



7^{mo}
Congreso de
Medio Ambiente

Actas 7mo Congreso de Medio Ambiente AUGM
22 al 24 de mayo de 2012. UNLP. La Plata Argentina

IMPACTO DE LA HIDRÓLISIS DE AZÚCARES NO- REDUCTORES EN LA PRODUCCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE VINAZAS DE CERVECERÍAS

Impact of the hydrolysis of non-reducing sugars in the ethanol production from
breweries vinasses

Lisandro G Seluy^{a,b}, Paula M Firman^b, Miguel A Isla^{a,b,*}

^a Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química, INTEC (UNL-CONICET),
Guemes 3450 - Santa Fe, Argentina

^b Departamento de Medio Ambiente, Facultad de Ingeniería y Ciencias Hídricas, Universidad
Nacional del Litoral, ciudad Universitaria paraje el pozo s/n, Santa Fe, Argentina.

*Autor para correspondencia: Miguel A. Isla, Guemes 3450 3000 Santa Fe, Argentina

Tel +54 342 4 55 91 74/75/76/77 int. 2147; misla@santafe-conicet.gov.ar

Palabras clave: efluentes, cervecerías, etanol, levaduras

Keywords: wastewater, brewery, ethanol, yeast

Título abreviado: Hidrólisis ácida de vinazas

ABSTRACT

Some breweries liquid wastewater containing, among other compounds, ethanol (4-6% w/v), residual carbohydrate and cereal proteins, exhibit a high COD (Chemical Oxygen Demand), which can rise values as high as 180000 mg O₂/L. Ethanol separation by distillation can be used to reduce the organic load of these streams. This operation leaves as a residual a vinasse with a COD rounding 80000 mg O₂/L, a content of 20-30 g/L of total sugars and 6-10 g/L of reducing sugars. These can be used, after conversion to fermentable sugars, for the production of ethanol. In this work the acid hydrolysis of breweries vinasse was assayed through a central composite design. Production of ethanol on the natural hydrolyzate using *Saccharomyces cerevisiae* var. Windsor was also studied. The impact of different variables on the hydrolysis yield, such as time, concentration of total sugars and acid / sugar, were evaluated at 100 °C. Total sugars were determined by the Dubois *et al.* spectrophotometric technique and the reducing sugars by the method of dinitrosalicylic acid. Ethanol was determined with a sensor Figaro TGS 822. It was found that a maximum percentage of hydrolysis of 96.20% can be reached with a total initial sugar concentration of 134 g/L and a 0.39 g sulfuric acid/g total sugars ratio, in a 267.97 minutes hydrolysis time. Fermentation on this medium allows to produce ethanol with a yield of about 82% of its maximum theoretical value. This suggests the convenience of concentrating the medium prior to hydrolysis. It was demonstrated that the acid hydrolysis of breweries vinasses is a feasible option for ethanol production and COD reduction of these industrial wastewater.

RESUMEN

Algunos efluentes líquidos de la industria cervecera contienen, etanol (4-6 % p/v), carbohidratos remanentes de la fermentación, proteínas y restos de cereal, alcanzando valores de DQO (Demanda Química de Oxígeno) de 180000 mg O₂/L.

La separación por destilación del etanol, puede ser utilizada para disminuir dicha carga orgánica. Esta operación deja como residuo una vinaza con una DQO de aproximadamente 80000 mg O₂/L, un contenido de 20-30 g/L de azúcares totales y 6-10 g/L de azúcares reductores. Estos azúcares, previa conversión a azúcares fermentables,

pueden utilizarse para la producción de etanol, que junto a su separación posterior por destilación, constituyen una alternativa al tratamiento convencional para la disminución de la DQO.

En el presente trabajo se estudió la obtención de azúcares fermentables mediante hidrólisis ácida de vinazas de cerveza a través de un diseño central compuesto; y la producción de etanol sobre el medio hidrolizado.

Se estudió la incidencia de distintas variables en el rendimiento de hidrólisis: tiempo, concentración de azúcares totales y relación ácido/azúcar, a 100 °C.

Los azúcares totales se determinaron por el método de Dubois *et al.* y los azúcares reductores mediante el método del Ácido dinitrosalicílico. El etanol se determinó con un sensor Fígaro TGS 822.

El máximo porcentaje de hidrólisis de 96.20 % se alcanzó con 134 g/L azúcares totales iniciales, 267.97 minutos de hidrólisis y una relación 0.39 g ácido sulfúrico/g azúcares totales, lo que sugiere concentrar la vinaza en forma previa a la hidrólisis.

La fermentación del efluente hidrolizado, permitió obtener un rendimiento en etanol del 80 % del valor teórico. Se demostró que la hidrólisis ácida de vinazas de cervecería resulta una opción factible para la producción de etanol y la reducción de la DQO en efluentes de este tipo de industrias.

INTRODUCCIÓN

En la industria alimenticia, el sector cervecero ocupa una posición central, con una producción mundial superior a los 1500 millones de hL por año siendo la cerveza, la quinta bebida más consumida (Fillaudeau *et al.*, 2006; Preedy, 2009). En este tipo de industria, se producen de 6 a 8 hL de efluentes líquidos por cada hL de cerveza envasada, con una DQO entre 2000 – 6000 mg O₂/L (Kunze, 1999; Driessen & Vereijken, 2003; Fillaudeau *et al.*, 2005). Usualmente son tratados combinando sistemas anaeróbicos, generalmente reactores “UASB” (Upflow Anaerobic Sludge

Blanket), y aeróbicos, en plantas de “barros activados”. Si bien hay estudios que señalan esta combinación como la mejor alternativa para este tipo de efluentes, su eficiencia es variable (Metcalf & Eddy, 1991; Grady *et al.*, 1999), debido al carácter estacional de los niveles de producción de cerveza.

Algunas corrientes de alta carga orgánica, como las purgas de fermentadores y tanques de reposo, rechazos de envasado, etc., usualmente son separadas y almacenadas en tanques. Las que contienen levaduras, son comercializadas para la producción de alimentos balanceados, pero cuando esto no ocurre, ocasionan una importante sobrecarga en los sistemas de tratamiento, ya que se generan a razón de 2-4 hL por cada 100 hL de cerveza envasada, y consisten principalmente en “cerveza” concentrada con un 8-14 % m/v de levaduras y 4-7 % v/v de etanol, además de carbohidratos remanentes de la fermentación. Estas corrientes aún filtradas, presentan valores de DQO del orden de los 180000 mg O₂/L. Teniendo en cuenta que la oxidación total del etanol requiere de 2.09 mg O₂/mg etanol, éste puede ser responsable de hasta un 60 % de la misma. Por lo tanto, cualquier proceso que implique la separación del etanol redundará en una drástica disminución (y eventualmente la eliminación) de las necesidades de tratamiento de esta corriente previo a su disposición final (Isla *et al.*, 2008 a, b).

En nuestro grupo de trabajo se demostró que la separación por destilación del etanol contenido, puede ser utilizada para disminuir dicha carga orgánica (Seluy & Isla, 2010).

Esta operación deja una vinaza con una DQO de 80000 mg O₂/L, que contiene los carbohidratos presentes en la cerveza, 6-10 g/L azúcares fermentables, entre ellos fructosa, glucosa, maltosa, maltotriosa, maltotetraosa; y dextrinas, sumando un total de

20-30 g/L de azúcares totales (Preedy, 2009). Ese contenido de azúcares, cuya concentración puede aumentarse por evaporación parcial del agua, permite visualizar estas vinazas como un medio para producir etanol, previa conversión de los azúcares totales a azúcares fermentables, lo cual, seguido de una destilación del alcohol producido, permite una drástica reducción de la DQO de estas vinazas.

En el presente trabajo se estudió la obtención de azúcares fermentables mediante hidrólisis ácida de vinazas de cerveza a 100 °C. Se analizó la influencia de los factores tiempo, concentración de azúcares totales y relación g ácido/g azúcar sobre el porcentaje de hidrólisis y se obtuvieron los valores óptimos de dichos factores a través de un diseño central compuesto. Se comparó la producción de etanol en un medio obtenido utilizando las condiciones óptimas de hidrólisis frente a un medio compuesto de vinaza con igual concentración de azúcares totales, sin hidrolizar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los reactivos utilizados fueron grado pro-análisis. Se utilizó cerveza como símil de un efluente tipo.

Hidrólisis ácida con ácido sulfúrico

Para los ensayos de hidrólisis ácida, el efluente se sometió a destilación para extraer el etanol y posteriormente se concentró por evaporación a 60 °C hasta el valor máximo del

rango de concentraciones de azúcar adoptado para estas experiencias. Las concentraciones inferiores se obtuvieron por dilución con agua destilada estéril.

La hidrólisis se realizó en baño de agua a 100 °C, en tubos cerrados de 10 mL con agitación permanente.

El pH del efluente ya hidrolizado se ajustó a 5 con hidróxido de sodio sólido, se clarificó en esterilidad por centrifugación 5 min a 3000 rpm y se conservó a 4 °C para las experiencias posteriores.

Microorganismo y condiciones de cultivo para la producción de etanol

Se utilizó la levadura *Saccharomyces cerevisiae* var. Windsor., obtenida en forma comercial. Se cultivó en medio YPG modificado, conteniendo glucosa 20 g/L; peptona de carne 5 g/L y extracto de levadura 5 g/L, completando el volumen con agua destilada (Bartnicki-Garcia & Nickerson, 1962). El medio se esterilizó en autoclave por 15 min a 121 °C.

Para la preparación del inóculo se cultivaron las células en erlenmeyer de 1 L, con 300 mL de medio por 14 h a 30 °C. Posteriormente se cosecharon por centrifugación 5' a 3000 rpm, se lavaron 2 veces y se resuspendieron en agua destilada estéril.

Los ensayos de fermentación se realizaron en reactores de 50 mL con un volumen útil de 25 mL, provistos de dispositivos para toma de muestra, adecuados para mantener la esterilidad y la anaerobiosis. Los ensayos se realizaron por duplicado en agitación orbital a 145 rpm a una temperatura de 30°C. Se tomaron muestras cada 180 min,

realizando un seguimiento en el tiempo de la concentración de azúcares reductores, biomasa y etanol.

Métodos analíticos

La determinación de azúcares reductores se realizó mediante una modificación de la técnica espectrofotométrica descrita por Miller (1959), utilizando como reactivo de color una solución de ácido dinitrosalicílico (DNS) compuesta por 1% m/v ácido di nitro salicílico, 1% m/v hidróxido de sodio, completando el volumen con agua destilada.

Para la confección de la curva de calibrado se utilizó glucosa anhidra, expresando la concentración de azúcares reductores como g glucosa/L. La determinación de azúcares totales se realizó mediante el método espectrofotométrico “fenol-sulfúrico” descrito por (Dubois *et al.*, 1956), utilizando una solución de fenol al 5 % como reactivo de color. Se utilizó glucosa anhidra para la realización de la curva de calibrado expresando la concentración de azúcares totales como g glucosa/L.

Para la determinación de biomasa, las muestras se centrifugaron 5 min a 3000 rpm, se realizaron 2 lavados con agua destilada estéril y se resuspendieron en agua destilada estéril. La concentración se obtuvo por lectura de la absorbancia de la suspensión a 600 nm. Para convertir los datos de absorbancia en concentración se realizó una curva de calibrado de SST (Sólidos Suspendidos Totales) vs Absorbancia a esa longitud de onda. Los SST se determinaron según (APHA, 2005).

Para la determinación de etanol las muestras se diluyeron y colocaron en tubos de 10 mL, y se enfrentaron a un sensor de dióxido de estaño, marca Fígaro TGS 822, el cual varía su resistencia proporcionalmente a la concentración de etanol en la fase gaseosa. Se realizó una curva de calibrado de voltaje vs. concentración de etanol con la cual se convirtieron los valores de las muestras a concentración (Xiaobo *et al.*, 2003).

Diseño experimental y análisis estadístico de los datos

Se estudió la influencia del tiempo de hidrólisis, el contenido de azúcares totales del medio a hidrolizar y la concentración de ácido sobre el porcentaje de hidrólisis, a través de un diseño factorial y un DCC (diseño central compuesto). Los experimentos se diseñaron con un software estadístico. Los niveles de las variables utilizadas en el diseño 2^3 y el DCC se presentan en las Tablas 1 y 2.

Se definió como porcentaje de hidrólisis el cociente entre los azúcares reductores producidos durante la experiencia y los azúcares totales no reductores al inicio de la misma. Los valores límites de las variables se establecieron según datos previamente reportados (Iranmahboob *et al.*, 2002; Palmarola-Adrados *et al.*, 2005; Cai B-Y, *et al.*, 2011).

Para los ensayos de fermentación se realizó un diseño factorial 2^2 , para evaluar la influencia de la hidrólisis y el agregado de extracto de levadura sobre la producción de etanol. Los niveles de las variables utilizadas se presentan en la Tabla 3.

Tabla 1. Variables y niveles del diseño factorial 2^3 **Table 1.** Variables and levels of 2^3 factorial design

Variables	Código	Rango	
		-1	1
Azúcar Total Inicial (g/L)	X1	23,89	165,33
Acido (g/L)	X2	5	25
Tiempo (min)	X3	15	240

Tabla 2. Variables y niveles del diseño central compuesto**Table 2.** Variables and levels of central composite design

Variables	Código	Rango	
		-1	1
Tiempo (min)	X1	65	235
Azúcar (g/L)	X2	56,48	163,52
Relación (g Ácido/g Azúcar)	X3	0,102	0,398

Tabla 3. Variables y niveles del diseño factorial 2^2 **Table 3.** Variables and levels of 2^2 factorial design

Variables	Código	Rango	
		-1	1
Azúcar Total Inicial (g/L)	X1	23,89	165,33
Acido (g/L)	X2	5	25
Tiempo (min)	X3	15	240

Para analizar la respuesta obtenida a partir de los diseños factoriales, se utilizó el siguiente modelo lineal de regresión:

$$y_i = b_0 + \sum b_i X_i + \sum b_{ij} X_i X_j$$

donde b_0 es un término constante, b_i representa los coeficientes para los efectos principales de cada una de las variables y b_{ij} representa los coeficientes para los efectos

de interacción entre las variables i y j . $i = 1, 2, \dots, n^{\circ}$ de variables; $j = 1, 2, \dots, n^{\circ}$ de variables. $i \neq j$.

El modelo cuadrático utilizado para predecir el valor óptimo del porcentaje de hidrólisis en el DCC fue:

$$y_i = b_0 + \sum b_i X_i + \sum b_{ij} X_i X_j + \sum b_{ii} X_i^2$$

donde b_0 es un término constante, b_i representa los coeficientes para los efectos principales de cada una de las variables, b_{ij} representa los coeficientes para los efectos de interacción entre las variables i y j y b_{ii} representa los coeficientes para los efectos cuadráticos de cada una de las variables. $i = 1, 2, \dots, n^{\circ}$ de variables; $j = 1, 2, \dots, n^{\circ}$ de variables. $i \neq j$.

Los coeficientes de los modelos de regresión lineal se estimaron a partir de los datos experimentales. Los coeficientes del modelo de regresión múltiple de segundo orden, se obtuvieron a partir de los datos experimentales utilizados en el DCC. El análisis de la varianza (ANOVA) se realizó con un software estadístico. La calidad de los modelos se evaluó a través del coeficiente de regresión ajustada (R^2 ajustada), y con un test-F respectivamente. Se realizó una eliminación secuencial de términos del modelo de regresión, partiendo del mayor al menor valor P, utilizando los parámetros antes mencionados como indicador para observar mejoras en el ajuste. Se aplicó la metodología de superficie de respuesta para obtener los valores óptimos de las variables analizadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Hidrólisis ácida con ácido sulfúrico - Diseño factorial 2³

Los valores del ANOVA para el porcentaje de hidrólisis obtenido del diseño factorial 2³ se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Análisis de Varianza para el porcentaje de hidrólisis

Table 4. Analysis of Variance for the percentage of hydrolysis

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Azúcares iniciales	2474,77	1	2474,77	517,56	0,0000
B:Acido Sulfúrico	387,448	1	387,448	81,03	0,0000
C:Tiempo	946,145	1	946,145	197,87	0,0000
AB	527,625	1	527,625	110,35	0,0000
AC	98,4555	1	98,4555	20,59	0,0005
BC	987,525	1	987,525	206,53	0,0000
ABC	2369,1	1	2369,1	495,46	0,0000
bloques	5,02268	2	2,51134	0,53	0,6026
Error total	66,9422	14	4,78159		
Total (corr.)	7863,04	23			

$R^2 = 99,1486 \%$; R^2 (ajustada por g.l.) = 98,7762 %

Los valores P, muestran que tanto los factores individuales como su interacción influyen significativamente sobre el porcentaje de hidrólisis. El análisis de las figuras 1 y 2, diagrama de Pareto para los efectos principales e interacciones, y la superficie de respuesta generada a partir del modelo de predicción de los datos, respectivamente, permiten observar que el porcentaje de hidrólisis aumenta a mayores concentraciones de ácido y menores concentraciones de azúcares iniciales.

Uno de los objetivos de este estudio fue analizar la relación (g ácido/g azúcares totales iniciales), de manera de minimizar el consumo de ácido y maximizar el porcentaje de hidrólisis. Por esto la variable concentración de ácido se reemplazó por la variable Relación Ácido/Azúcar, y se realizó un DCC en el rango previamente estudiado

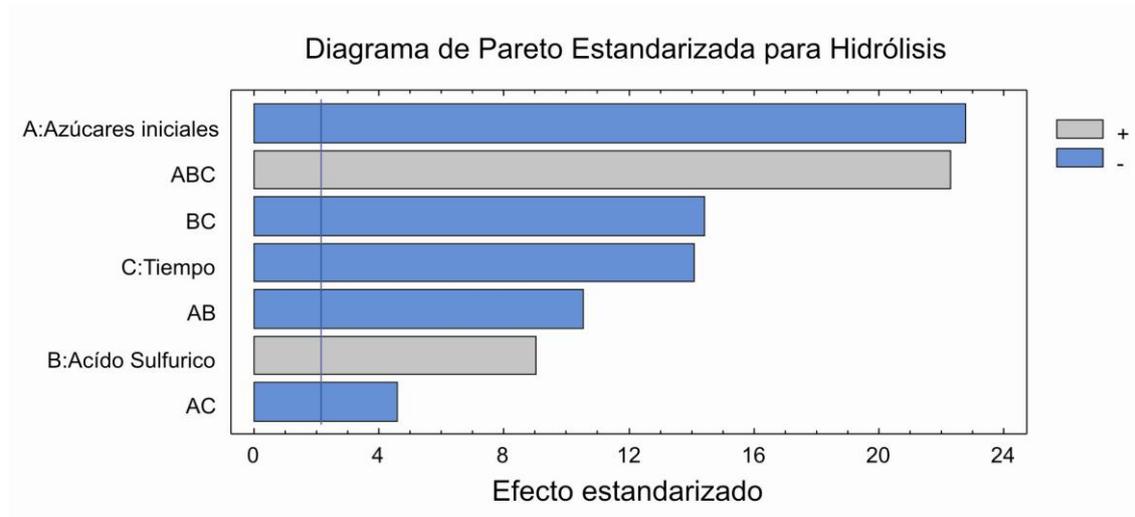


Figura 1. diagrama de Pareto para los efectos individuales y sus interacciones, sobre el porcentaje de hidrólisis.

Figure 1. Pareto chart of main variables impact on hydrolisis.

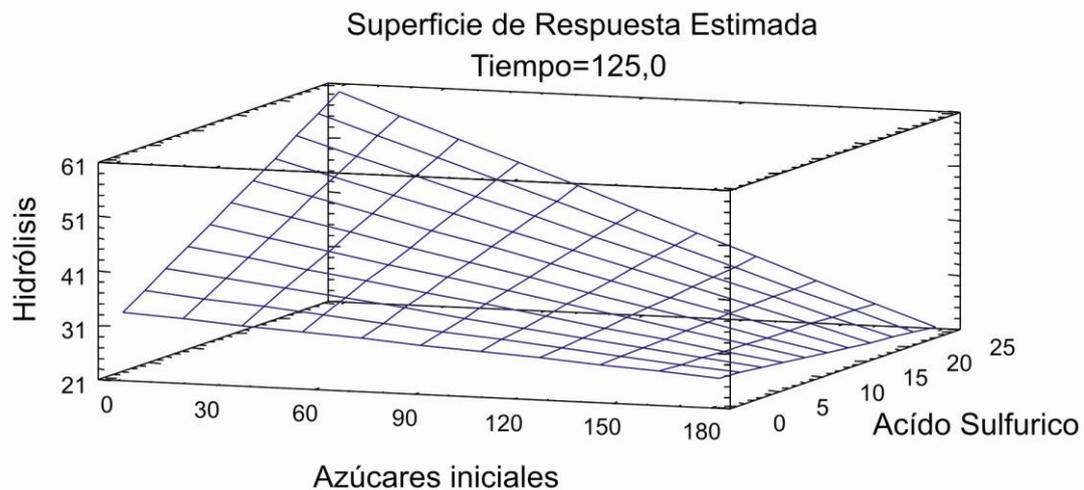


Figura 2. Superficie de respuesta, generada a partir del modelo de regresión múltiple de los datos obtenidos del diseño factorial 2^3 .

Figure 2. Response surface generated from the multiple regression model of data from 2^3 factorial design.

Hidrólisis ácida con ácido sulfúrico - Diseño Central Compuesto

El resultado obtenido para el análisis de la varianza del DCC se presenta en la Tabla 5.

Tabla 5. Análisis de Varianza para el porcentaje de hidrólisis

Table 5. Analysis of Variance for the percentage of hydrolysis

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:Tiempo	8607.38	1	8607.38	49,93	0,0194
B:Azúcar	2902.16	1	2902.16	16,83	0,0546
C:Relación	12425,6	1	12425.6	72,07	0,0136
AA	757.965	1	757.965	4,40	0,1709
AB	128.879	1	128.879	0,75	0,4784
AC	1.30531	1	1.30531	0,01	0,9386
BB	895.917	1	895.917	5,20	0,1502
BC	295.067	1	295.067	1,71	0,3209
CC	2026.55	1	2026.55	11,76	0,0756
bloques	4.76633	1	4.76633	0,03	0,8832
Falta de ajuste	3965.62	19	208.717	1,21	0,5471
Error puro	344.798	2	172.399		
Total (corr.)	30886.5	31			

$R^2 = 86.0443 \%$; R^2 (ajustada por g.l.) = 80.3352 %.

Los valores P obtenidos, muestran que sólo el tiempo y la relación Ácido/Azúcar influyen significativamente sobre el porcentaje de hidrólisis con un 95 % de confianza. La variable azúcar es significativa al 94 % de confianza. Sin embargo las interacciones

de los factores son las más alejadas del valor $P = 0.05$. Se puede observar que los tres efectos individuales se desvían de la normalidad, indicando su influencia en el porcentaje de hidrólisis (Figura 3).

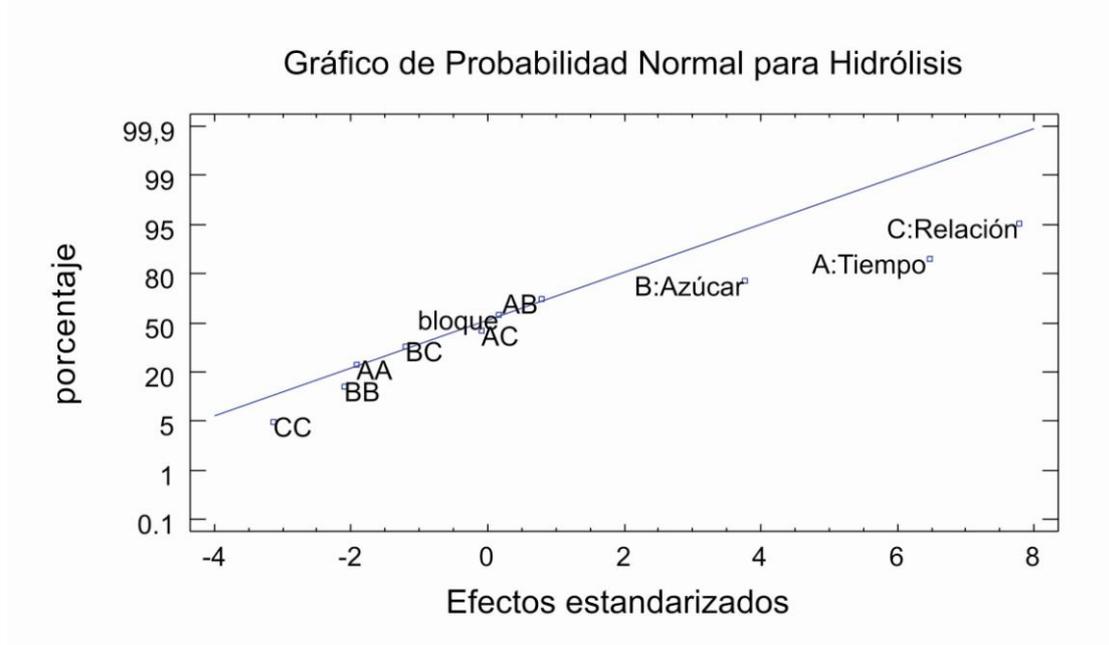


Figura 3. Grafico de probabilidad normal para los efectos estandarizados.

Figure 3. Normal probability plot for standardized effects.

Dado que las interacciones y los términos cuadráticos no son significativos al 95 % de confianza, se realizó una eliminación secuencial de términos, tomando como parámetro de calidad del modelo el valor R^2 (ajustada por g.l.) y el test F (coeficiente falta de ajuste en la tabla de resultado del ANOVA). En la tabla 6 se presentan ambos parámetros y los términos eliminados en cada caso.

Tabla 6. Análisis de varianza para el porcentaje de hidrólisis**Table 6.** Analysis of variance for the percentage of hydrolysis

Término eliminado	R ² (ajustada por g.l.)	Falta de ajuste (Test-F)
Modelo completo	80.3352 %	0.5471
AC	81.1845 %	0.5655
AB	81.4295 %	0.5720
BC	80.9877 %	0.5646

La eliminación de los términos de interacción entre X_1 y X_3 , como así también entre X_1 y X_2 , producen una mejora en el modelo, evaluado por los parámetros R^2 y el test-F para falta de ajuste. La eliminación de más términos no mejora el ajuste de los datos experimentales, por lo que los términos que permanecen en el modelo son X_1 , X_2 , X_3 , X_2X_3 , X_1^2 , X_2^2 y X_3^2 . Los coeficientes del modelo cuadrático se obtuvieron por regresión no lineal de los datos experimentales, dando origen a la superficie de respuesta dada por:

$$\text{Hidrólisis} = -110.922 + 0.474424 X_1 + 0.862215 X_2 + 442.482 X_3 - 0.000885259 X_1^2 - 0.00242763 X_2^2 - 0.542153 X_2X_3 - 477.462 X_3^2$$

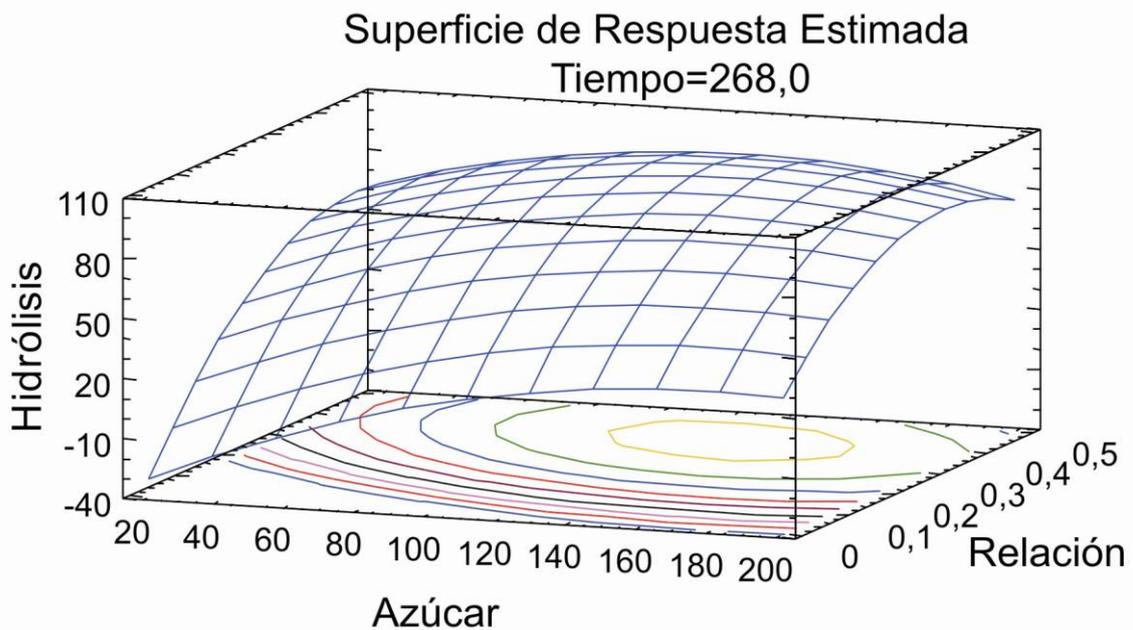
El valor máximo de porcentaje de hidrólisis predicho por el modelo es del 96.2038 %.

Los valores de las variables que producen este valor máximo se muestran en la tabla 7.

Tabla 7. Análisis de Varianza para el porcentaje de hidrólisis**Table 7.** Analysis of Variance for the percentage of hydrolysis

<i>Factor</i>	<i>Valor optimo</i>
Tiempo	267.966
Azúcar	134.364
Relación	0.387

En la Figura 4 se muestra la superficie de respuesta para el porcentaje de hidrólisis, manteniendo el tiempo constante en el valor próximo al óptimo. Se puede visualizar el máximo indicado por los contornos debajo de la figura.

**Figura 4.** Superficie de respuesta para el porcentaje de hidrólisis para un dado tiempo**Figure 4.** Response surface for the percentage of hydrolysis for a given time

Producción de bioetanol en el efluente hidrolizado y sin hidrolizar

En los ensayos de fermentación se utilizó un volumen de inóculo de manera de obtener una concentración inicial de 5 g/L de levaduras. Para el análisis de producción de etanol sobre los distintos efluentes, vinaza hidrolizada y sin hidrolizar, con y sin agregado de extracto de levadura, se tomo el valor de etanol a tiempo final, 9 h luego de inoculado los reactores. Del ANOVA aplicado al diseño factorial 2^2 , se observa que el único factor estadísticamente significativo es el tipo de efluente, (tabla 8). El agregado de extracto de levadura en las concentraciones estudiadas, 0 y 15 g/L, y la interacción entre éste y los distintos medios no mostró influir significativamente en la producción de etanol.

Si se eliminan los términos correspondientes al extracto y a la interacción, el valor R^2 (ajustada por g.l.) aumenta de 97.6216 a 97.9333 %, lo que refuerza que dichos factores no influyen significativamente en la producción de etanol.

Tabla 8. Análisis de Varianza para el porcentaje de hidrólisis

Table 8. Analysis of Variance for the percentage of hydrolysis

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:Vinaza	1024.62	1	1024.62	209.76	0.0007
B:Extracto de levadura	1.88404	1	1.88404	0.39	0.5786
AB	2.56266	1	2.56266	0.52	0.5212
bloques	34.5142	1	34.5142	7.07	0.0765
Error total	14.6539	3	4.88464		
Total (corr.)	1078.24	7			

$R^2 = 98.6409 \%$; R^2 (ajustada por g.l.) = 97.6216 %.

En las Figuras 5 y 6 se observa el crecimiento de la biomasa y la producción de etanol en el tiempo para los distintos ensayos.

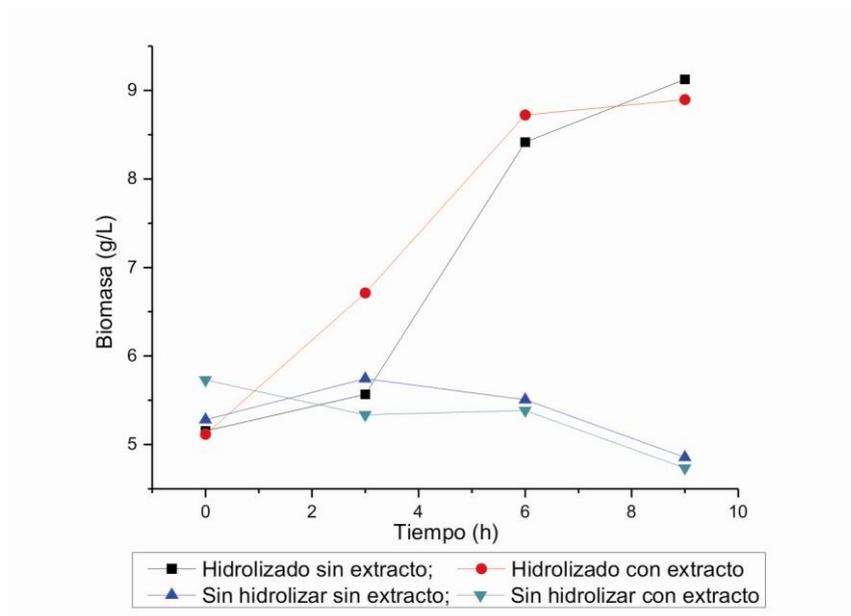


Figura 5. evolución de la biomasa (g/L) en el tiempo para la vinaza hidrolizada y sin hidrolizar

Figure 5. Biomass (g/L) versus time for the hydrolyzed and unhydrolyzed vinasse

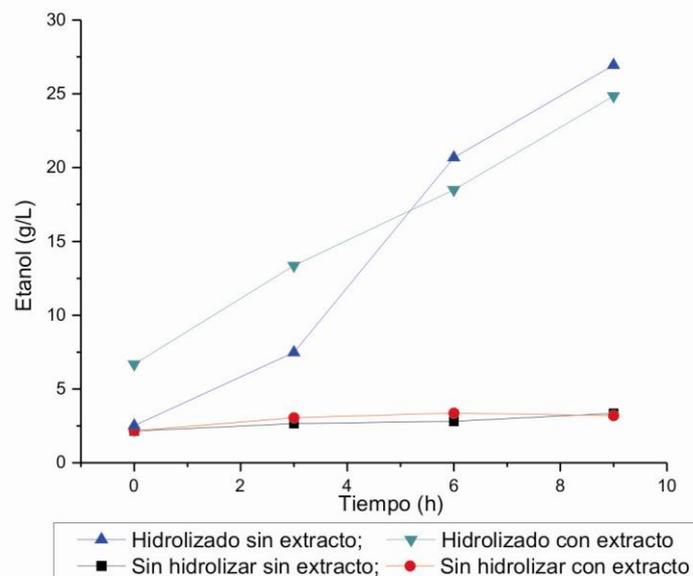


Figura 6. Evolución de la concentración de etanol en el tiempo para la vinaza hidrolizada y sin hidrolizar

Figure 6. Ethanol concentration versus time for the hydrolyzed and unhydrolyzed vinasse

El rendimiento expresado en g etanol/g azúcares reductores fue de 0.41 ± 0.07 , lo que representa un 80 % del valor teórico, mientras que el rendimiento en biomasa expresado como g biomasa/g azúcares reductores fue 0.04 ± 0.01 .

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se demostró que pueden convertirse los azúcares totales no reductores presentes en vinazas de cervecería en azúcares reductores por hidrólisis con ácido sulfúrico, aumentándose así la cantidad de etanol que puede ser producido por fermentación de los mismos con levaduras. Se estudió la influencia del tiempo, la concentración de azúcares totales y la concentración y relación de ácido-azúcar sobre el porcentaje de hidrólisis de los azúcares presentes. El valor máximo del porcentaje de hidrólisis alcanzó el 96 % y se obtuvo con una concentración de azúcares totales iniciales de 134 g/L, una relación de 0,39 g ácido sulfúrico/g azúcar inicial y un tiempo de hidrólisis de 270 minutos. La concentración óptima de azúcares totales iniciales sugiere la conveniencia de una evaporación parcial del agua contenida en las vinazas.

Los ensayos de fermentación permitieron obtener 26,95 g/L de etanol sobre la vinaza hidrolizada lo que representa un rendimiento del 80 % del valor teórico. El rendimiento obtenido supera holgadamente el que se obtiene cuando se fermenta la vinaza sin hidrolizar (3,35 g/L). La conversión de los azúcares seguida de la separación del etanol producido se traduce en una drástica disminución de la DQO de la vinaza.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por la Universidad Nacional del Litoral a través del proyecto CAI+D 2009-3.

BIBLIOGRAFIA

- APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association), WEF (Water Environment Federation). 2005. *Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater*. Eaton A, Clesceri L, Rice E & Greenberg A. (Eds). Washington DC
- Bartnicki-Garcia S & Nickerson W. 1962. Induction of yeastlike development in mucor by carbon dioxide. *J. Bacteriol*, 84: 829-840
- Cai B-Y *et al.* 2011. Statistical optimization of dilute sulfuric acid pretreatment of corncob for xylose recovery and ethanol production, *Biomass and Bioenergy*, doi:10.1016/j.biombioe.2011.10.023.
- Driessen W & Vereijken T. 2003. Recent developments in biological treatment of brewery effluent. P 165-171 En: *Inst. & Guild of Brew. Africa Sect. Proc. 9 th Brewing Convention, Victoria Falls, Zambia*
- Dubois M, Gilles K, Hamilton J, Rebers P & Smith F. 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28: 350-356
- Fillaudeau L, Blanpain-Avet P & Daufin G. 2006. Water, wastewater and waste management in brewing industries. *Journal of Cleaner Production*, 14: 463-471

- Grady L, Daigger G & Lim H. 1999. *Biological Wastewater Treatment*. Editorial Marcel Dekker, New York: 1076 p
- Iranmahboob J, Nadim F & Monemi S. 2002. Optimizing acid-hydrolysis: a critical step for production of ethanol from mixed wood chips. *Biomass and Bioenergy*, 22: 401–404
- Isla M A, Birri F & Seluy L. 2008a. Efluentes de cervecerías: ¿residuos o materia prima? I. Reducción de la Demanda Química de Oxígeno a través de la producción de levaduras. *Anales del XXXI Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, AIDIS*, Chile
- Isla M A, Vázquez M, Birri F, Benzzo M T & Macagno J. 2008b. Efluentes de cervecerías: ¿residuos o materia prima? II. Producción de ácido acético. *Anales del XXXI Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, AIDIS*, Chile
- Kunze W. 1999. *Technology brewing and malting*. Editorial VLB, 1 ed, Berlin: 726 p
- Metcalf E, Tchobanoglous G & Burton F. 1991. *Wastewater Engineering: treatment, disposal and Reuse*. Editorial McGraw-Hill College, 3 ed, NY: 1334 p
- Miller G. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 31: 426-428
- Palmarola-Adrados B, Chote borska P, Galbe M & Zacchi G. 2005. Ethanol production from non-starch carbohydrates of wheat bran. *Bioresource Technology*, 96: 843–850
- Preedy V. R. 2009. *Beer in Health and Disease Prevention*. Elsevier Inc. Department of Nutrition and Dietetics King's College London, London, UK:

1248

P

- Xiaobo Z, Jiewen Z, Shouyi W & Xingyi H. 2003. Vinegar Classification Based on Feature Extraction and Selection From Tin Oxide Gas Sensor Array Data. *Sensors*, 3: 101-109