

Efecto del pretratamiento químico en el aserrín de *Pinus* sp. con vistas a la obtención de etanol

Effect of chemical pretreatment of sawdust from *Pinus* sp. as feedstock in the production of ethanol

Delvis Rafael Acosta Martínez,* Leyanis Mesa Garriga, Erenio González Suárez

Centro de Análisis de Procesos, Facultad de Química Farmacia de la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas (UCLV). Carretera Camajuani, km 5^{1/2}, Santa Clara, Villa Clara. Cuba. CP 54830. Teléfono, e-mail: damartinez@uclv.edu.cu.

Resumen

En el presente trabajo se realiza un estudio de la influencia de varios factores sobre la biomasa lignocelulósica, (*Pinus* sp.) mediante la aplicación de una hidrólisis ácida diluida como pretratamiento al materia lignocelulósico. El cual es evaluado a través de un test de hidrólisis enzimática, donde los resultados obtenidos indican que se obtienen mayores concentraciones y mejores rendimientos de azúcares después de la hidrólisis enzimática en las condiciones más severas de pretratamiento.

Palabras Claves: glucosa, pretratamiento, hemicelulosa, lignina.

Abstract

In the present research it is realized a the influence of various factors on lignocellulosic biomass (*Pinus* sp.) by applying a dilute acid hydrolysis as a pretreatment to the lignocellulosic material. Which is evaluated by an enzymatic hydrolysis test, where results obtained indicate that higher concentrations of sugars and higher yields after enzymatic hydrolysis in the most severe pretreatment.

Keywords: glucose, pretreatment, hemicellulose, lignin

1 Introducción

El etanol a partir de biomasa lignocelulósica puede ser producido de varias formas. Todos los procesos incluyen la misma etapa principal: hidrólisis de los polisacáridos a azúcares monoméricos, la fermentación de los azúcares a etanol y la concentración del etanol por destilación. La principal diferencia entre las alternativas de los procesos es en la etapa de hidrólisis, la cual puede ser realizada por el uso de ácido diluido, ácido concentrado o enzimas. La vía enzimática es ventajosa ya que se realiza a bajas temperaturas usando enzimas biodegradables en vez de ácidos tóxicos como catalizadores. Además, debido a la especificidad de las reacciones enzimáticas, pueden

cierre hermético bien identificada y a temperatura ambiente.

2.2 Pretratamiento químico

El pretratamiento químico se realiza usando la hidrólisis ácida diluida. Para el estudio de la influencia de las variables seleccionada se aplica un diseño parcial fraccionado del tipo 2⁴⁻¹. Para la realización de los diferentes experimentos del pretratamiento se utiliza un reactor de 9 L de capacidad, marca Regmed HB-51.

En la Tabla 1 se muestra las variables estudiadas y sus niveles.

Tabla 1. Variables y rangos analizados para realizar el pretratamiento químico

Variables	Nivel inferior	Nivel superior
X1 Temperatura (°C)	130	170
X2 % de ácido (v/v)	1.0	1.4
X3 Tiempo (minutos)	20	40
X4 Relación Sólido-líquido (g-mL)	1-4	1-6

ser logradas altas concentraciones de azúcares y al contrario de la hidrólisis ácida, estos azúcares monoméricos obtenidos no son degradados. No obstante, cuando las enzimas son añadidas a la biomasa nativa, la degradación de la celulosa y la hemicelulosa a azúcares es extremadamente lenta debido a la compleja estructura de la lignocelulosa (Galbe M, 2002). Por lo que es necesario realizar un pretratamiento a la materia prima, previo a la hidrólisis enzimática, para hacer las fibras de celulosa más accesibles por las enzimas. Después del pretratamiento, los polisacáridos remanentes son hidrolizados a azúcares por celulasas, y los azúcares entonces son convertidos a etanol por un microorganismo fermentador.

La Tabla 2 muestra la matriz experimental de este experimento

Tabla 2. Matriz experimental.

# de experimento	X1	X2	X3	X4
1	+	+	+	+
2	+	+	-	+
3	+	+	+	-
4	+	+	-	-
5	+	-	+	+
6	+	-	-	+
7	+	-	+	-
8	+	-	-	-
9	-	+	+	+
10	-	+	-	+
11	-	+	+	-
12	-	+	-	-
13	-	-	+	+
14	-	-	-	+
15	-	-	+	-
16	-	-	-	-

Desarrollo

2 Materiales y Métodos

2.1 Preparación de la muestra

La muestra secada a 35°C en una estufa Binder fue molida empleando para ello un molino de cuchillas Restch GMBH 5657 tipo SR-2. Luego fue tamizada en un tamiz CISA modelo RP20 hasta lograr un tamaño de partícula igual a 1mm y posteriormente fue guardada en un frasco con

Tabla 3. Repliegue parcial.

# de experimento	X1	X2	X3	X4(X1X2X3)
1	+	+	+	+
2	+	+	-	-
3	+	-	+	-
4	+	-	-	+
5	-	+	+	-
6	-	+	-	+
7	-	-	+	+
8	-	-	-	-

2.3 Hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática se realizó utilizando un 2% de sólido pretratado en 25mL de solución buffer ácido acético-acetato de sodio de pH 4.8. La concentración enzimática fue de 10 UPF/g de sustrato pretratado, utilizando enzimas celulolíticas (Novozymes). Los experimentos se realizan a 50°C a 150 rpm durante 24h.

El contenido de azúcares liberados se determinan utilizando la técnica de HPLC.

3 Análisis y Discusión de los Resultados

3.1 Estudio de la influencia de los factores analizados en el pretratamiento sobre la composición de los sólidos

Para el proceso de obtención de etanol a partir de materiales lignocelulósicos, utilizando la hidrólisis

enzimática para la conversión de la celulosa en glucosa, es necesario la aplicación de un pretratamiento a la biomasa, debido a la actuación lenta de las enzimas celulolíticas cuando están frente a biomasa lignocelulósicos nativas.

Por esta razón se analizan determinados factores que influyen en la hidrólisis ácida diluida como pretratamiento.

El estudio de factores que influyen en la Hidrólisis ácida diluida como pretratamiento se realizó utilizando un diseño parcial fraccionado del tipo

2⁴⁻¹, realizándose 8 experimentos, y procesando los datos en el software Desing-Expert 5.

La tabla 4 contenidos de carbohidratos (g/100g) tanto en los sólidos como en los líquidos obtenidos.

Exp #	Rendimiento	Sólidos		Líquidos			
		Glucosa*	Arabinosa*	Glucosa*	Xilosa*	Galactosa*	Arabinosa*
1	42.01	15.34	0	0.73	0	0	0
2	43.73	21.43	0	2.85	0	0.18	0.34
3	42.87	19.49	0	1.70	0	0.11	0.61
4	42.31	20.34	0	5.45	0	1.06	0.62
5	43.84	28.12	1.73	2.93	2.82	1.72	1.77
6	53.59	25.20	2.44	4.74	4.06	2.53	3.22
7	50.97	28.77	1.46	4.90	4.45	2.77	3.80
8	51.93	28.74	2.46	2.65	2.41	1.52	3.81

Todos los valores están reportados en g/100 g de materia prima inicial

Como se observa el rendimiento de sólidos se comportó entre el 42 y el 52%. Los experimentos realizados a la menor temperatura estudiada (130°C) son los que presentan un mayor contenido de glucosa en el sólido, aspecto de interés debido a que una de las finalidades de los pretratamientos es la conservación de la fracción glucano en el sólido. En estos experimentos, del 5 al 8, el contenido de glucosa es mayor que el 50% con respecto al de la materia prima original. Es preciso señalar que en estos experimentos, en el sólido se detectó la fracción arabinano, fracción correspondiente a la hemicelulosa, este resultado es indicativo de la realización en condiciones menos severas del pretratamiento.

En las fracciones líquidas se aprecia, que en los experimentos del 1 al 4, no se detecta la presencia de xilosa y al no detectarse tampoco en la fracción sólida, se infiere que la xilosa contenida en la materia prima original, producto de las condiciones de pretratamiento empleadas, se haya degradado y dado lugar a compuestos como el furfural.

3.2 Evaluación del pretratamiento a través de la hidrólisis enzimática

En la tabla 5 se muestran los resultados de la aplicación de la hidrólisis enzimática sobre los sólidos pretratados.

Experimentos	Concentración de glucosa (g/L)	Glucosa/100g mp
1	1.35	4.97
2	1.11	3.37
3	1.1	3.65
4	1.09	3.20
5	0.62	1.99
6	0.58	1.90
7	0.62	2.03
8	0.67	2.23

Tabla 5. Concentración y rendimiento de glucosa después de la hidrólisis enzimática

Experimentos	Concentración de glucosa (g/L)	Glucosa/100g mp
1	1.35	4.97
2	1.11	3.37
3	1.1	3.65
4	1.09	3.20
5	0.62	1.99
6	0.58	1.90
7	0.62	2.03
8	0.67	2.23

Como se observa en la tabla 5, los valores de concentración de glucosa varían en el orden de 0.6 hasta 1.35 g/L y los valores de rendimiento van desde 1.9 hasta aproximadamente 5 g/100 gramos de materia prima inicial.

En estos experimentos, los valores superiores de los parámetros respuestas corresponden a los experimentos del 1 al 4 que se realizaron a la temperatura superior analizada (170°C). La mayor temperatura empleada causa disminución de la cristalinidad de la celulosa, se incrementa la velocidad de deslignificación y por consiguiente las enzimas tienen mayor acceso a la celulosa del material. En condiciones menos severas de pretratamiento la accesibilidad de las enzimas a la celulosa todavía está impedida por barreras físicas como la hemicelulosa y la lignina.

3.3 Evaluación del pretratamiento a través de la hidrólisis enzimática

En la tabla 6 se muestran los resultados de la aplicación de la hidrólisis enzimática sobre los sólidos pretratados.

Tabla 6. Concentración y rendimiento de glucosa después de la hidrólisis enzimática

Como se observa en la tabla 6, los valores de concentración de glucosa varían en el orden de 0.6 hasta 1.35 g/L y los valores de rendimiento van desde 1.9 hasta aproximadamente 5 g/100 gramos de materia prima inicial.

En estos experimentos, los valores superiores de los parámetros respuestas corresponden a los experimentos del 1 al 4 que se realizaron a la temperatura superior analizada (170°C). La mayor temperatura empleada causa disminución de la cristalinidad de la celulosa, se incrementa la velocidad de deslignificación y por consiguiente las enzimas tienen mayor acceso a la celulosa del material. En condiciones menos severas de pretratamiento la accesibilidad de las enzimas a la celulosa todavía está impedida por barreras físicas como la hemicelulosa y la lignina.

Conclusiones

1.El uso de una temperatura de 170 °C, una concentración de H₂SO₄ de 1,4% y un tiempo de 40 minutos provoca mayores pérdidas de carbohidratos en la materia prima y los rendimientos de los mismos son bajos.

2.Se obtienen mayores concentraciones y rendimientos de azúcares después de la hidrólisis enzimática en las condiciones más severas de pretratamiento.

Bibliografía

1 Derksmeier G.: Métodos cromatográficos. La Habana 2005.

2 Garriga Leyanis Mesa: Estrategia Investigativa para la Tecnología de Obtención de Etanol y Coproductos del Bagazo de la caña de Azúcar. Santa Clara: UCLV; 2010.

3 Godoy E.Á.: Aprovechamiento del aserrín mediante su transformación hidrolítica y como fuente de biomasa. 2003.

4 González E, Romano S.: Biocombustibles líquidos en Iberoamérica. Ed. Cooperativas. Cámara del libro, Argentina. 2009:244-53.

5 Hendriks ATWM, Zeeman G.: Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. 2008.