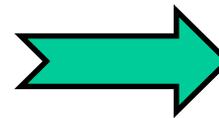
INTRODUCCIÓN



✓ 20 kg de bagazo / 100 L de cerveza. 40 millones de toneladas/año



INTRODUCCIÓN



BSG es un candidato para ser incorporado dentro del concepto de bioeconomía y economía circular

INTRODUCCIÓN

Selección de la biomasa



Procesos de fraccionamiento

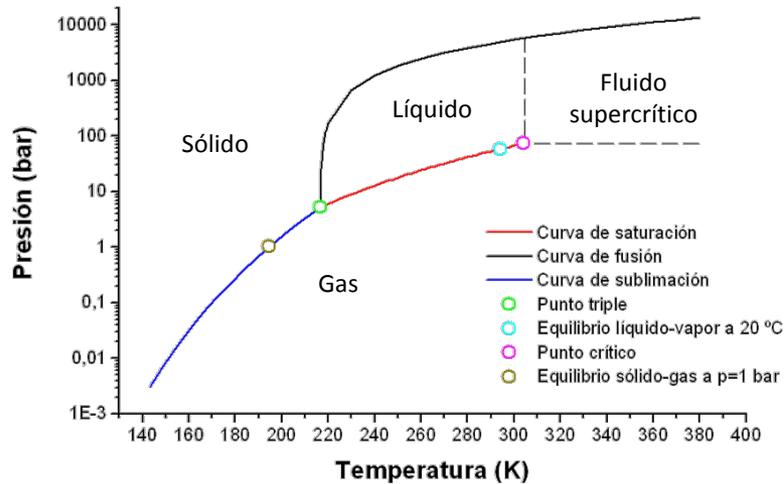


Obtención de bioproductos

CO₂-sC
(fracción lipídica)
(T_c = 31.4 °C, p_c = 73.8 bar)

- Mecánicos
- **Químicos**
- Biológicos

- ✓ No tóxico, no inflamable, inerte
- ✓ GRAS
- ✓ Se elimina por despresurización
- ✓ Modifica la estructura mejorando la accesibilidad para posteriores tratamientos



INTRODUCCIÓN

Selección de la biomasa



Procesos de fraccionamiento

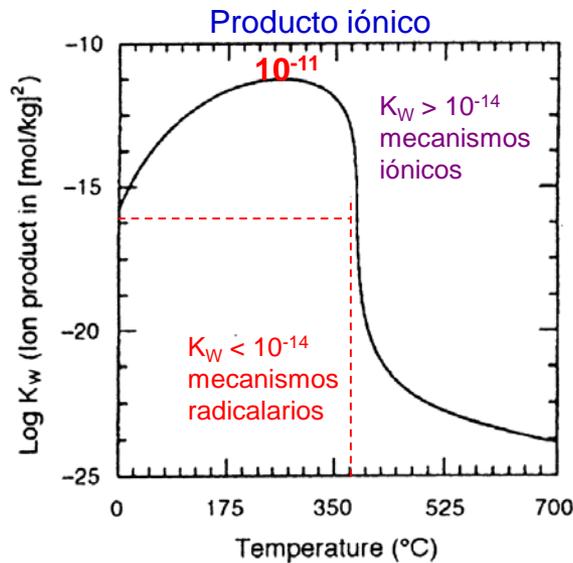


Obtención de bioproductos

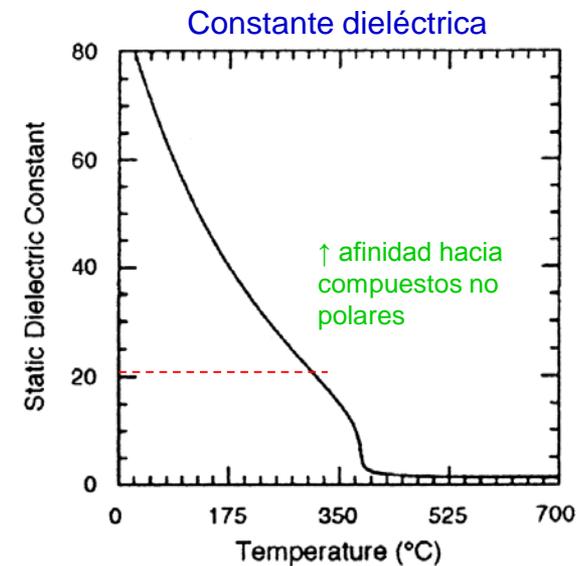
AGUA PRESURIZADA
(componentes estructurales)
($T_c = 374^\circ\text{C}$, $p_c = 220.64 \text{ bar}$)

- Mecánicos
- **Químicos**
- Biológicos

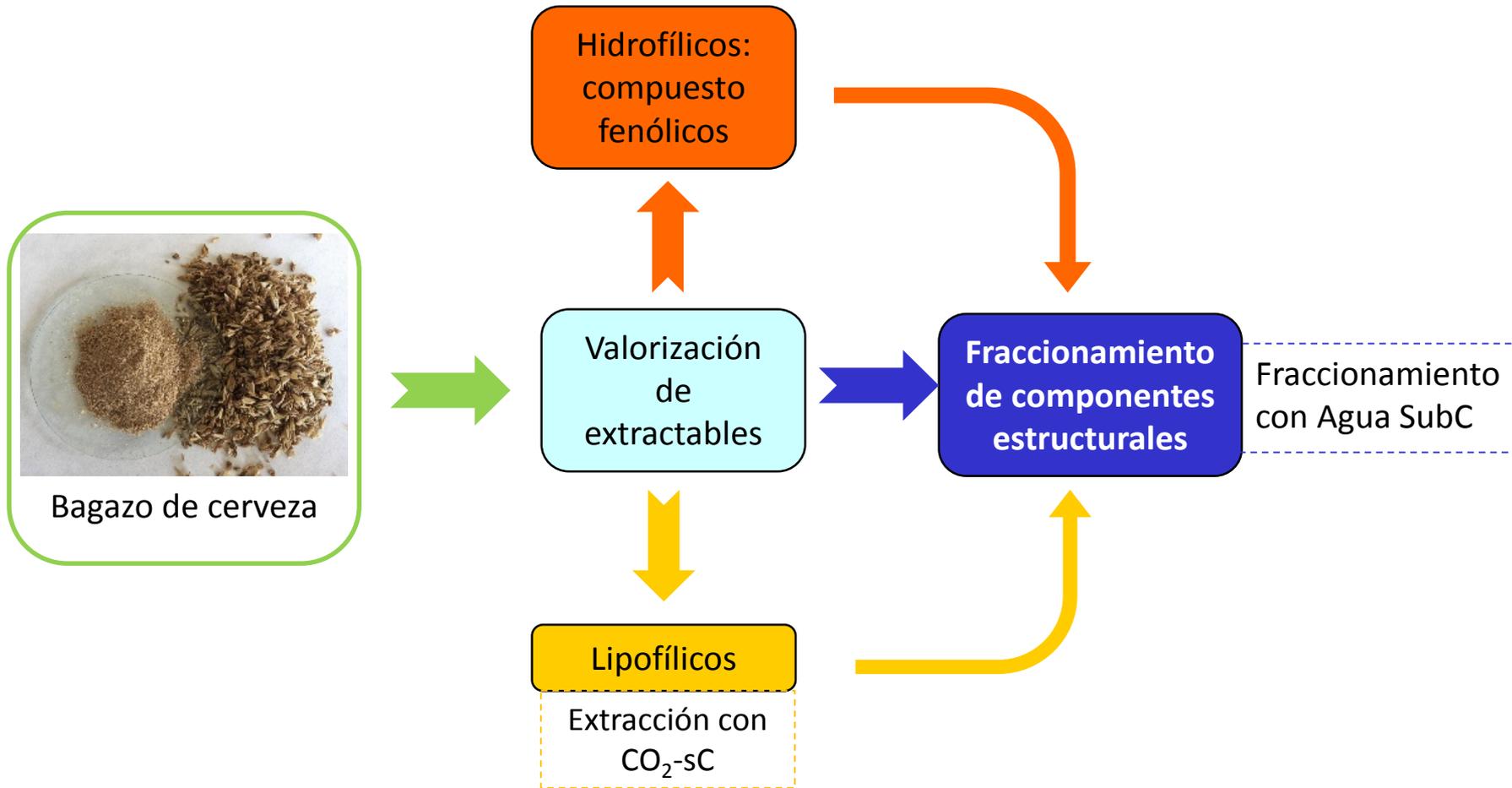
- ✓ Disolvente más verde que existe
- ✓ Fraccionamiento selectivo (T y τ)
- ✓ Propiedades únicas con T



P = 25 MPa



OBJETIVO



VALORIZACIÓN INTEGRAL DE BIOMASA AGROINDUSTRIAL

**MEDIANTE TECNOLOGÍAS EMERGENTES, FUNDAMENTALMENTE
AQUELLAS QUE EMPLEAN FLUIDOS PRESURIZADOS (CO₂ Y AGUA).**

RESULTADOS

Composición química del bagazo de cerveza (protocolos NRLE)

Componente	% base seca
Extractivos	
Agua	24.3 ± 0.6
Etanol	1.6 ± 0.1
Celulosa	11.8 ± 0.9
Almidón	10.6 ± 0.3
β-glucano	0.62 ± 0.02
Hemicelulosa	22.0 ± 1.36
Lignina insoluble	13.5 ± 0.5
Lignina soluble	4.33 ± 0.06
Cenizas	2.92 ± 0.02
Proteínas	17.8 ± 0.1
Lípidos	5.9 ± 0.4

Sacarosa: 8.76 ± 0.09
Proteína_{soluble}: 5.02 ± 0.08
CPT: 2.72 ± 0.04

CPT: 1.26 ± 0.01

CPT: compuesto fenólicos totales

Xilanos: 14.8 ± 0.5
Arabinanos: 7.2 ± 0.4
Grupos acetilo: 5.0 ± 0.4

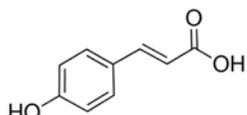
Extractivos hidrofílicos

Extracción con agua (alto % de extractivos en agua)

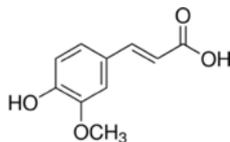
- Extracción convencional
- Extracción por ultrasonidos



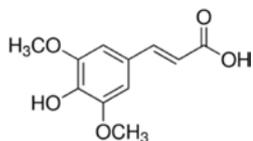
Ácido hidroxicinámicos:



ac. p-cumárico



ac. ferúlico



ac. sinápico

ac. cafeico
ac. clorogénico
ac. diferúlicos

- Tipo de extracción
- Tamaño de partícula
- Temperatura
- Disolvente
- Relación disolvente/biomasa

Compuestos antioxidantes

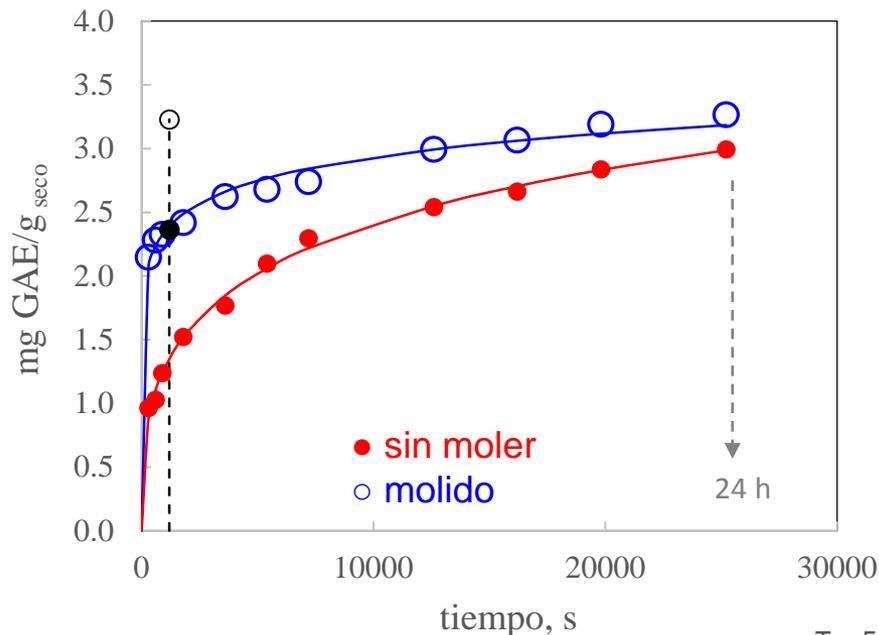
CURVAS DE EXTRACCIÓN

Compuestos fenólicos totales
mg gálico equivalente/g
bagazo seco (mg GAE/g seco)

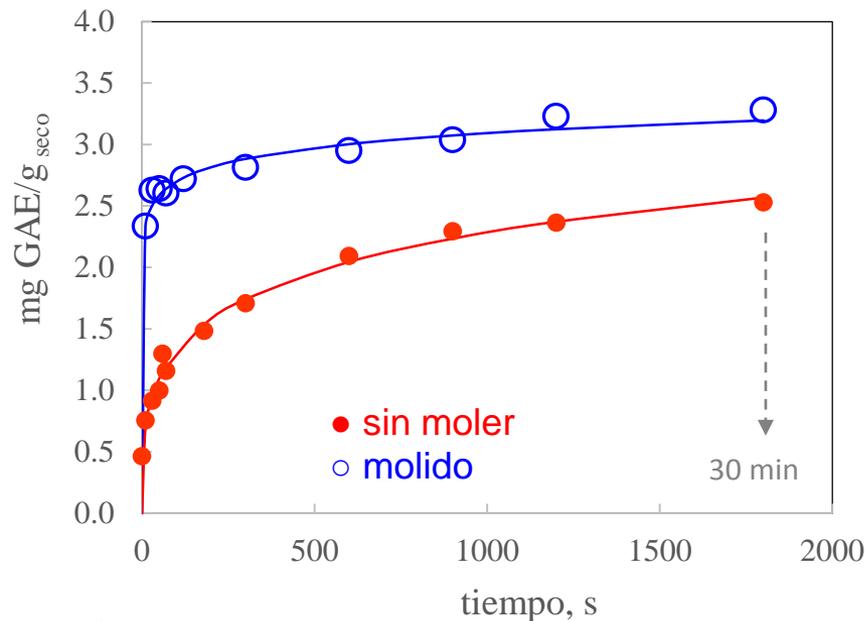
Extractivos hidrofílicos

AGITACIÓN MECÁNICA

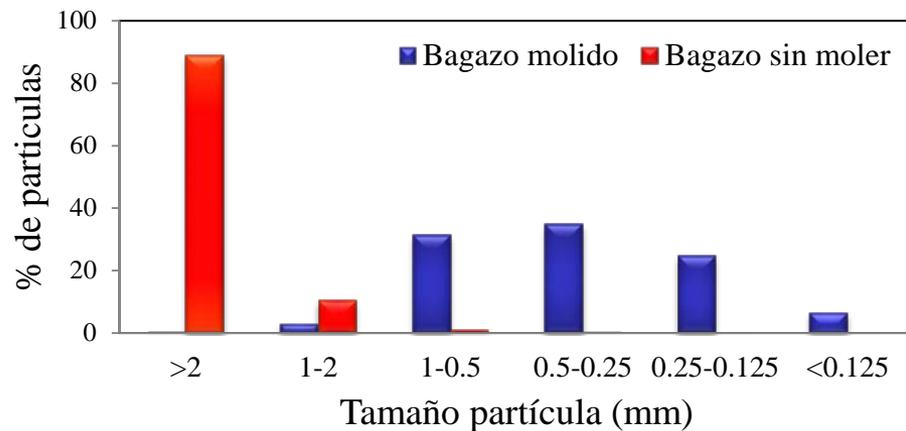
Disolvente: agua



EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDOS (UAE)



T = 50 °C, 20 mL/g seco



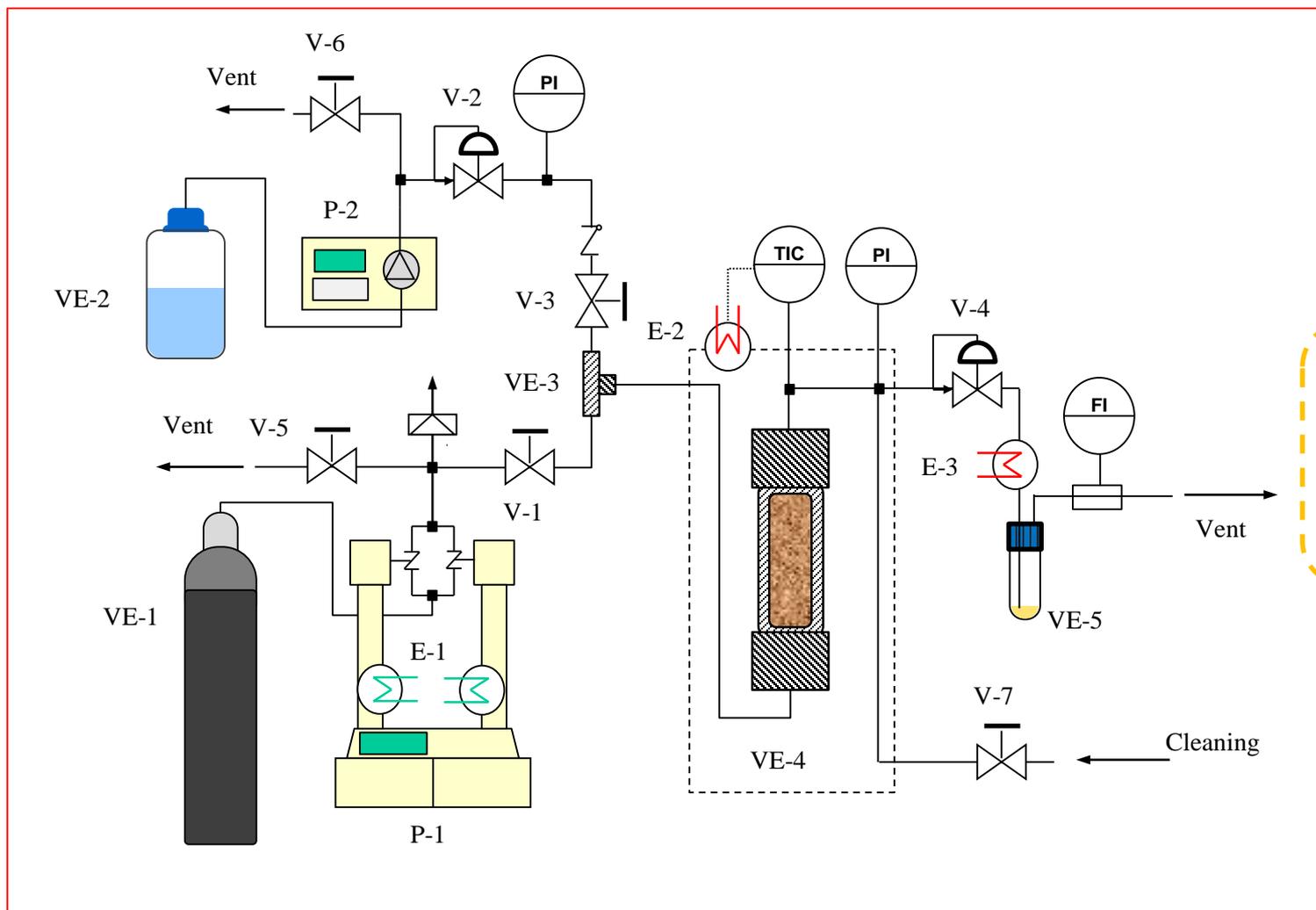
Extractivos hidrofílicos

Concentración ($\mu\text{g/g}$ bagazo seco) de compuestos fenólicos identificados

	UAE (Agua)	UAE (20 % EtOH)	Hidrólisis ácida	Hidrólisis alcalina
p-hidroxibenzoico	9.97	9.95		59.33
Ácido vainillínico				48.81
Ácido siríngico				110.01
Ácido p-cumárico*				474.33
Vainillina				123.63
Ácido ferúlico*	10.71	9.46	54.41	1305.68
Ácido sinápico*	2.79	13.46	31.06	28.03
TPC, mgGAE/g _{seco}	3.28	3.55	35.39	16.07

Identificación de compuestos fenólicos individuales: HPLC-DAD

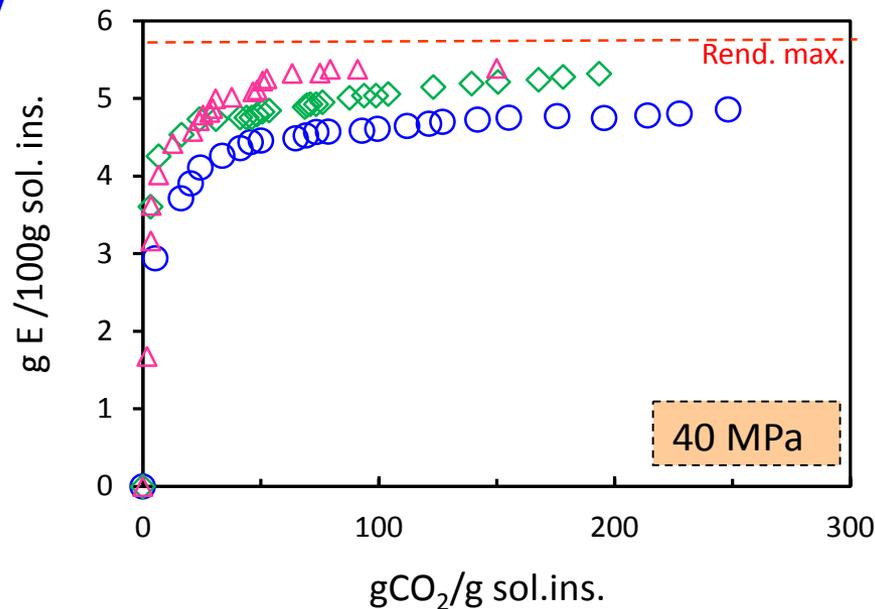
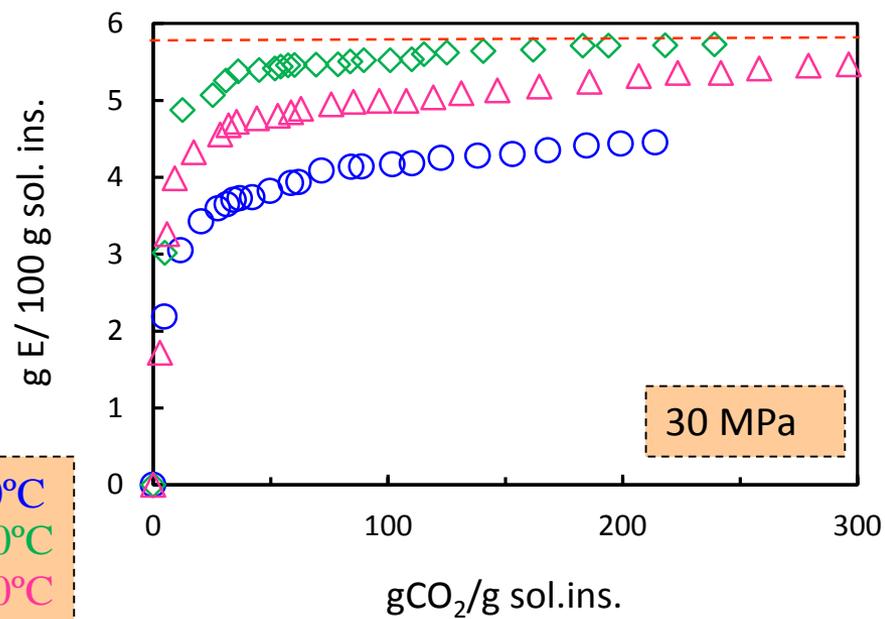
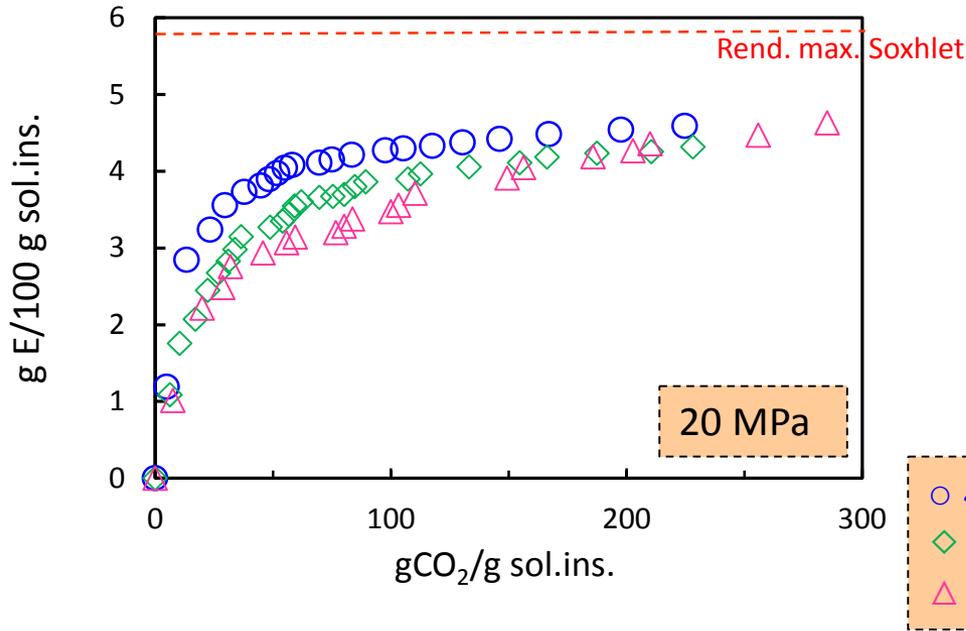
Extractivos lipofílicos



- Variables:
- Tamaño de partícula
 - Presión
 - Temperatura

Especificaciones máximas: 500 bar, 100 °C, V_E = hasta 100 mL

Extractivos lipofílicos



A 20 MPa: el aumento de la p^o del soluto no compensa el descenso de la ρ_{CO_2} con la T.

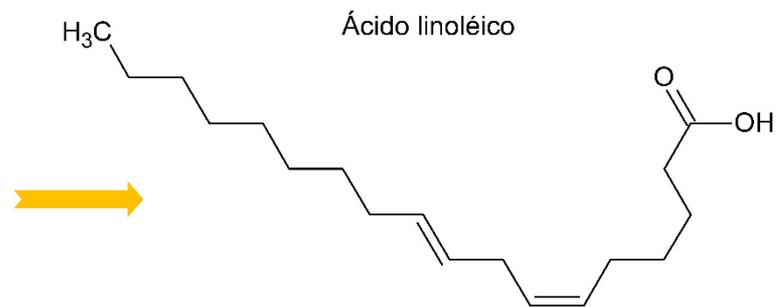
A 40 MPa se invierte el comportamiento

PUNTO DE CRUCE
≈ 40 MPa

Extractivos lipofílicos

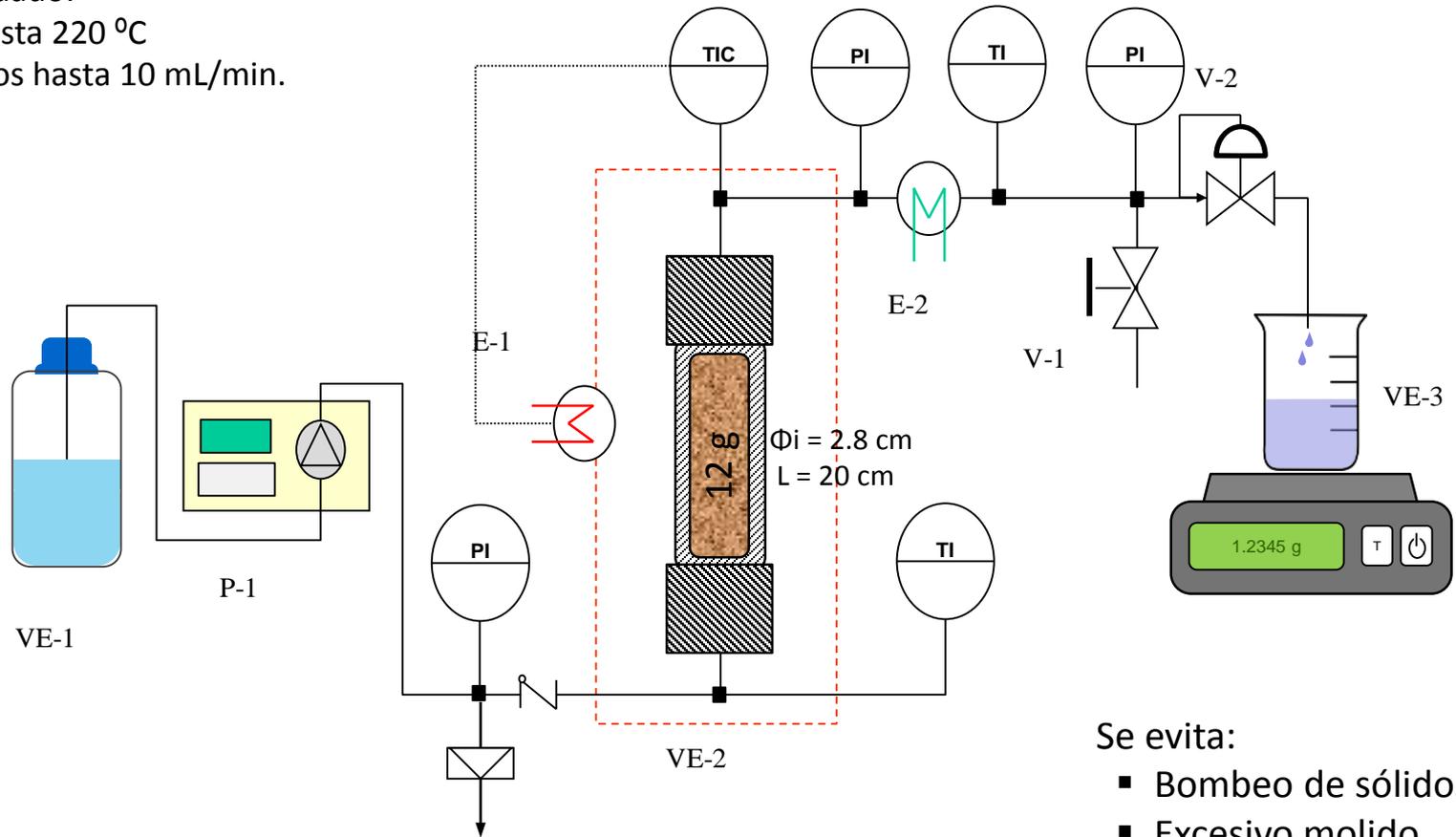
Porcentaje de ácidos grasos

Ácido graso	<u>Bagazo</u>
Mirístico, C14:0	--
Palmítico, C16:0	24.4 ± 0.1
Steárico, C18:0	1.79 ± 0.01
Oleico, C18:1n-9	13.67 ± 0.05
Vaccénico, C18:1n-7	0.94 ± 0.01
Linoleico cis y trans, C18:2n-6	51.0 ± 0.1
α-linolenico, C18:3n-3	4.30 ± 0.01
Araquidónico, C20:0	
Gondoico, C20:1n-9	0.95 ± 0.01
Cetoleico C22 1n-11	0.67 ± 0.01
Otros	2.1 ± 0.1



Fraccionamiento con agua subcrítica

Validado:
T hasta 220 °C
Flujos hasta 10 mL/min.



Se evita:

- Bombeo de sólidos
- Excesivo molido

REACTOR SEMICONTINUO DE LECHO FIJO

Fraccionamiento con agua subcrítica

- Proteínas y aminoácidos
- Polifenoles ligados a componentes estructurales
- Carbohidratos

F = 4 mL/min

p = 50 bar

• t residencia, min

$$\tau = \frac{V\rho}{F}$$

V: volumen del reactor, m³

ρ: densidad del agua kg·m⁻³ (p, T)

F: flujo másico, kg·min⁻¹

• Factor de severidad

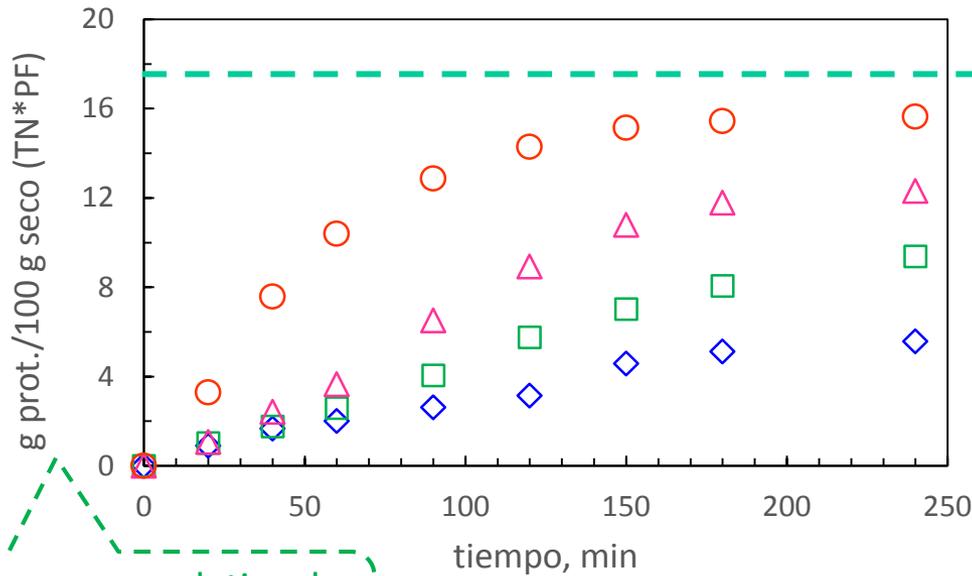
$$\log R_o = \log \left(t \cdot \exp^{(T-T_{ref})/14.75} \right)$$

t, tiempo min

T, temperatura °C

T (°C)	Density (kg/m ³)	τ (min)	log(R _o)
125	941.43	29.94	2.21
145	924.15	29.39	2.79
160	910.05	28.94	3.23
185	884.26	28.12	3.95

Agua SubC: fracción proteica



17.84 g /100 g bagazo seco
(proteína total)

○ 185 °C
△ 160 °C
□ 145 °C
◇ 125 °C

Curva acumulativa de
proteína solubilizada

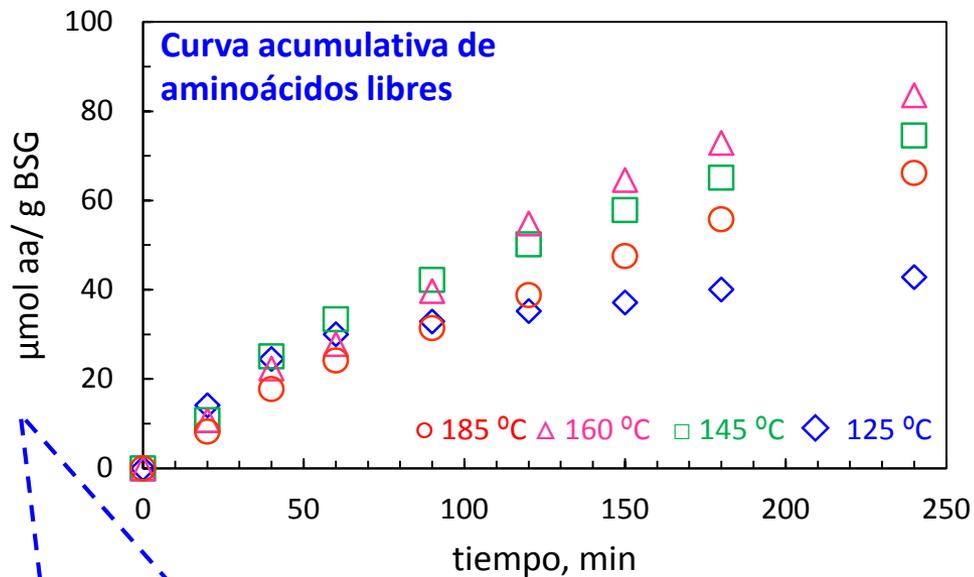
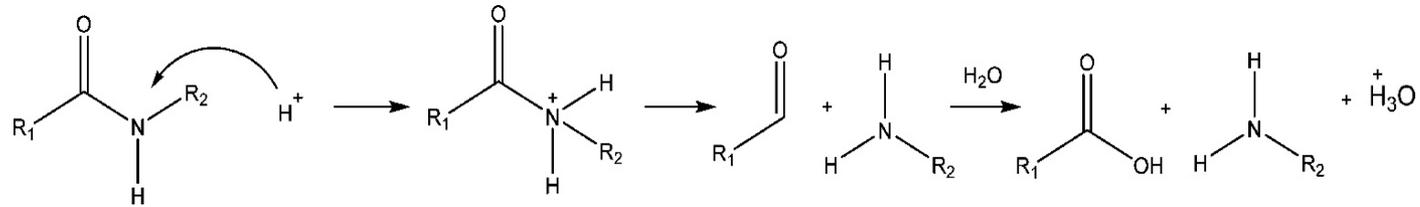
% Rendimiento

$$= \frac{\text{Proteína en el extracto}}{\text{Proteína en la materia prima}} \cdot 100$$

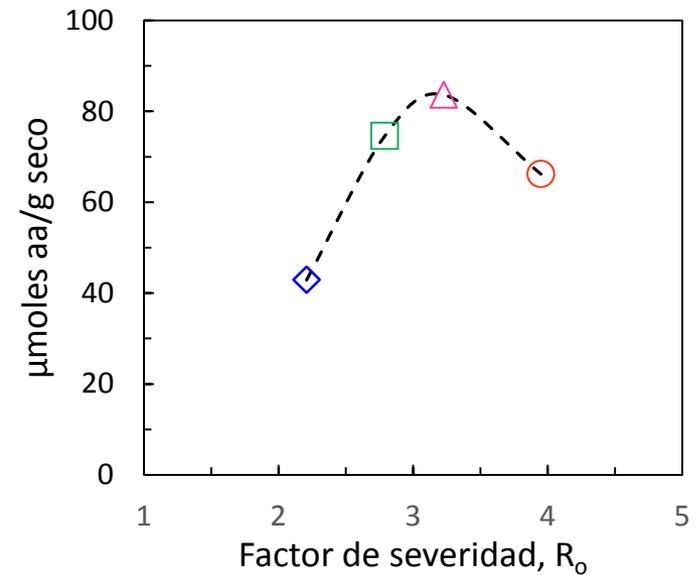
T, °C	% Rend.
185	87.7
160	69.0
145	52.6
125	31.3

Agua SubC: fracción proteica

Hidrólisis del enlace peptídico



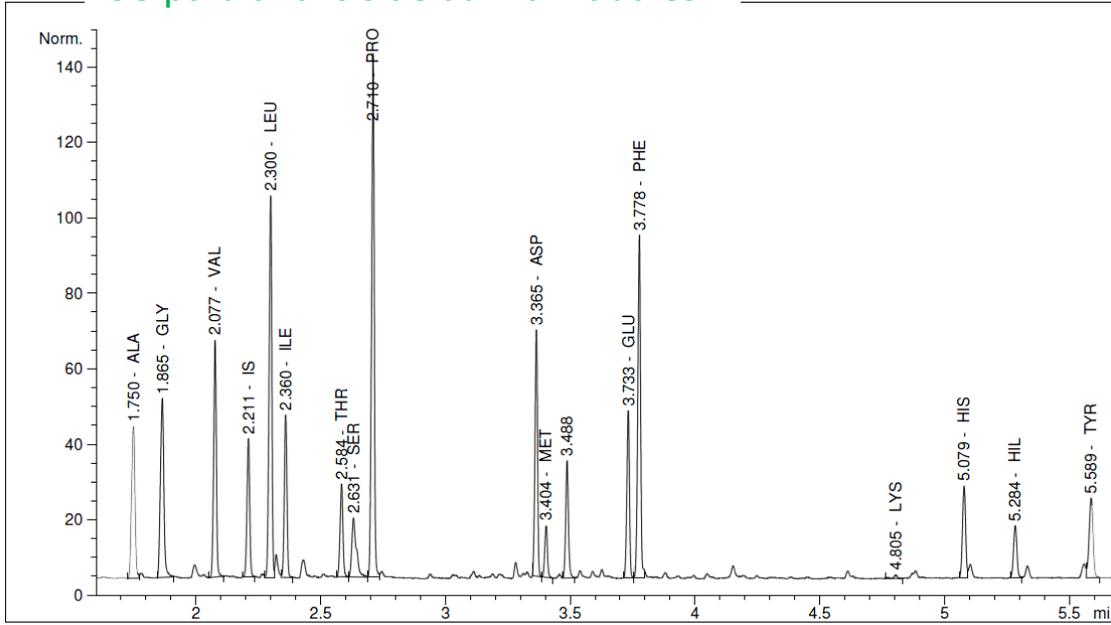
Suma de los aa individuales determinados por CG



Máximo debido a la degradación de los aa para R₀ > 3.2

Agua SubC: fracción proteica

CG para análisis de aa individuales



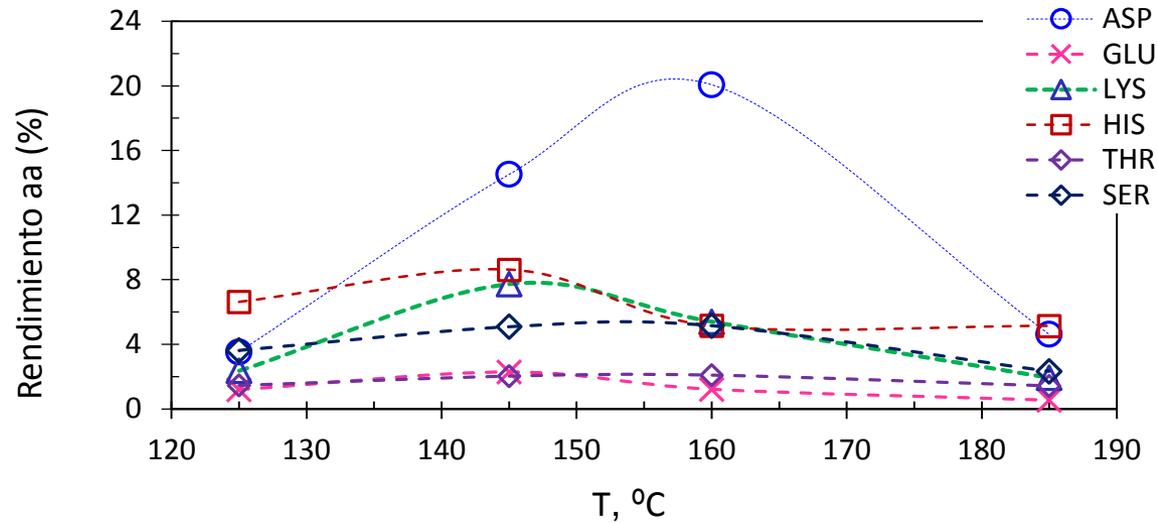
50.8 % de los
aa del bagazo
son esenciales

Rendimiento respecto a la hidrólisis ácida

	BSG mg aa/ g seco	125	145	160	185
ASP	14.22	3.54	14.52	20.08	4.62
GLU	38.98	1.19	2.29	1.21	0.53
LYS*	14.75	2.37	7.72	5.40	1.93
HIS*	3.79	6.63	8.63	5.15	5.14
ARG	n.D	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SER	9.26	3.62	5.09	5.16	2.33
THR*	8.87	1.46	2.03	2.10	1.43
TYR	4.21	10.92	12.28	9.86	10.13
PHE*	11.21	1.89	2.99	2.45	2.21
ILE*	14.22	0.81	1.43	1.62	1.78
LEU*	15.41	1.56	2.62	2.70	2.86
ALA	8.72	5.51	6.74	7.12	7.51
GLY	7.41	2.10	3.43	4.63	7.73
VAL*	31.47	0.96	1.20	1.75	2.74
PRO	17.16	1.76	2.41	2.32	2.05
MET*	3.35	14.04	27.00	14.32	6.31
TRP*	0.08	> 100	> 100	95.66	23.81
CYS	0.00	0	0	0	0

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{mg aa}_T}{\text{mg aa}_{\text{hidrólisis ácida}}}$$

Agua SubC: fracción proteica



aa cargados

(básicos/ácidos)

Glu

Lys

His

Tmax ~ 145 °C

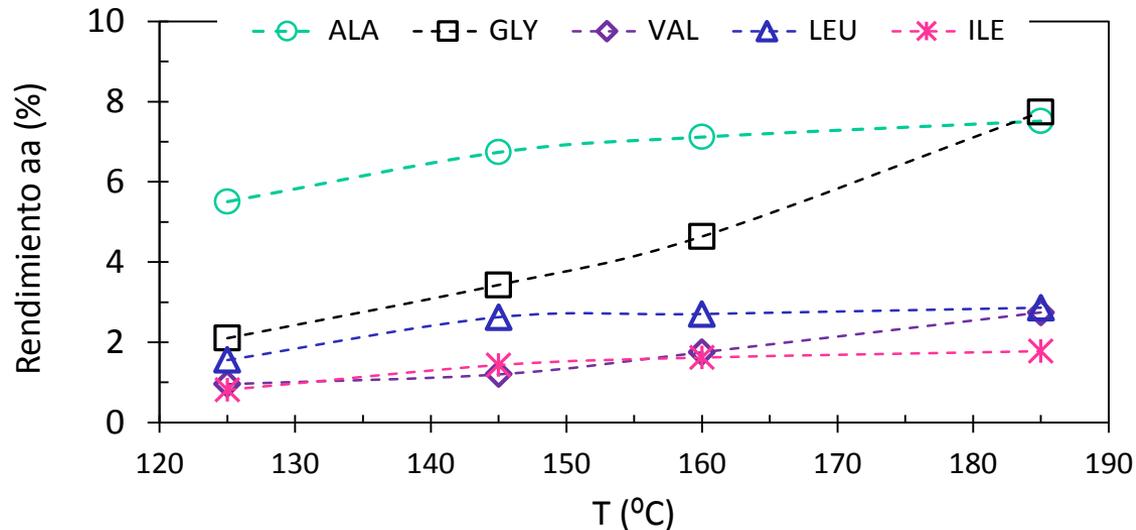
aa neutros con cadena polar

Asp

Ser

Thr

Tmax ~ 160 °C

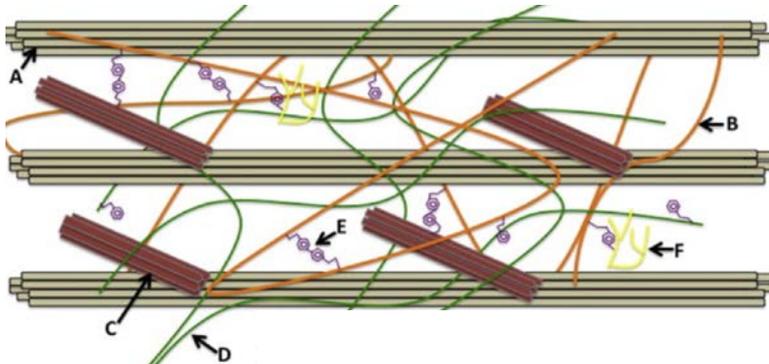


aa con cadenas alifáticas

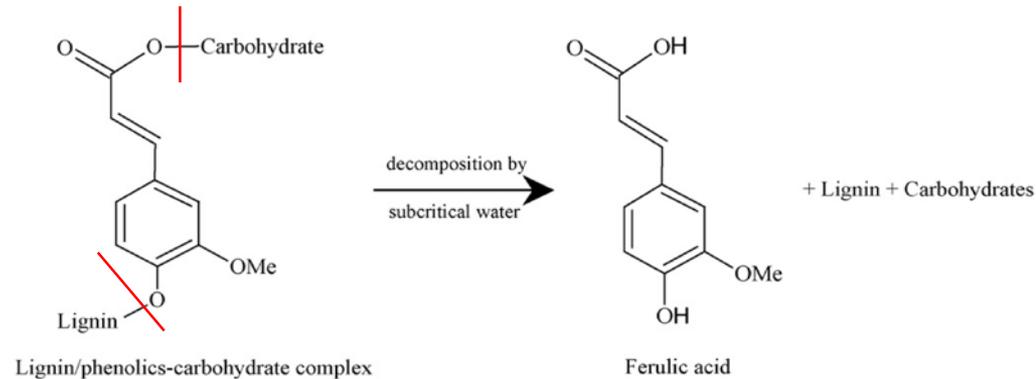
- Rendimiento aumenta con la T
- Más estables a T más altas

Agua SubC: compuesto polifenólicos

- En una matriz natural se presentan en tres formas
 - ✓ Libres
 - ✓ Solubles (unidos por enlaces tipo éster compuestos de bajo PM)
 - ✓ Insolubles (unidos por enlaces tipo éster o éter a componentes de la pared celular)



Los enlaces tipo éter son lábiles a 170 °C.



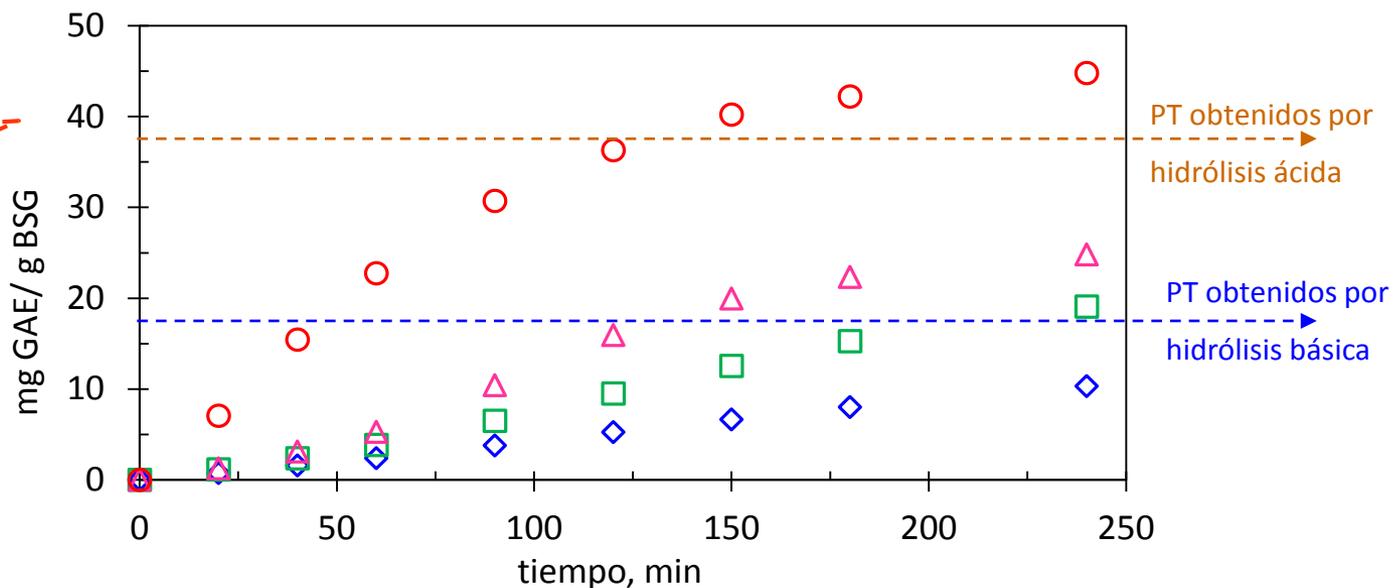
Hidrólisis del enlace éter

Enlace	Componente estructural	Grupo fenólico reactivo
Éter	Lignina	Grupos hidroxilo en el anillo aromático
Éster	Carbohidratos estructurales Proteínas	Grupo carboxílico

Agua SubC: compuesto polifenólicos

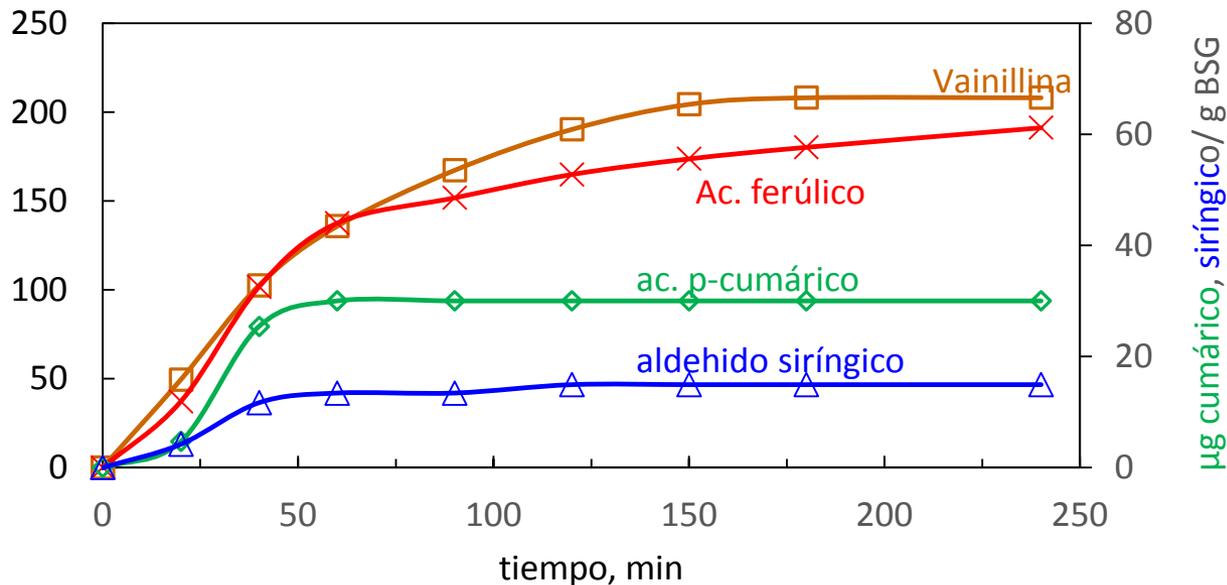
Curva acumulativa de **polifenoles totales**

- 185 °C
- △ 160 °C
- 145 °C
- ◇ 125 °C



Curva acumulativa de **polifenoles individuales (HPLC-DAD)**

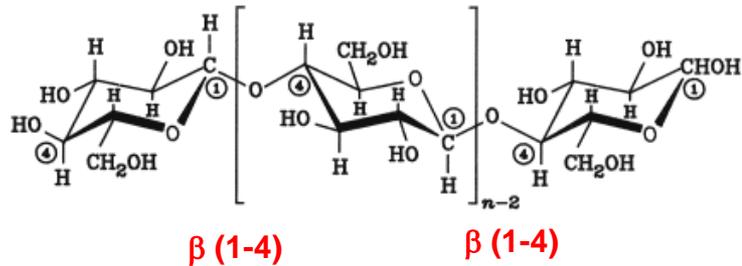
μg vainillina, ac. ferúlico/g BSG



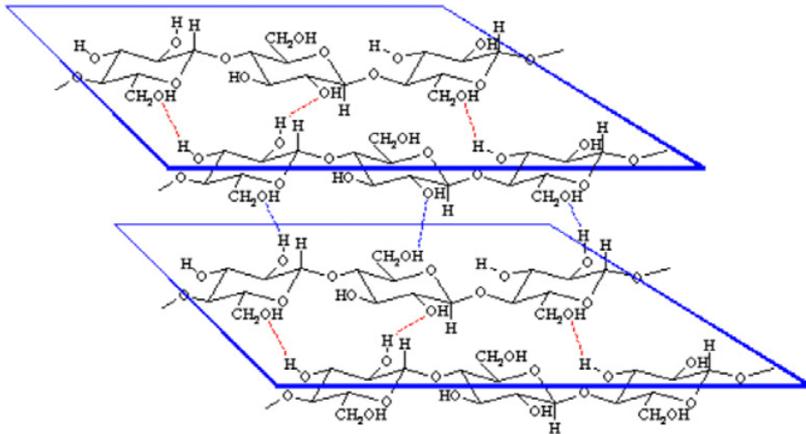
Agua SubC: carbohidratos

Carbohidratos

CELULOSA

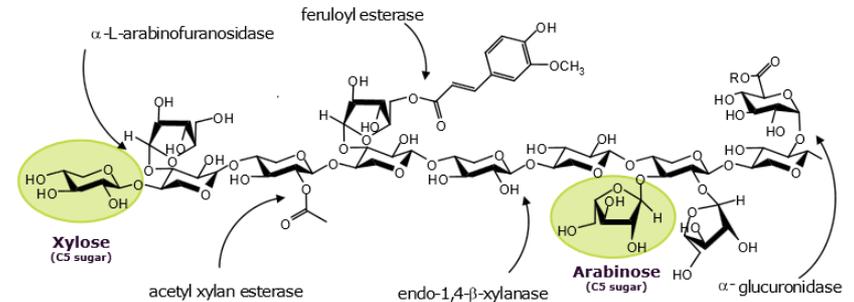


Puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilos distribuidos a ambos lados de los monómeros



Las microfibras de celulosa presentan **regiones cristalinas (2/3)** y regiones amorfas

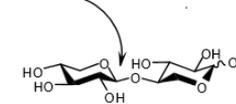
HEMICELULOSA



C6:

Glucosa
Galactosa
Manosa

β -xylosidase



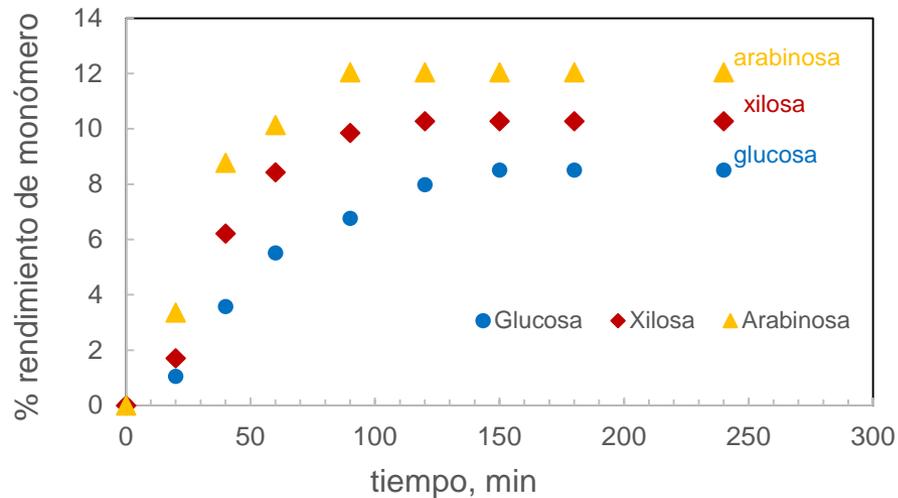
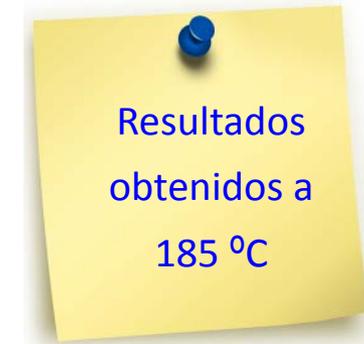
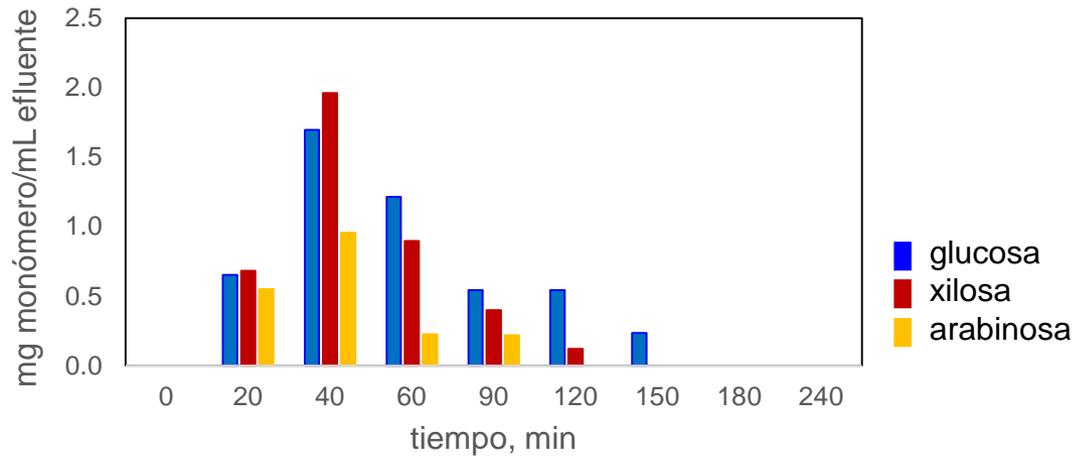
C5:

Xilosa
Arabinosa

Falta de cristalinidad, **estructura amorfa** con grupos acetilo, cadenas ramificadas, por lo que **se hidroliza más fácilmente**.

Agua SubC: carbohidratos

Análisis de monómeros en el efluente (HPLC)



% Rendimiento de monómero

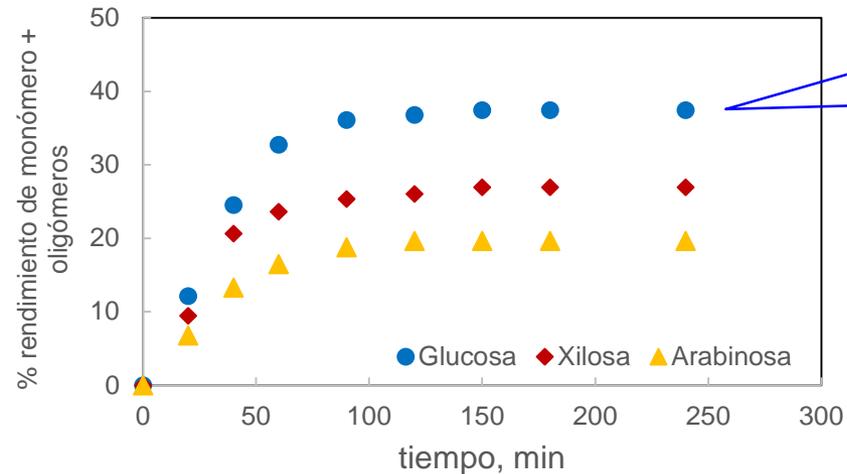
$$= \frac{\text{Monómero en el extracto líquido}}{\text{Monómero en la materia prima}} \cdot 100$$

Curva de extracción-hidrólisis

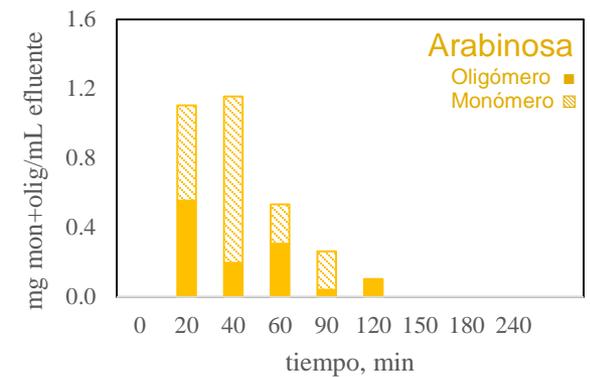
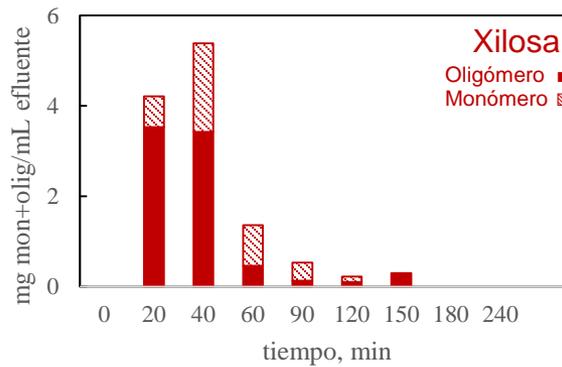
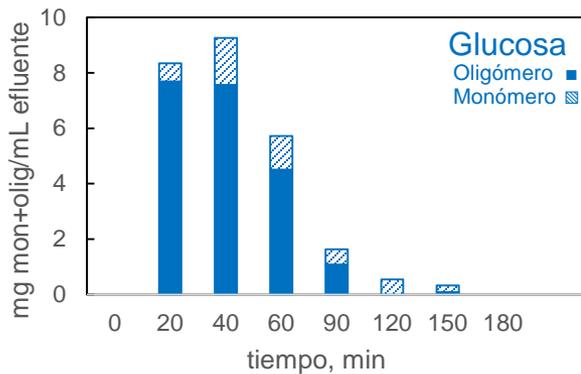
Agua SubC: carbohidratos

$$\% \text{ Rendimiento total} = \frac{\text{Monómero} + \text{Oligómero en el extracto líquido}}{\text{Monómero en la materia prima}} \cdot 100$$

Tras hidrólisis de oligómeros presentes en el efluente

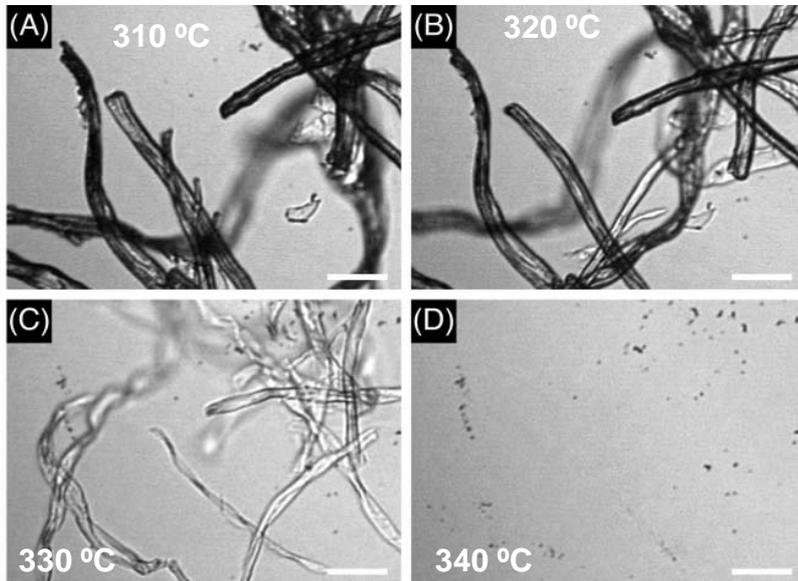


10.6 % almidón

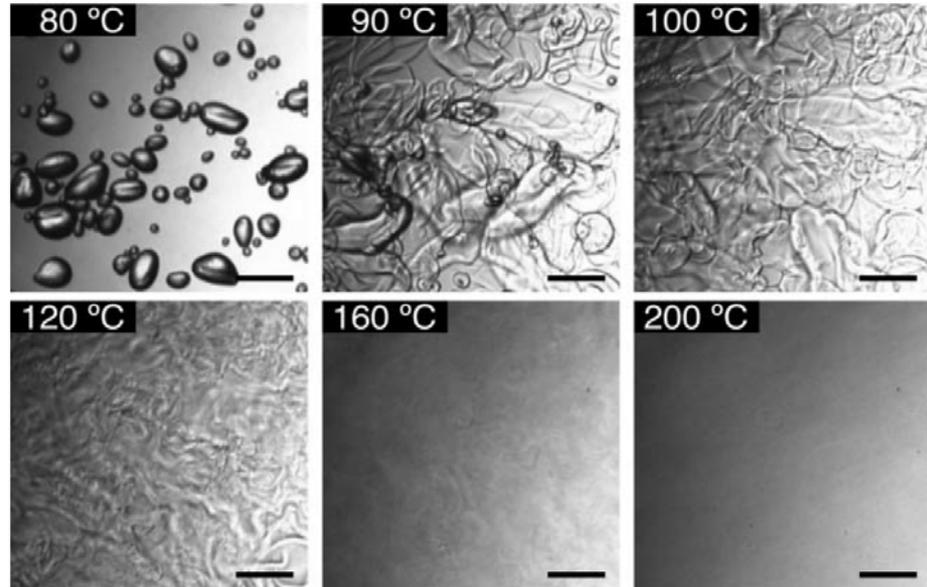


Agua SubC: carbohidratos

Celulosa



Almidón

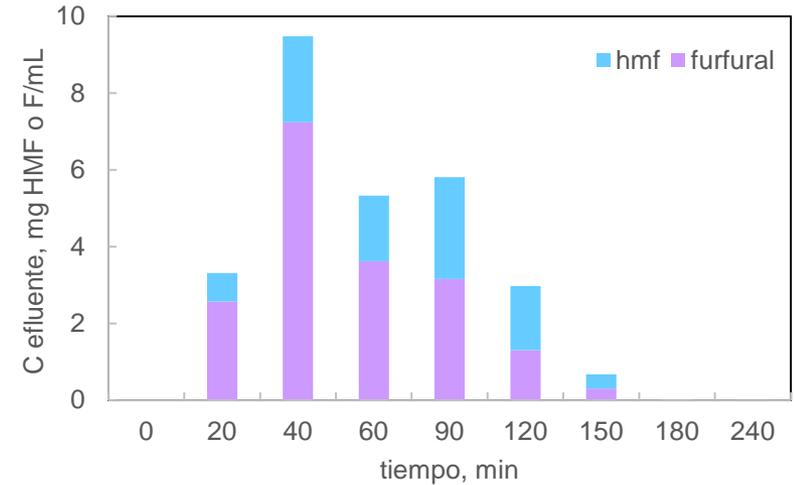
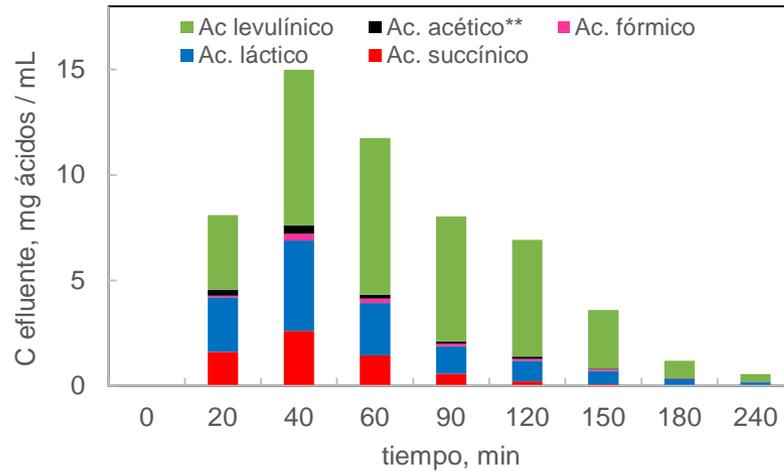


Tras disolución de la celulosa:
Transición: cristalino --- amorfo

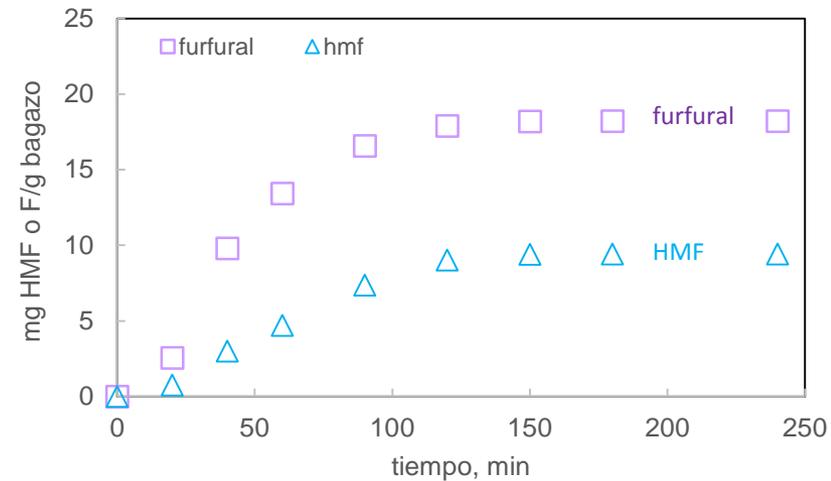
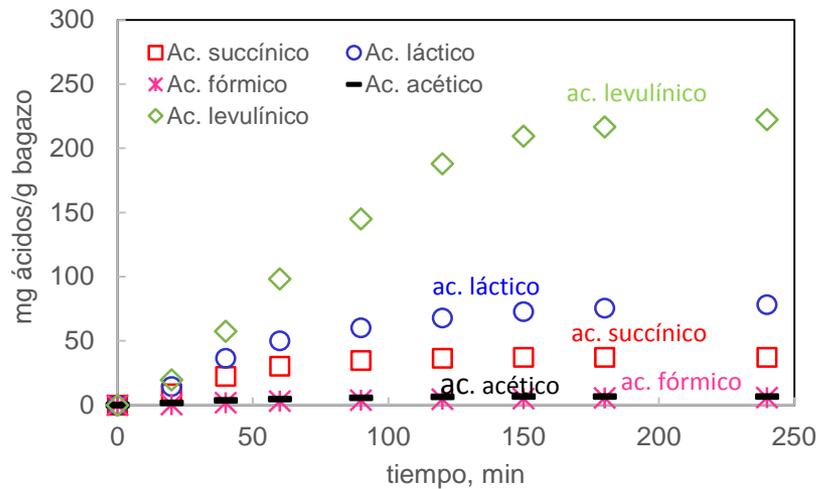
Agua SubC: carbohidratos

Productos de degradación

Concentración en los extractos

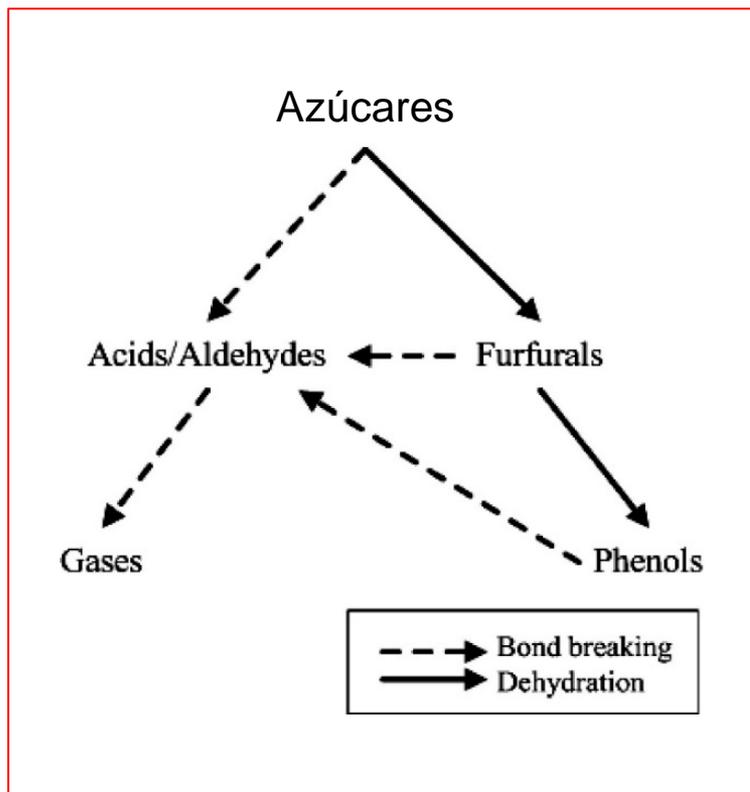


Curvas de acumulación



Agua SubC: carbohidratos

Rutas de degradación de azúcares



Ruta simplificada de degradación de azúcares monoméricos en agua presurizada

12 compuestos base derivados del azúcar

Compuestos base
1,4 diácidos (<u>succínico</u> , fumárico y málico)
ac. 2,5 furan dicarboxílico
ac. 3 hydroxypropiónico
ac. aspártico
ac. glucárico
ac. glutámico
ac. itacónico
<u>ac. levulínico</u>
3-hidroxybutirolactona
glicerol
sorbitol
<u>xylitol/arabinitol</u>

Top Value Added Chemicals from Biomass. Volume I-NREL

Agua SubC: biomasa residual

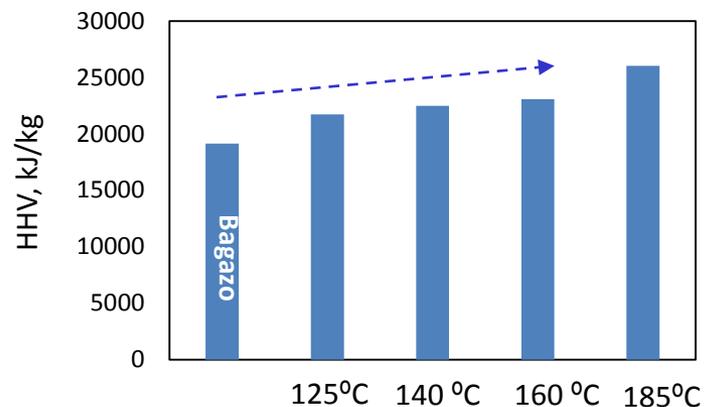
Muestra	% C	% H	% N	% O	H:C	O:C
Bagazo de cerveza	47.04	6.87	2.83	39.53	1.75	0.63
125 °C	52.26	7.02	3.33	37.49	1.61	0.54
145 °C	53.68	7.31	2.45	33.21	1.63	0.47
160 °C	54.77	7.51	1.67	32.51	1.65	0.46
185 °C	60.29	7.34	1.79	29.10	1.46	0.37

$m_o = 12$ g
Bagazo tras hidrólisis

$m_f = 2.2$ g
185 °C

$m_f = 3.2$ g
145 °C

$$\text{HHV}(\text{kJ/kg})^* = 3.55\text{C}^2 - 232\text{C} - 2230\text{H} + 51.2\text{C} \times \text{H} + 131\text{N} + 20600$$



Conclusiones

El empleo de **fluidos presurizados** resulta ser una tecnología atractiva en el diseño de biorefinerías para valorizar biomasa agroindustrial:

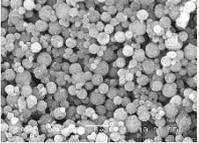


- CO₂- SC permite valorizar la **fracción lipídica** rica en ácidos grasos poliinsaturados.



- Agua líquida presurizada permite un fraccionamiento de proteínas, polifenoles e hidratos de carbono.

Trabajo futuro

- **Formulación de la fracción lipídica** obtenida mediante CO₂-SC 
- Variación del **factor de severidad** (t, T) para optimizar la obtención del producto deseado.
- Estudio de la **separación de los diferentes productos** obtenidos en el fraccionamiento de la biomasa mediante **agua presurizada**: procesos de membrana
- Formulación de las distintas fracciones obtenidas.
- Fraccionamiento de celulosa y lignina en agua supercrítica.

Línea de Investigación financiada por:

- La **Junta de Castilla y León (JCyL)** el **Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER)** mediante el Proyecto BU301P18.
- La empresa **Hiperbaric**, en el marco del Proyecto BIOLIGNO (10/16/BU/0017), financiado por el **Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER)** de la Unión Europea y la **Junta de Castilla y León (JCyL)**, a través del **Instituto para la Competitividad Empresarial** de Castilla y León (ICE).
- La empresa **Campofrío Food Group - SIGMA**, en el marco del Proyecto con referencia 10/16/BU/0005, financiado por el **Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER)** de la Unión Europea y la **Junta de Castilla y León (JCyL)**, a través del **Instituto para la Competitividad Empresarial** de Castilla y León (ICE).
- La **Junta de Castilla y León (JCyL)** y el **Fondo Social Europeo (FSE)** mediante los contratos predoctorales de E. Trigueros and P. Alonso-Riaño y los contratos de D. Benito-Bedoya and D.M. Aymara-Caiza como técnicos de apoyo a través de la Iniciativa de Empleo Juvenil.

FONDO EUROPEO DE
DESARROLLO
REGIONAL



UNIÓN EUROPEA



**Europa impulsa
nuestro crecimiento**



**Junta de
Castilla y León**



UNIÓN EUROPEA

Fondo Social Europeo
El FSE invierte en tu futuro

Sigma

competitividad
empresarial

ice

Hiperbaric
HIGH PRESSURE PROCESSING

Gracias por su atención



Grupo de Biotecnología Industrial y Medioambiental

www.ubu.bioind