

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingeniería

**Caracterización del licor gastado proveniente de la
carbonización hidrotérmica de bagazo de cebada y su
aprovechamiento para la obtención de bioetanol**

Freddy Sebastián Muñoz Alcívar

Ingeniería Química

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
INGENIERO QUÍMICO

Quito, 16 de mayo de 2024

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Freddy Sebastián Muñoz Alcívar

Código: 00217090

Cédula de identidad: 1753372125

Lugar y fecha: Quito, 16 de mayo de 2024

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

RESUMEN

En este estudio, se evaluaron métodos para eliminar inhibidores biológicos del licor gastado generado a partir de la carbonización hidrotérmica (HTC) del bagazo de cebada, un residuo de la industria cervecera. Se determinó que la temperatura de HTC afecta la concentración de azúcares reductores, pero no la concentración de fenoles en el licor, mientras que los tratamientos de remoción con carbón activado, acetato de etilo y acetona reducen la cantidad de estos compuestos. La eliminación de inhibidores biológicos mejora la eficiencia de la fermentación alcohólica, siendo la mejor condición para la producción de bioetanol una temperatura de HTC de 180°C con tratamiento de acetato de etilo. Estos resultados demuestran el potencial del licor gastado de HTC de bagazo de cebada para su valorización en bioprocesos, contribuyendo al manejo sostenible de residuos y al desarrollo de nuevas tecnologías de producción de biocombustibles.

Palabras clave: biomasa, bioetanol, carbonización hidrotérmica, bagazo de cebada, inhibidores biológicos, fermentación.

ABSTRACT

This study evaluated methods to remove biological inhibitors from the wastewater generated from hydrothermal carbonization (HTC) of brewer's spent grain, a waste product from the brewing industry. It was found that HTC temperature affects the concentration of reducing sugars, but not the concentration of phenols in the liquor, while removal treatments with activated carbon, ethyl acetate, and acetone reduce the amount of these compounds. The removal of biological inhibitors improves the efficiency of alcoholic fermentation, with the best condition for bioethanol production being an HTC temperature of 180°C with ethyl acetate treatment. These results demonstrate the potential of HTC waste liquor from barley bagasse for valorization in bioprocesses, contributing to sustainable waste management and the development of new biofuel production technologies.

Keywords: biomass, bioethanol, hydrothermal carbonization, brewer's spent grain, biological inhibitors, fermentation.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	11
2. METODOLOGÍA	14
2.1. Carbonización hidrotérmica	14
2.2. Tratamiento con carbón activado	15
2.3. Extracción líquido - líquido	15
2.4. Determinación de azúcares reductores	15
2.5. Determinación de fenoles	16
2.6. Fermentación alcohólica.....	16
2.7. Cuantificación de bioetanol	16
2.8. Análisis estadístico	17
3. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	18
3.1. Caracterización de azúcares reductores	18
3.2. Caracterización de fenoles	20
3.3. Cuantificación de bioetanol	23
4. CONCLUSIÓN	27
5. REFERENCIAS.....	28
6. ANEXO	31
6.1 ANEXO A: Análisis estadístico-resultados	31
6.1.1 ANEXO A1: Azúcares reductores.....	31

6.1.2 ANEXO A2: Fenoles.....	33
6.1.3 ANEXO A3: Bioetanol.	35

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Prueba de Tukey de concentración de azúcares a las diferentes temperaturas de carbonización	28
Tabla 2. Prueba Tukey de la concentración de azúcares de los tratamientos para cada temperatura	28
Tabla 3. Prueba de Tukey de concentración de polifenoles a las diferentes temperaturas de carbonización	29
Tabla 4. Prueba Tukey de la concentración de polifenoles de los tratamientos para cada temperatura	29
Tabla 5. Prueba de Tukey de concentración de etanol a las diferentes temperaturas de carbonización	31

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1. Esquematización parte experimental.....	14
Figura 2. Concentración de azúcares en [g/L] vs. Temperatura de carbonización.	18
Figura 3. Concentración de azúcares en [g/L] vs. Tratamiento para las temperaturas de: (A) 180°C, (B) 200°C, (C) 220°C y (D) 240°C.	19
Figura 4. Concentración de polifenoles [mM] vs. Temperatura de carbonización.	20
Figura 5. Concentración de polifenoles [mM] vs. Tratamientos para las temperaturas de: (A) 180°C, (B) 200°C, (C) 220°C y (D) 240°C.....	21
Figura 6. Concentración de etanol [g/L] vs. Temperatura de los tratamientos: (A) Sin Tratamiento y (B) Acetato de etilo.	23
Figura 7. Concentración de etanol [g/L] al inicio y final de la fermentación, y el incremento de la concentración de etanol en porcentaje para las temperaturas de: (A) 180°C, (B) 200°C, (C) 220°C y (D) 240°C.	24
Figura 8. Eficiencia [%] de producción de etanol de las fermentaciones a diferentes temperaturas.....	25
Figura 9. Lote de fermentaciones alcohólicas	32
Figura 10. Concentración de etanol [g/L] de la temperatura de 180°C con carbón activado. Medición por triplicado	33

1. INTRODUCCIÓN

Una de las bebidas más consumidas en el mundo es la cerveza, llegando al tercer puesto de consumo a nivel mundial [1], además de ser un producto con una demanda constante. Para la elaboración de la cerveza se utilizan diferentes ingredientes, en la cual uno de los principales ingredientes es la malta que se compone por granos de cebada que han pasado por un proceso de maceración, germinación y secado [2], [3]. A partir del proceso de producción de la cerveza, se genera un residuo conocido como bagazo, que se constituye de granos de cebada gastados, donde por cada 100 litros de cerveza se generan aproximadamente entre 5 a 6 kg de bagazo [4]. En Ecuador, la industria cervecera produce aproximadamente 120 mil toneladas de residuos, donde el bagazo constituye el 85% de estos residuos y al final se utiliza principalmente como alimento crudo para ganado [5]. Por ello, múltiples estudios aplicaron diferentes métodos de conversión termoquímicos para esta biomasa como pirolisis, gasificación, carbonización hidrotérmica, entre otros [6], [7], [8]. En la cual una de las principales alternativas de los últimos años es el uso de la carbonización hidrotérmica para el tratamiento de estos residuos.

La carbonización hidrotérmica (HTC) es un proceso de conversión termoquímico en el que se trata la biomasa en presencia de agua en condiciones subcríticas de temperatura y presión [9]. Como resultado de la carbonización hidrotérmica se obtiene el producto principal conocido como hidrocarbón (fase sólida), que se utiliza para diferentes aplicaciones como fertilizantes, adsorbentes o biocombustibles en forma de pellets [8], [10], [11]. Por otro lado, como subproducto del proceso de HTC se obtiene una fase líquida, conocida como licor gastado considerado como un residuo del proceso [12]. La composición del licor gastado depende de las condiciones del proceso, pero se estima que el licor retiene entre un 15% a 20% los componentes de la biomasa [13].

Para el aprovechamiento del licor gastado se han realizado estudios sobre su composición química, examinando licores de múltiples biomásas [13] y determinando la presencia de compuestos inhibidores y tóxicos como fenoles o furanos, junto a nutrientes y azúcares [14]. Además, investigaciones determinan que el desecho del líquido al medio ambiente provoca una eutrofización del agua afectando negativamente al ecosistema [15]. Con el fin de reducir la presencia de estos compuestos algunos estudios realizaron tratamientos al licor, como filtraciones o destilaciones [16]. Partiendo del tratamiento, en diversas fuentes el licor tratado se utilizó como medio para la producción de bio-metano a partir de digestión anaeróbica, demostrando condiciones favorables para el uso del licor gastado para la producción de biogás [17].

Por ello, el bagazo de malta de cebada derivado de la producción de cerveza constituye una oportunidad de utilización de esta biomasa para la generación de otros compuestos, de igual forma, el proceso de HTC provee una alternativa para el aprovechamiento de este tipo biomasa en el Ecuador diferente al su uso en abonos o alimentos para ganado [18]. Por ende, el licor gastado de la HTC de cebada representa un recurso valioso, al retener un porcentaje de los compuestos químicos provenientes de la biomasa, que aún no se aprovecha completamente en bioprocesos [19].

Donde, uno de los principales obstáculos para el uso del licor gastado es la caracterización del líquido debido a su variabilidad dependiendo de la biomasa [13]. Esto se debe a la presencia de inhibidores biológicos, ya que los métodos estudiados para el aprovechamiento del licor gastado utilizan microorganismos para la producción de biogás [20]. Es por ello, que la alta remoción de los inhibidores biológicos presentes en el licor gastado es esencial para su utilización efectiva en bioprocesos [14]. Por lo tanto, el aprovechamiento de los compuestos químicos presentes en el licor gastado podría conducir a la creación de productos de valor añadido, como la obtención de bio-etanol

[11]. Investigaciones confirman que el licor gastado es una fuente de contaminación debido a sus compuestos tóxicos como furfurales, ácidos grasos o compuestos aromáticos, por lo que es crucial evitar su desecho para la sostenibilidad ambiental [16]. La bio-refinación completa del proceso de HTC, utilizando tanto el hidrocarbón como el licor gastado, puede potenciar el valor del HTC como tecnología sustentable [21].

Por tal razón, este estudio tiene el fin de evaluar diferentes métodos de eliminación de inhibidores biológicos presente en el licor gastado de HTC de cebada para su potencial valorización en bioprocesos. Para esto se caracterizó los licores de HTC de cebada a las temperaturas de 180°C, 200°C, 220°C y 240°C. Se investigó los métodos que emplean carbón activado para la adsorción de compuestos específicos presentes en la mezcla, tales como fenoles y otros compuestos orgánicos, que actúan como inhibidores en la fermentación alcohólica [22]. Además, se estudió el uso de acetato de etilo y acetona para la separación líquido-líquido, centrándose en la extracción de inhibidores hidrofóbicos y no polares [23]. Con el propósito de determinar cuál método de remoción presenta una mayor eficacia en la eliminación de los inhibidores. La evaluación del impacto de cada método se realizó a través de la fermentación alcohólica para la obtención de bioetanol, debido a que la cuantificación de etanol presente en el licor gastado permitirá comparar la efectividad de los diferentes tratamientos de remoción y los efectos de los inhibidores biológicos en los bioprocesos.

2. METODOLOGÍA

En primera instancia se presentará en la figura 1 la esquematización de la parte experimental desde la carbonización hidrotérmica, los tratamientos aplicados y la fermentación del licor gastado.

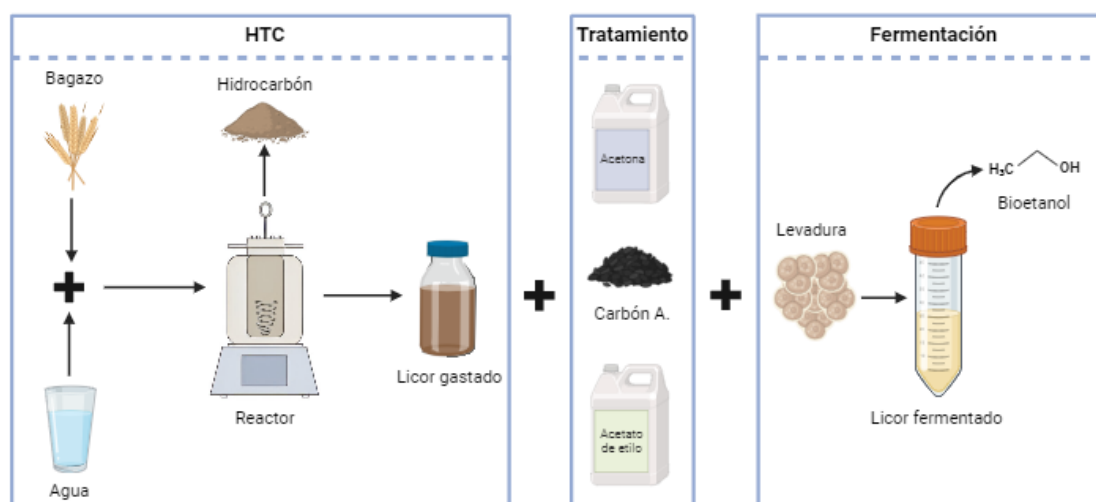


Figura 1. Esquematización parte experimental (realizado en BioRender.com)

2.1. Carbonización hidrotérmica

El estudio experimental se realizó utilizando como materia prima el bagazo de malta de cebada proveniente del proceso de fabricación de cerveza artesanal en Ecuador, el cual se ingresó en un reactor de alta presión (TGYF-B-500ML) en una relación 1:15 con agua destilada, ingresando 20 g de Cebada y 300 mL de Agua destilada. Una vez puesta la materia prima en el reactor, se estableció las condiciones de operación para la muestra. La temperatura se establece en cuatro niveles (180, 200, 220 y 240°C), el tiempo del tratamiento se definió para 1 h con 1000 rpm (agitación magnética) para cada muestra [9]. Al finalizar el proceso el sólido se separó del licor gastado por medio de filtración y la muestra se mantuvo en refrigeración hasta su uso para los estudios posteriores.

2.2. Tratamiento con carbón activado

Para el tratamiento con carbón activado, en un tubo Falcón se colocó 20 mL de licor gastado, después se puso en el tubo falcón 10% peso/peso de carbón activado previamente molido. El tubo con la muestra y el carbón activa se ingresó a una incubadora a 25°C por 30 min a 200 rpm. Una vez cumplido el tiempo de incubación, la muestra se centrifugó por 15 min a 4600 rpm, y finalmente se extrajo en un nuevo tubo Falcón el líquido separado del carbón activado sólido.

2.3. Extracción líquido - líquido

Con respecto a la extracción líquido – líquido, se utilizó como reactivos acetato de etilo y acetona para cada tratamiento. En ambos tratamientos se utilizó una relación 2:1 v/v, donde por cada mL de licor gastado se utiliza 2 mL del reactivo. El tratamiento se realizó en una incubadora a 25°C por 3 h a 150 rpm sin presencia de luz, luego de 3 horas se dejó reposar a 20°C por 1 h sin luz. Para el tratamiento con acetato de etilo y acetona, con una pipeta de Pasteur, se separó la fase superior conocida como fase orgánica, y la fase inferior o acuosa, donde la fase acuosa se almacena para su posterior análisis.

2.4. Determinación de azúcares reductores

Para la determinación de azúcares reductores presentes en el licor gastado y sus tratamientos, se utilizó el método de Ácido 3,5-Dinitrosalicílico (DNS) [24]. Primero, en un tubo de ensayo se agregó 5 mL de agua destilada, 1 mL de la muestra diluida y 1 mL del reactivo DNS. Cabe recalcar que el reactivo DNS es fotosensible, por lo cual el experimento se realizó con la ausencia de luz. En el caso del blanco se utilizó 6 mL de agua destilada y 1 mL del reactivo DNS. Después, se llevó el tubo de ensayo a baño maría a 100°C por 5 min y se dejó enfriando la muestra a temperatura ambiente [24]. Para la

medición, se utilizó el equipo de Genesys 50 UV/VIS con celdas de cuarzo a una longitud de onda de 540 nm.

2.5. Determinación de fenoles

Para la determinación de fenoles y polifenoles, se utilizó el método Folin Ciocalteu (FC) [25], el cual implica el uso de reactivos fotosensibles. Para la determinación, se realizó una curva de calibración con un estándar de ácido gálico. Y para la medición, en un vial se agregó 100 μL de la muestra con 500 μL del reactivo FC al 0,02 N, y se dejó incubar a temperatura ambiente por 5 min. A continuación, se adicionó 400 μL de carbonato de calcio y se almacenó en oscuridad a temperatura ambiente por 2 h [25]. Para la medición, se midió la absorbancia en el equipo de Genesys 50 UV-VIS a una longitud de onda de 760 nm.

2.6. Fermentación alcohólica

En un tubo Falcón de 50 mL se colocaron 3 mL de la muestra de licor gastado, regulando su pH en rango entre 4,5 a 5,2. Se agregó 1,5 g de levadura *Saccharomyces cerevisiae* por cada 50 mL de licor, la cual se activó previamente con agua utilizando una relación de 10 veces el peso de la levadura a 30°C y por 30 min. Después de agregar la levadura activa al licor se tomó una alícuota en un vial y se congeló para su análisis posterior. Con un tapón de caucho, una manguera y Parafilm, se selló el tubo con la muestra, y con ayuda de hidróxido de sodio al 2% se realizó una trampa de CO₂ producido durante la fermentación. La fermentación se llevó a cabo en una incubadora a 30°C a 50 rpm por 72 h [24]. Después de la fermentación, se realizó una centrifugación de la muestra para la separación de la levadura y el líquido. En un tubo Falcón, se agregó el licor fermentado y se congeló para su estudio previo.

2.7. Cuantificación de bioetanol

Para la cuantificación de bioetanol, se colocó en un vial 100 μL de una solución de 50 ppm de tetrahidrofurano (THF) y 1 mL de muestra diluida previamente descongelada. Para la cuantificación se empleó el equipo Trace 3000 GC en conjunto con un ISQ 7000 MS con una columna TG-WAXMS A de 30 m. Los parámetros utilizados fueron un Split ratio de 25, con temperatura de inyección de 200°C y un gradiente de temperatura de 45°C hasta 200°C en un tiempo de corrida de 18,50 min. Por medio de la relación de áreas de los picos de THF y etanol se determinó la concentración en g/L [24]. A partir de los gramos de etanol se determinó el rendimiento de la fermentación a partir de la siguiente ecuación.

$$Eficiencia \% = \frac{\text{mol Etanol}}{\text{mol máximo teórico Etanol}} \times 100 \quad (1)$$

2.8. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se realizó 3 réplicas del experimento y todos los análisis se realizaron por triplicado ($n=3$). Los resultados obtenidos se muestran como el promedio \pm desviación estándar. Por medio del software Minitab 17 se realizó el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey para comparación por pares con un nivel de confianza del 95% ($\alpha=0.05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1. Caracterización de azúcares reductores

La caracterización de los azúcares reductores es fundamental para determinar el sí una muestra, en este caso el licor gastado, tiene el potencial de ser utilizado en procesos que requieran microorganismo. Desde las carbonizaciones hidrotérmicas a las 4 temperaturas distintas, y sus tratamientos para la remoción de los inhibidores biológicos, se realizó la cuantificación de los azúcares reductores en gramos por litro de licor [g/L], obteniendo un máximo de 21,92 [g/L] de azúcares reductores para la temperatura de 180°C sin tratamiento.

En la figura 2, se aprecia las concentraciones de azúcares de los distintos licores y se percibe una tendencia en la disminución de azúcares con el aumento de la temperatura de HTC. Esta reducción ocurre en otras carbonizaciones hidrotérmicas como los procesos de HTC con celulosa y hemicelulosa, donde disminuye la cantidad de azúcar presente en el líquido al tener una mayor temperatura y tiempo de carbonización [26]. La disminución de los azúcares reductores a altas temperaturas ocurre por una mayor degradación de los azúcares y formando otros compuestos químicos como el 5-HMF para las hexosas o el 2-furfuralaldehído para las pentosas, donde en los dos escenarios los azúcares reductores pierden 3 moléculas de agua [27]. En la que, utilizando la prueba de Tukey se determinó que las temperaturas de carbonización de 180 y 200°C son estadísticamente iguales, de igual forma que las temperaturas de 220 y 240°C.

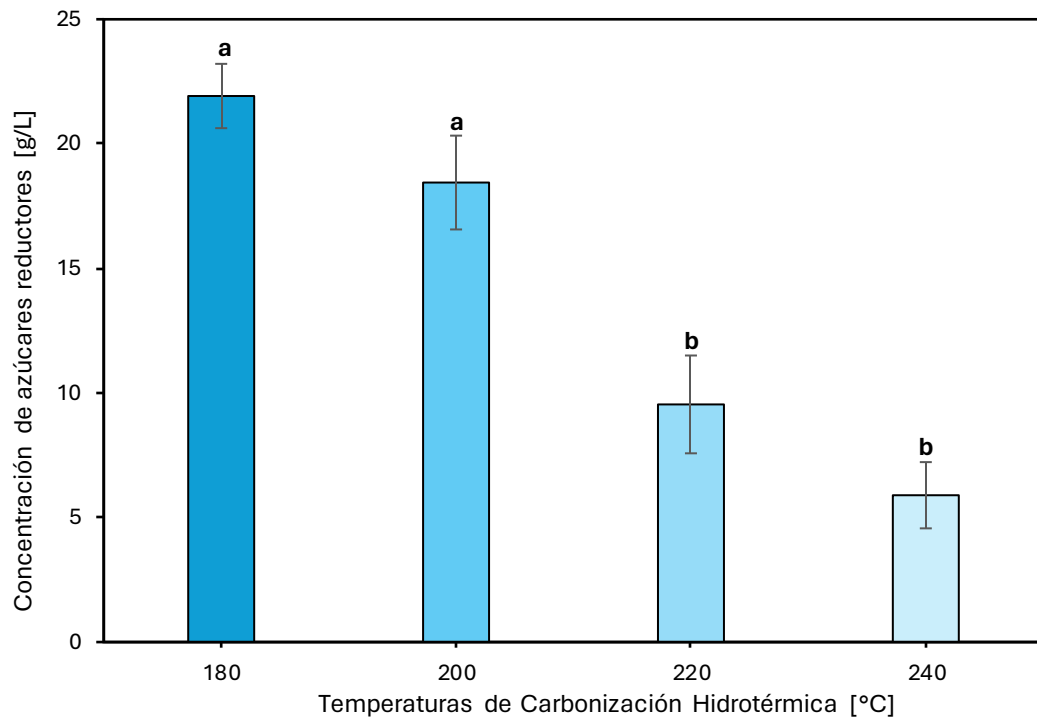


Figura 2. Concentración de azúcares en [g/L] vs. Temperatura de carbonización.

Además, se observa en la figura 3 el efecto de los tratamientos en la reducción de la concentración de azúcar y por medio de la prueba de Tukey se determinó que en la temperatura de 180°C el tratamiento con carbón activado tiene una menor reducción de azúcares en comparación con los tratamientos con acetato de etilo y acetona, en la cual el tratamiento con acetona presentó la menor concentración de azúcares. Por el contrario, esta diferencia entre tratamientos no se replica en las carbonizaciones de mayor temperatura, ya que, en las temperaturas de 200, 220 y 240°C la concentración de azúcar de los tratamientos son similares estadísticamente.

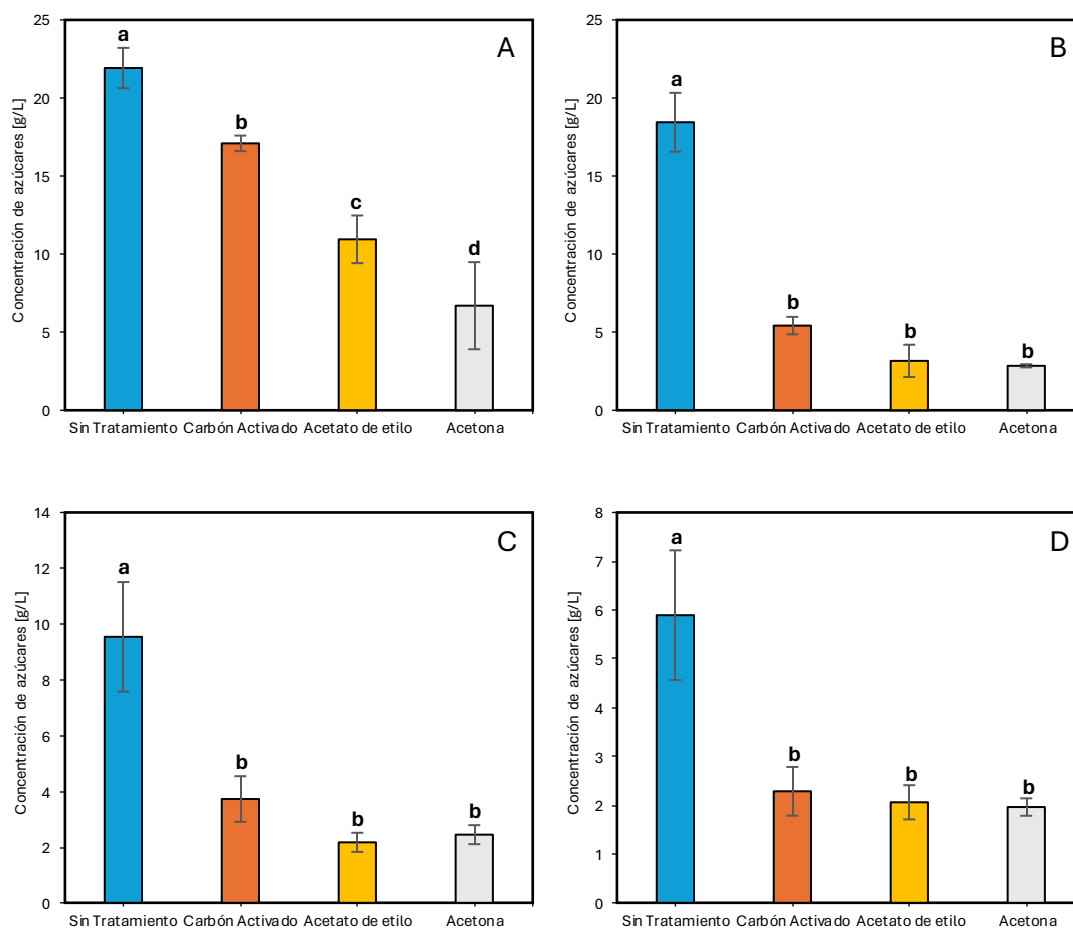


Figura 3. Concentración de azúcares en [g/L] vs. Tratamiento para las temperaturas de: (A) 180°C, (B) 200°C, (C) 220°C y (D) 240°C.

3.2. Caracterización de fenoles

En cuanto a la caracterización de fenoles en el licor gastado, por medio del método Folin-FC se adquirió las concentraciones de fenoles en [mM] de los licores gastados de HTC de cebada a diferentes temperaturas y tratamientos, donde la mayor concentración obtenida fue a 220°C sin tratamiento de remoción con 11,09 [mM] de concentración de fenoles. Con base en la literatura se espera que el grupo fenólico predominante en el licor gasta proveniente del bagazo de cebada sea el ácido ferúlico, ya que corresponde a más del 70% de los ácidos fenólicos [28].

A través de los resultados obtenidos en la figura 4 y la prueba de comparación por pares de Tukey, se establece con un nivel de confianza del 95% que la temperatura no afecta en la concentración de polifenoles del licor gastado, ya que las 4 temperaturas comparten una misma letra y tienen medias estadísticamente iguales.

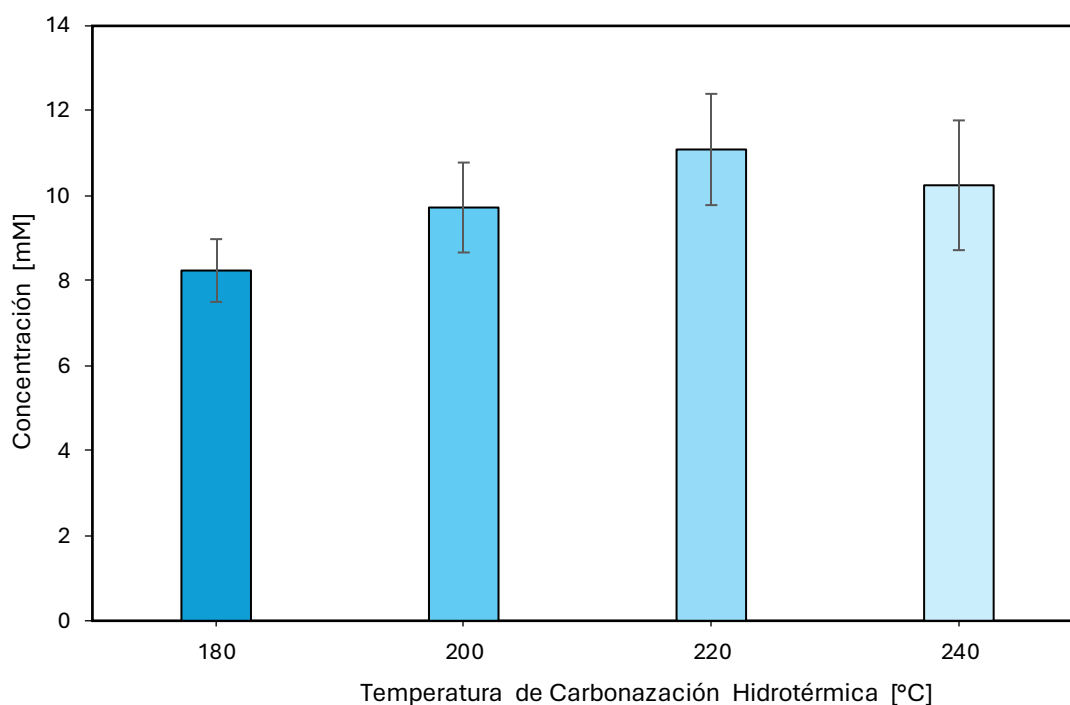


Figura 4. Concentración de polifenoles [mM] vs. Temperatura de carbonización.

Por medio de la figura 5, se distingue que los tratamientos para la remoción de inhibidores biológicos son efectivos, provocando una remoción de aproximadamente el 80% de los fenoles en el licor de mayor temperatura de carbonización. Asimismo, a la temperatura de 180 y 200°C el tratamiento con acetato de etilo tienen una concentración de polifenoles estadísticamente igual a los tratamientos con acetona y carbón activado, pero las concentraciones de carbón activado y acetona no son iguales.

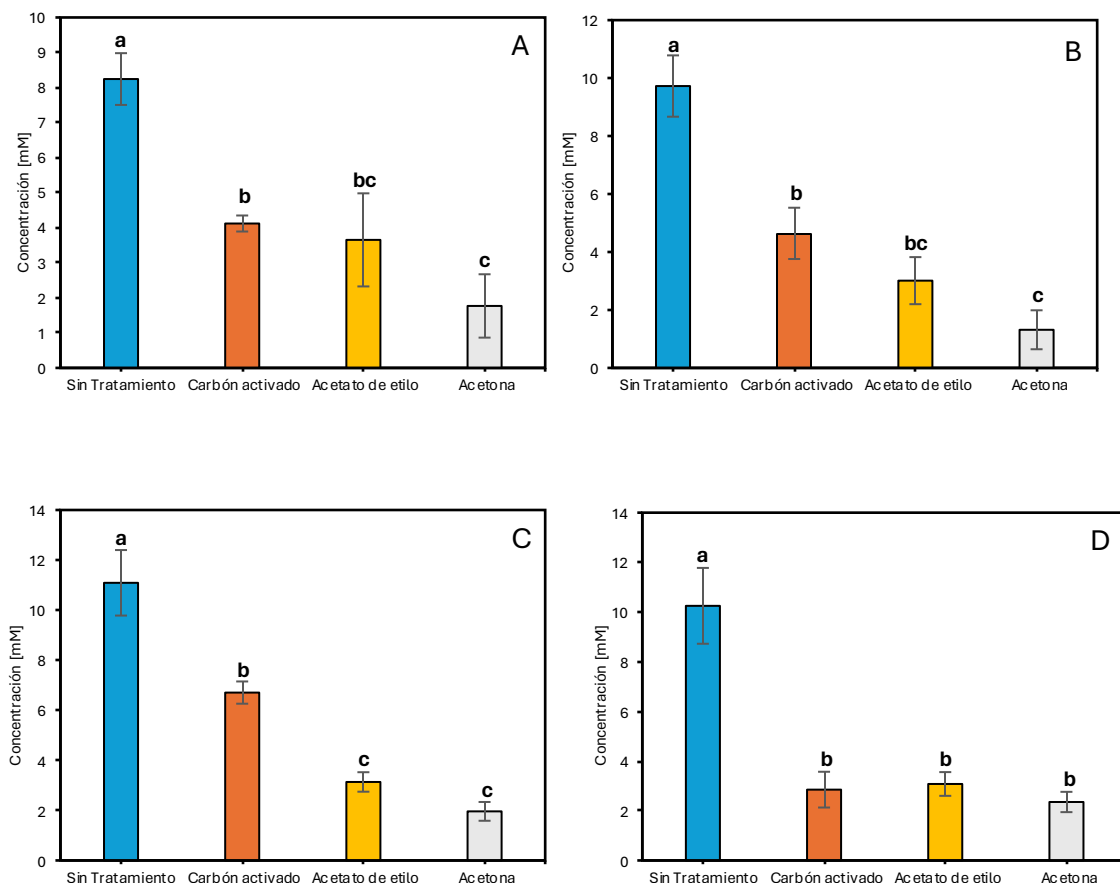


Figura 5. Concentración de polifenoles [mM] vs. Tratamientos para las temperaturas de: (A) 180°C, (B) 200°C, (C) 220°C y (D) 240°C.

Por otro lado, la concentración de fenoles obtenida difiere de la literatura, la cual plantea la presencia de alrededor de 9,2% de fenoles y derivados en el licor gastado de múltiples biomásas [29], donde el porcentaje varía dependiendo de la biomasa utilizada, pero funciona como un indicativo. Por este motivo, la cebada al contener 1,45 mg/g de compuestos fenólicos [30], teóricamente el licor gastado proveniente del HTC de cebada debería contener 133,4 ppm de fenoles lo que difiere con las concentraciones obtenidas en la figura 3, pero esta diferencia tiene sentido ya que se utilizó como materia prima la cebada residual del proceso de elaboración de cerveza, debido a que la biomasa pasó por un proceso previo, el cual es la maceración de la malta en el proceso cervecero, a la carbonización hidrotérmica la cantidad de fenoles presentes en la biomasa se reduce

sustancialmente, y este fenómeno se repite para los otros compuestos químicos presentes en la cebada.

3.3. Cuantificación de bioetanol

En relación con la cuantificación de bioetanol, se realizó las mediciones respectivas de las fermentaciones y sus alícuotas antes de realizar la fermentación. Conviene subrayar que las fermentaciones se realizaron para 2 muestras, la primera fueron las muestras del licor gastado a diferentes temperaturas sin tratamiento de remoción y la segunda fueron las muestras a diferentes temperaturas tratadas con acetato de etilo. La razón por lo que no se realizó las fermentaciones para el carbón activado, se debe a que en fermentaciones preliminares la producción de etanol proveniente de los licores tratados con carbón activado fue prácticamente nula, posiblemente por la presencia de partículas de carbón activado en licor que no fueron removidas mediante la filtración del líquido, provocando que el carbón adsorbiera el etanol del licor o algún nutriente esencial para el crecimiento de la levadura. Este problema de baja productividad para procesos de fermentación con carbón activado se reportó en investigaciones previas, en la cual postulan que una alta concentración del reactivo en el medio de bioconversión provocó la baja productividad [31]. En otro punto, los tratamientos con acetona fueron descartados para la fermentación debido a la baja concentración de azúcares reductores en los licores tratados y su similitud con el acetato de etilo, por consiguiente, con el fin de consumir la menor cantidad de recursos se decidió descartar la fermentación de los licores tratados con acetona.

Como se aprecia en la figura 6, el licor gastado tratado con acetato de etilo produjo la mayor cantidad de etanol en comparación con los licores a las mismas temperaturas sin tratamiento previo, donde la temperatura de carbonización a 200 °C presentó una mejor conversión de etanol para el licor sin tratamiento, esto se puede explicar debido a que a 200 °C se produce una mayor degradación de la biomasa a comparación de temperaturas

de carbonización menores, y esta degradación posiblemente aumente la presencia de glucosa a comparación de otros azúcares reductores favoreciendo la conversión a etanol [32]. Por lo que, incluso si la cantidad de azúcares reductores sea menor en comparación a la temperatura de 180°C, al haber una mayor presencia de glucosa la productividad de etanol será mayor. En cuanto a los licores tratados por acetato de etilo, también se demostró que las temperaturas de 200°C y 180°C presentaron una mayor concentración de etanol.

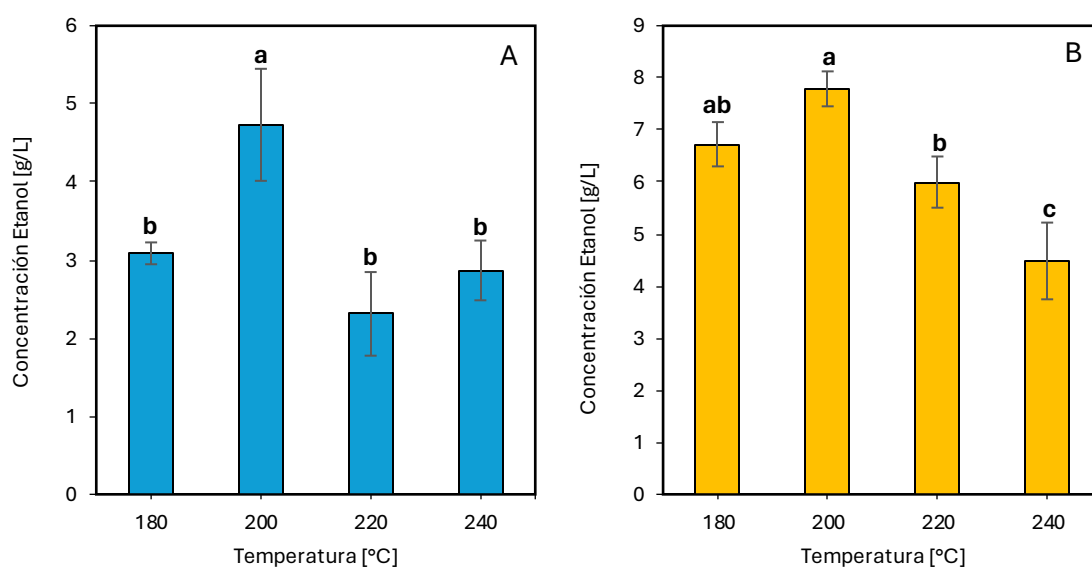


Figura 6. Concentración de etanol [g/L] vs. Temperatura de los tratamientos: (A) Sin Tratamiento y (B) Acetato de etilo.

Por otro lado, en la figura 7 se presenta una pequeña concentración etanol en las alícuotas tomadas antes de la fermentación, donde las muestras sin tratamiento tienen una concentración casi nula de etanol mientras que las muestras con acetato de etilo tienen concentraciones más significativas. Esto se debe a la posibilidad de una rápida producción de etanol por parte de la levadura, debido a que las alícuotas no se refrigeraron de manera inmediata y se mantuvieron a temperatura ambiente en un lapso de máximo 5 minutos provocando una generación de etanol en la alícuota.

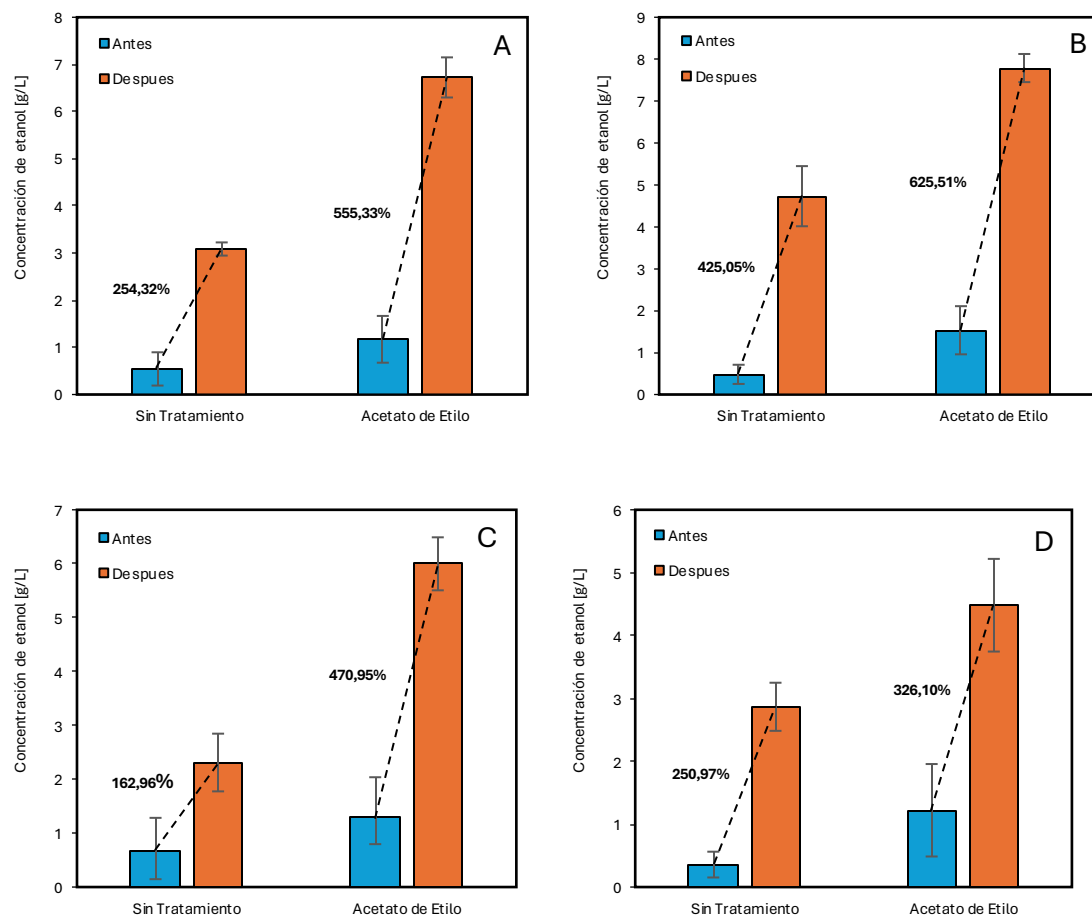


Figura 7. Concentración de etanol [g/L] al inicio y final de la fermentación, y el incremento de la concentración de etanol en porcentaje para las temperaturas de: (A) 180°C, (B) 200°C, (C) 220°C y (D) 240°C.

A partir de los resultados obtenidos, se demuestra que la presencia de inhibidores biológicos en los licores afecta en la fermentación alcohólica ya que el tratamiento con acetato de etilo para la remoción de estos inhibidores presentó una mejora en la producción de bioetanol, dado que los licores gastados tratados con acetato de etilo tienen un mayor porcentaje de incremento en la concentración de etanol. En la cual, investigaciones previas sobre digestión anaerobia muestran que efectivamente la aplicación de un tratamiento para la remoción de inhibidores mejora de manera considerable el rendimiento del proceso [14].

Por medio de los resultados obtenidos se utilizó la ecuación (1) planteada anteriormente para determinar la eficiencia de la fermentación se obtuvo la figura 8. Se muestra que el licor tratado con acetato de etilo presenta una mayor eficiencia con relación a la producción de etanol real y la obtención teórica a partir de la concentración de azúcar, donde a 240 °C al tener una baja concentración de azúcares se logra alcanzar un alto porcentaje de eficiencia tanto para las muestras sin tratamiento y con acetato de etilo.

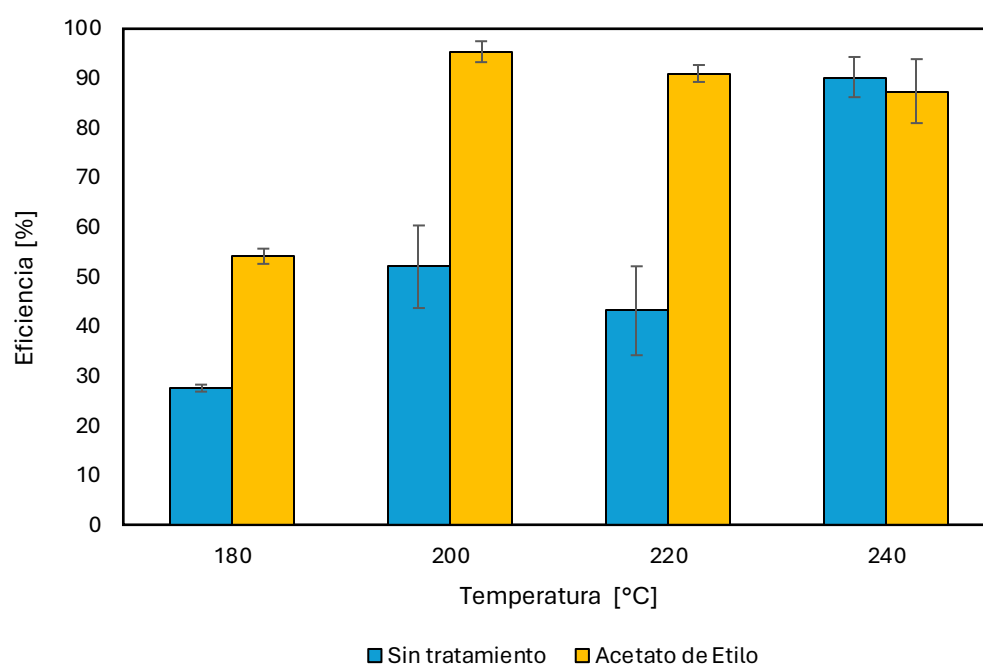


Figura 8. Eficiencia [%] de producción de etanol de las fermentaciones a diferentes temperaturas.

4. CONCLUSIÓN

La investigación comenzó con la caracterización azúcares reductores y compuestos fenólicos presentes en el licor gastado proveniente del bagazo de cebada. Se determinó que la temperatura tiene un efecto significativo en la concentración de azúcares y que a temperaturas de carbonización mayores a 200°C la concentración disminuye sustancialmente. De igual manera, se definió que los métodos de remoción de azúcares reductores reducen la cantidad de azúcares en el licor, y temperaturas mayores a 180°C no presentan diferencia estadística en la concentración de azúcares por parte de los tratamientos.

Por otro lado, se estableció que la temperatura no afecta en la concentración de fenoles del licor gastado y que los tratamientos de remoción son efectivos para la eliminación de estos compuestos, siendo los tratamientos con acetato de etilo y acetona los más efectivos. Por último, se concluyó que la remoción de inhibidores biológicos aumenta la eficiencia de la fermentación alcohólica. Además, la temperatura tiene un efecto en la cantidad de bioetanol producido, resultando en que una temperatura de carbonización a 180°C con el tratamiento de acetato de etilo es la condición óptima para tener una mayor producción de bioetanol a un costo energético menor. Mostrando resultados favorables para el uso de del licor gastado proveniente del proceso de HTC de biomasa residual en bioprocesos.

5. REFERENCIAS

- [1] K. Habschied, A. Živkovi ´c, V. K. Krstanovi ´c, and K. M. Mastanjevi ´c, “Functional Beer-A Review on Possibilities”, doi: 10.3390/beverages6030051.
- [2] L. Albanese, R. Ciriminna, F. Meneguzzo, and M. Pagliaro, “Gluten reduction in beer by hydrodynamic cavitation assisted brewing of barley malts,” *LWT - Food Science and Technology*, vol. 82, pp. 342–353, Sep. 2017, doi: 10.1016/j.LWT.2017.04.060.
- [3] C. W. Bamforth and G. P. Fox, “Malting and brewing,” *ICC Handbook of 21st Century Cereal Science and Technology*, pp. 363–368, Jan. 2023, doi: 10.1016/B978-0-323-95295-8.00013-7.
- [4] V. Dopazo *et al.*, “Revalorization of beer brewing waste as an antifungal ingredient for bread biopreservation,” *Food Biosci*, vol. 58, p. 103588, 2024, doi: 10.1016/j.fbio.2024.103588.
- [5] P. Ramiro, “Industria cervecera artesanal en Quito y la transformación de bagazo de la cerveza en harina,” *Revista Conectividad*, vol. 2, no. 1, pp. 57–70, 2021.
- [6] V. F. Meseguer, J. F. Ortuño, M. I. Aguilar, M. Lloréns, A. B. Pérez-Marín, and E. Fuentes, “Ciprofloxacin Uptake from an Aqueous Solution via Adsorption with K₂CO₃-Activated Biochar Derived from Brewing Industry Bagasse,” *Processes*, vol. 12, no. 1, Jan. 2024, doi: 10.3390/pr12010199.
- [7] T. R. Sarker, S. Nanda, and A. K. Dalai, “Hydrogen-rich gas production from hydrothermal gasification of fuel pellets obtained from co-pelletization of agricultural residues,” *Int J Hydrogen Energy*, vol. 52, pp. 80–93, Jan. 2024, doi: 10.1016/j.ijhydene.2022.09.134.
- [8] A. Khosravi *et al.*, “Hydrochars as slow-release phosphorus fertilizers for enhancing corn and soybean growth in an agricultural soil,” *Carbon Research*, vol. 3, no. 1, pp. 1–19, Dec. 2024, doi: 10.1007/S44246-023-00086-W/FIGURES/7.
- [9] S. K. Hoekman, A. Broch, C. Robbins, B. Zielinska, and L. Felix, “Hydrothermal carbonization (HTC) of selected woody and herbaceous biomass feedstocks,” *Biomass Convers Biorefin*, vol. 3, no. 2, pp. 113–126, Jun. 2013, doi: 10.1007/s13399-012-0066-y.
- [10] H. Yang, Y. Tang, H. Huang, J. Tang, S. Wang, and X. Ma, “Activation of hydrochar derived from food waste via hydrothermal carbonization for Cu(II) adsorption,” *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, vol. 46, no. 1, pp. 1359–1369, Dec. 2024, doi: 10.1080/15567036.2023.2298287.
- [11] S. Celletti *et al.*, “Evaluating the Aqueous Phase From Hydrothermal Carbonization of Cow Manure Digestate as Possible Fertilizer Solution for Plant Growth,” *Front Plant Sci*, vol. 12, Jun. 2021, doi: 10.3389/fpls.2021.687434.
- [12] D. Scrinzi, R. Ferrentino, E. Baù, L. Fiori, and G. Andreottola, “Sewage Sludge Management at District Level: Reduction and Nutrients Recovery via Hydrothermal Carbonization,” *Waste Biomass Valorization*, vol. 14, no. 8, pp. 2505–2517, Aug. 2023, doi: 10.1007/s12649-022-01943-2.

- [13] L. Leng and W. Zhou, "Chemical compositions and wastewater properties of aqueous phase (wastewater) produced from the hydrothermal treatment of wet biomass: A review," *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects*, vol. 40, no. 22. Taylor and Francis Inc., pp. 2648–2659, Nov. 17, 2018. doi: 10.1080/15567036.2018.1495780.
- [14] M. T. Reza, A. Freitas, X. Yang, and C. J. Coronella, "Wet Air Oxidation of Hydrothermal Carbonization (HTC) Process Liquid," *ACS Sustain Chem Eng*, vol. 4, no. 6, pp. 3250–3254, Jun. 2016, doi: 10.1021/acssuschemeng.6b00292.
- [15] S. Mahata, S. R. Periyavaram, N. K. Akkupalli, S. Srivastava, and C. Matli, "A review on Co-Hydrothermal carbonization of sludge: Effect of process parameters, reaction pathway, and pollutant transport," *Journal of the Energy Institute*, vol. 110, p. 101340, Oct. 2023, doi: 10.1016/j.joei.2023.101340.
- [16] K. Czerwińska, A. Marszałek, E. Kudlek, M. Śliz, M. Dudziak, and M. Wilk, "The treatment of post-processing liquid from the hydrothermal carbonization of sewage sludge," *Science of The Total Environment*, vol. 885, p. 163858, Aug. 2023, doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2023.163858.
- [17] R. Ferrentino, M. Langone, D. Mattioli, L. Fiori, and G. Andreottola, "Investigating the Enhancement in Biogas Production by Hydrothermal Carbonization of Organic Solid Waste and Digestate in an Inter-Stage Treatment Configuration," *Processes*, vol. 10, no. 4, Apr. 2022, doi: 10.3390/pr10040777.
- [18] C. Victoria Rueda Rodríguez, "UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ Colegio de Ciencias e Ingenierías."
- [19] N. Khalaf, W. Shi, W. Kwapinski, and J. J. Leahy, "Hydrothermal carbonization (HTC) of dairy waste: effect of temperature and initial acidity on the composition and quality of solid and liquid products," *Open Research Europe*, vol. 2, p. 83, Jun. 2022, doi: 10.12688/openreseurope.14863.1.
- [20] R. Ferrentino, F. Merzari, E. Grigolini, L. Fiori, and G. Andreottola, "Hydrothermal carbonization liquor as external carbon supplement to improve biological denitrification in wastewater treatment," *Journal of Water Process Engineering*, vol. 44, p. 102360, Dec. 2021, doi: 10.1016/J.JWPE.2021.102360.
- [21] M. Lucian, F. Merzari, M. Gubert, A. Messineo, and M. Volpe, "Industrial-scale hydrothermal carbonization of agro-industrial digested sludge: Filterability enhancement and phosphorus recovery," *Sustainability (Switzerland)*, vol. 13, no. 16, Aug. 2021, doi: 10.3390/su13169343.
- [22] W. K. Pui, R. Yusoff, and M. K. Aroua, "A review on activated carbon adsorption for volatile organic compounds (VOCs)," *Reviews in Chemical Engineering*, vol. 35, no. 5. De Gruyter, pp. 649–668, Jul. 01, 2019. doi: 10.1515/revce-2017-0057.
- [23] T. Llano *et al.*, "Liquid–Liquid Extraction of Phenolic Compounds from Spent Sulphite Liquor," *Waste Biomass Valorization*, vol. 6, no. 6, pp. 1149–1159, Dec. 2015, doi: 10.1007/s12649-015-9425-9.

- [24] D. Almeida and D.-I. José Álvarez, “UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ COLEGIO DE CIENCIAS E INGENIERÍA HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR.”
- [25] L. Chimbo, A. Landázuri, and J. M. Álvarez, “UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ,” 2022. Accessed: Mar. 30, 2024. [Online]. Available: <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/12410>
- [26] E. Bevan, G. Santori, and M. Luberti, “Kinetic modelling of the hydrothermal carbonisation of the macromolecular components in lignocellulosic biomass,” *Bioresour Technol Rep*, vol. 24, p. 101643, Dec. 2023, doi: 10.1016/J.BITEB.2023.101643.
- [27] S. Arias-Giraldo and D. M. López-Velasco, “Reacciones químicas de los azúcares simples empleados en la industria alimentaria,” *Lámpsakos*, no. 22, pp. 123–136, Nov. 2019, doi: 10.21501/21454086.3252.
- [28] D. O. Carvalho and L. F. Guido, “A review on the fate of phenolic compounds during malting and brewing: Technological strategies and beer styles,” *Food Chem*, vol. 372, p. 131093, Mar. 2022, doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2021.131093.
- [29] A. de Mora *et al.*, “Chemically activated hydrochars as catalysts for the treatment of HTC liquor by catalytic wet air oxidation,” *Catal Today*, vol. 429, Mar. 2024, doi: 10.1016/j.cattod.2023.114462.
- [30] F. Anwar, H. M. A. Qayyum, A. I. Hussain, and S. Iqbal, “Antioxidant activity of 100% and 80% methanol extracts from barley seeds (*Hordeum vulgare* L.): Stabilization of sunflower oil,” *Grasas y Aceites*, vol. 61, no. 3, pp. 237–243, Jul. 2010, doi: 10.3989/gya.087409.
- [31] L. Dufossé, I. Souchon, G. Feron, A. Latrasse, and H. E. Spinnler, “In situ detoxification of the fermentation medium during γ -decalactone production with the yeast *Sporidiobolus salmonicolor*,” *Biotechnol Prog*, vol. 15, no. 1, pp. 135–139, 1999, doi: 10.1021/bp980113a.
- [32] “Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas.” Accessed: May 06, 2024. [Online]. Available: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-77432007000400004

6. ANEXO

6.1 ANEXO A: Análisis estadístico-resultados

6.1.1 ANEXO A1: Azúcares reductores.

Tabla 1. Prueba de Tukey de concentración de azúcares a las diferentes temperaturas de carbonización

Prueba de comparación de pares Tukey: Temperatura de carbonización			
Agrupación de información utilizando el método Tukey y 95% de confianza			
Temperatura	N	Media	Grupo
180°C	3	21,9200	A
200°C	3	18,4467	A
220°C	3	9,5433	B
240°C	3	5,8933	B

Tabla 2. Prueba Tukey de la concentración de azúcares de los tratamientos para cada temperatura

Prueba de comparación de pares Tukey: Tratamiento			
Temperatura: 180°C			
Agrupación de información utilizando el método Tukey y 95% de confianza			
Tratamiento	N	Media	Grupo
Sin tratamiento	3	21,9184	A
Carbón activado	3	17,0933	B
Acetato de etilo	3	10,9500	C
Acetona	3	6,7000	D
Temperatura: 200°C			
Agrupación de información utilizando el método Tukey y 95% de confianza			
Tratamiento	N	Media	Grupo
Sin tratamiento	3	18,4467	A
Carbón activado	3	5,4233	B
Acetato de etilo	3	3,1667	B
Acetona	3	2,8467	B
Temperatura: 220°C			
Agrupación de información utilizando el método Tukey y 95% de confianza			
Tratamiento	N	Media	Grupo
Sin tratamiento	3	9,54333	A
Carbón activado	3	3,72000	B
Acetato de etilo	3	2,44333	B

Acetona	3	2,17000		B
Temperatura: 240°C				
Agrupación de información utilizando el método Tukey y 95% de confianza				
Tratamiento	N	Media	Grupo	
Sin tratamiento	3	5,89333	A	
Carbón activado	3	2,28333		B
Acetato de etilo	3	2,06333		B
Acetona	3	10,9633		B

6.1.2 ANEXO A2: Fenoles.

Tabla 3. Prueba de Tukey de concentración de polifenoles a las diferentes temperaturas de carbonización

Prueba de comparación de pares Tukey: Temperatura de carbonización			
Agrupación de información utilizando el método Tukey y 95% de confianza			
Temperatura	N	Media	Grupo
220°C	3	11,0867	A
240°C	3	10,2633	A
200°C	3	9,7267	A
180°C	3	8,2400	A

Tabla 4. Prueba Tukey de la concentración de polifenoles de los tratamientos para cada temperatura

Prueba de comparación de pares Tukey: Tratamiento			
Temperatura: 180°C			
Agrupación de información utilizando el método Tukey y 95% de confianza			
Tratamiento	N	Media	Grupo
Sin tratamiento	3	8,24000	A
Carbón activado	3	4,12000	B
Acetato de etilo	3	3,65333	B C
Acetona	3	1,76667	C
Temperatura: 200°C			
Agrupación de información utilizando el método Tukey y 95% de confianza			
Tratamiento	N	Media	Grupo
Sin tratamiento	3	9,72667	A
Carbón activado	3	4,64333	B
Acetato de etilo	3	3,01333	B C
Acetona	3	1,31333	C
Temperatura: 220°C			
Agrupación de información utilizando el método Tukey y 95% de confianza			
Tratamiento	N	Media	Grupo
Sin tratamiento	3	11,0867	A
Carbón activado	3	6,7033	B
Acetato de etilo	3	3,1367	C
Acetona	3	1,8233	C
Temperatura: 240°C			
Agrupación de información utilizando el método Tukey y 95% de confianza			
Tratamiento	N	Media	Grupo
Sin tratamiento	3	10,2633	A

Carbón activado	3	3,0800	B
Acetato de etilo	3	2,8500	B
Acetona	3	2,3533	B

6.1.3 ANEXO A3: Bioetanol.

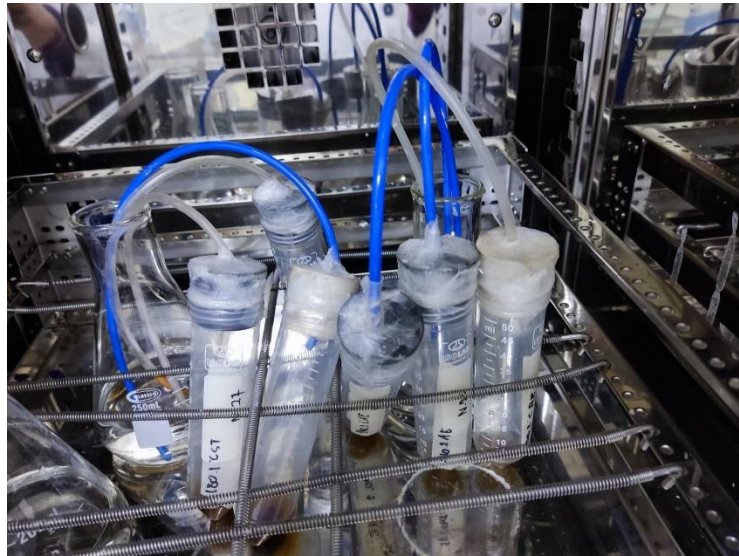


Figura 9. Lote de fermentaciones alcohólicas

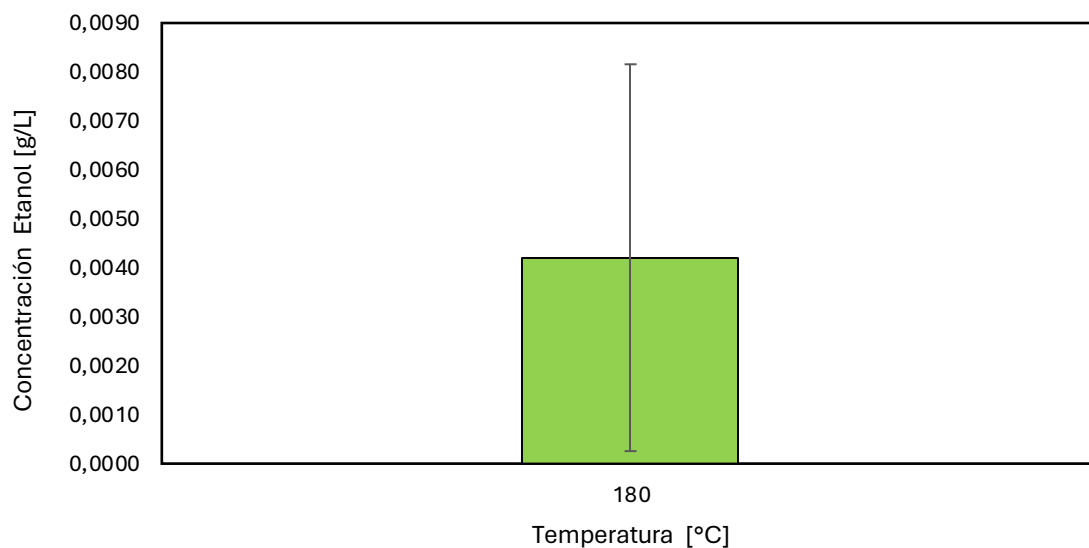


Figura 10. Concentración de etanol [g/L] de la temperatura de 180°C con carbón activado. Medición por triplicado

Tabla 5. Prueba de Tukey de concentración de etanol a las diferentes temperaturas de carbonización

Prueba de comparación de pares Tukey: Temperatura de carbonización

Sin Tratamiento			
Agrupación de información utilizando el método Tukey y 95% de confianza			
Temperatura	N	Media	Grupo
200°C	3	4,73150	A
180°C	3	3,08590	B

240°C	3	2,86700	B	
220°C	3	2,31067	B	
Acetato de etilo				
Agrupación de información utilizando el método Tukey y 95% de confianza				
Temperatura	N	Media	Grupo	
200°C	3	7,78813	A	
180°C	3	6,72406	A	B
240°C	3	5,99732	B	
220°C	3	4,48225	C	