

La producción de etanol a partir de residuos lignocelulósicos. Estado del arte. **The ethanol production from lignocelulosics residues. State of the art**

Autores: Leyanis Mesa Garriga⁽¹⁾, Erenio González Suárez⁽¹⁾, Meilyn González Cortes⁽¹⁾, Mary Lopretti⁽²⁾ Eulogio Castro Galiano⁽³⁾

⁽¹⁾ Centro de Análisis de Procesos. Facultad de Química-Farmacía. Universidad Central de Las Villas. Carretera a Camajuaní Km 5,5. Santa Clara. Villa Clara.

⁽²⁾ Facultad Ciencias Biológicas, Universidad de la República, Uruguay.

⁽³⁾ Facultad de Ciencias Experimentales. Universidad de Jaén. España.

Resumen

El uso de los materiales lignocelulósicos como materia prima para la producción de etanol ofrece una alternativa interesante para paliar la situación mundial del sector del transporte. En este trabajo se presenta las principales ventajas de estos procesos así como las barreras que limitan el uso de los mismos a escalas mayores.

Palabras claves: Etanol, materiales lignocelulósicos, pretratamientos, hidrólisis enzimática.

Abstract

The use of lignocellulosic residues like source for ethanol production can offer an interesting alternative for diminishes the situation of transport sector. This work present the main advantages of this process and also the barriers that limiting the use of biocombustibles a higher scales.

Key words: Ethanol, lignocellulosic residues, pretreatments, enzymatic hydrolysis.

Introducción

El alto consumo energético nos ha llevado a una inevitable disminución de las reservas de combustibles fósiles y a la obtención de un ambiente con niveles preocupantes de contaminación. (Wyman CE, 2007).

Indudablemente no podemos permitir que la producción de combustibles alternativos incida negativamente en la producción de alimentos, por ello una alternativa loable, es el aprovechamiento de los residuos lignocelulósicos de las producciones agroindustriales para fabricar biocombustibles que de hecho sean utilizados también en las producciones alimenticias, un caso de particulares posibilidades es en ese contexto el aprovechamiento del bagazo de caña de azúcar en la producción de etanol. Debido a esta problemática, el etanol ha ocupado un lugar importante dentro de los combustibles obtenidos a partir de fuentes renovables.

Desarrollo

El interés por el uso de materiales lignocelulósicos como materia prima en procesos de transformación por microorganismos es importante desde hace ya varias décadas. Entre las razones fundamentales por tal interés se encuentran:

- La materia lignocelulósica es el subproducto agroindustrial de mayor abundancia.

- Constituye la parte estructural en el reino vegetal, y por ello es una fuente de materia prima renovable
- Sus tres mayores constituyentes (celulosa, hemicelulosa y lignina) encuentran aplicaciones prácticas apreciables. Así, por ejemplo, la celulosa se utiliza para la obtención de etanol y biomasa, la hemicelulosa como fuente de etanol y/o biomasa y la lignina como combustible, y como fuente de adhesivos o plásticos.

Por otra parte, las materias primas sacaroideas y amiláceas son utilizadas como alimento de hombres y animales; esta utilización compite con la producción de etanol. De ello se deriva que los materiales lignocelulósicos constituyen la materia prima por excelencia para la producción de etanol, a pesar de los costos iniciales para su conversión en material utilizable por los microorganismos fermentativos.

El aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica con el objetivo de obtener etanol está basado en la transformación de los azúcares contenidos en la misma. Los microorganismos que realizan esta conversión necesitan disponer de los azúcares en forma monomérica, por lo que es preciso la descomposición o hidrólisis de los polímeros azucarados presentes en la biomasa lignocelulósica.

Obtención de etanol a partir de residuos lignocelulósicos.

La obtención de azúcares monoméricos a partir de biomasa lignocelulósica con buenos rendimientos es un proceso más complejo que a partir de materias primas ricas en almidón o en azúcar, como el maíz o la caña de azúcar. La razón fundamental es la diferente forma en que se encuentran los azúcares en los distintos tipos de biomasa, a medida que aumenta la complejidad de la estructura de la materia prima de partida se incrementa también la del proceso de obtención de etanol. Por tanto, aunque la materia prima de partida sea mucho más económica, el proceso de obtención de los azúcares sencillos es más complejo.

La producción de etanol a partir de residuos lignocelulósicos puede realizarse por distintas vías, Galbe y Zacchi (2002), que difieren básicamente en la generación de los azúcares monoméricos a partir de la celulosa y hemicelulosa de la materia prima: hidrólisis ácida, concentrada o diluida, o hidrólisis enzimática. (Ver figura 1)

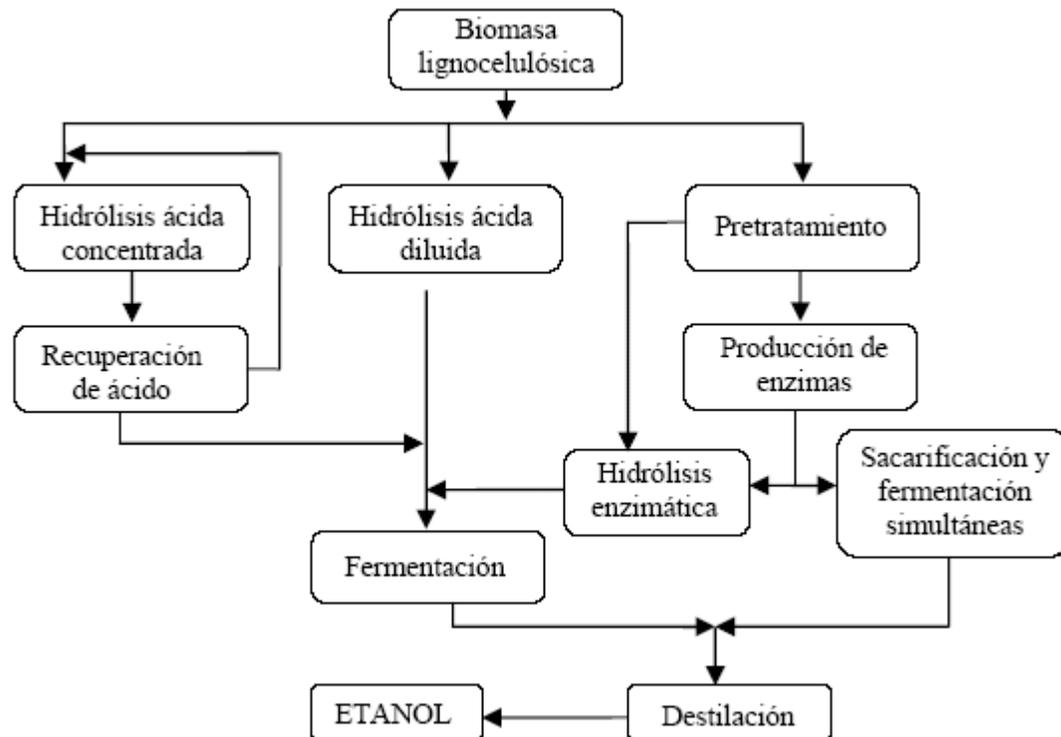


Figura 1: Obtención de etanol a partir de residuos lignocelulósicos por diferentes vías.

Independientemente de la vía seguida, los siguientes factores resultan claves, Hahn-Hägerdal et al. (2006):

- eficiente depolimerización de celulosa y hemicelulosa hasta azúcares solubles
- eficiente fermentación de los hidrolizados, que contienen una mezcla de hexosas, pentosas y compuestos inhibidores de la fermentación
- una adecuada integración de las etapas del proceso, que permita minimizar la demanda energética
- aprovechamiento de la lignina

Todos los procesos incluyen la hidrólisis de celulosa y hemicelulosa, fermentación de los azúcares y la recuperación del producto. La principal diferencia consiste en la etapa de hidrólisis, que puede ser realizada mediante catalizadores ácidos o por vía enzimática, mediante el empleo de catalizadores biológicos. No obstante, los principales programas de investigación, se inclinan por la hidrólisis enzimática, puesto que en esta vía se considera que existen mayores posibilidades de reducción de costes, en detrimento de los procedimientos que utilizan la hidrólisis ácida que se consideran tecnologías más desarrolladas y donde las opciones de mejora son más limitadas.

La hidrólisis enzimática presenta, al menos, tres ventajas potenciales frente a los procesos catalizados por ácidos: mayores rendimientos, menores costes de equipamiento debido a que se realizan a presión atmosférica y bajas temperaturas y no existe producción de sustancias tóxicas como consecuencia de la degradación de los azúcares que pudieran comprometer la fermentación posterior. Como limitación, existe inhibición de las celulasas por el producto final (glucosa), que disminuye el rendimiento del proceso. En función de la concentración de enzima, la concentración de sustrato y el tiempo de operación, el ataque enzimático resulta en una disolución de glucosa, que puede utilizarse como medio de fermentación para su transformación en etanol, y en un residuo sólido, formado principalmente por lignina que puede ser utilizado como combustible.

Un esquema alternativo a la hidrólisis y fermentación secuenciales consiste en la sacarificación y fermentación simultáneas (SFS) del residuo (Philippidis et al. 1993). En el proceso SFS, el material pretratado se somete en un único reactor a la acción de las enzimas hidrolíticas y del microorganismo etanológico, con lo que se elimina el problema de inhibición por producto final, por ello es posible obtener mayores rendimientos y tasas de sacarificación que si se realiza la hidrólisis y la fermentación por separado; además, la utilización de un único fermentador representa una simplificación del proceso global, con lo que se reducen los costes de inversión (Ballesteros et al. 2004). Como desventaja, en los procesos de SFS es necesario que la sacarificación y la fermentación sean compatibles y tengan similar pH, concentración óptima de sustrato y temperatura, lo que hace aconsejable utilizar levaduras termotolerantes, ya que la temperatura óptima de sacarificación se encuentra entre 45 y 50 °C, superior en general, a la temperatura óptima de fermentación, además de imposibilitar la recuperación de las levaduras empleadas en la fermentación.

Pretratamientos

Para convertir los carbohidratos en etanol, es preciso transformar la estructura polimérica en azúcares sencillos que son los compuestos que los microorganismos utilizan en la fermentación. Esta transformación se consigue mediante la hidrólisis. Sin embargo, en su estado natural, la fracción celulósica es resistente a la acción enzimática, por lo que los procesos de degradación de la celulosa que ocurren en la naturaleza son lentos. Esto hace necesario un pretratamiento de esta biomasa que altere su estructura, facilitando la acción

de las enzimas celulolíticas. Los factores que afectan a la susceptibilidad al ataque enzimático incluyen la cristalinidad de la celulosa, la protección que ejercen tanto la hemicelulosa como la lignina y, en menor medida, la superficie accesible de la celulosa y el grado de acetilación de la hemicelulosa, Hsu (1996).

Un elemento clave para la reducción del costo del bioetanol, obtenido por bioprocesos, es el desarrollo de la tecnología del pretratamiento del material lignocelulósico. Sin un pretratamiento efectivo, los rendimientos en azúcares son bajos, la celulosa no sería alcanzada por las enzimas celulasas. El propósito de los pretratamientos es aumentar la susceptibilidad del material. La tecnología ideal de pretratamiento debe cumplir los siguientes requerimientos Sun y Cheng (2002): aumentar la formación de azúcares o la habilidad de formar azúcares, minimizar la degradación o pérdidas de carbohidratos, impedir la formación de coproductos colaterales inhibitorios para los procesos de hidrólisis y fermentación subsecuentes y ser efectivo económicamente. Es necesario destacar que no todos los pretratamientos logran obtener en el mismo tiempo y en el mismo grado los tres aspectos anteriormente mencionados.

Los pretratamientos pueden clasificarse, según su naturaleza, en físicos, químicos, biológicos o combinados. Son pretratamientos físicos aquellos que no incluyen la aplicación de compuestos químicos. Entre los pretratamientos químicos se incluyen los tratamientos con ácidos, álcalis, disolventes o amoníaco. Las técnicas biológicas de pretratamiento consisten en la utilización de hongos capaces de degradar la lignina y presentan la ventaja de no necesitar compuestos químicos; sin embargo, como otros procesos biológicos, son relativamente lentos y originan pérdidas debido a que los microorganismos también asimilan parte de la celulosa y hemicelulosa del residuo. Los pretratamientos combinados consisten en la aplicación en una o más etapas de dos o más tratamientos; ejemplos típicos son la explosión con vapor combinada con catalizadores químicos (SO_2 o H_2SO_4), irradiación más tratamiento alcalino, etc.

Hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática de la celulosa se basa en la capacidad de algunos microorganismos, fundamentalmente hongos y bacterias, de producir un conjunto de enzimas extracelulares capaces de liberar, a partir de las cadenas celulósicas, las moléculas de D-glucosa que las constituyen. Estas moléculas pueden ser posteriormente

utilizadas como tales o como sustratos para la producción, por microorganismos específicos, de diferentes compuestos orgánicos como acetona, butanol, etanol, etc., o bien para la obtención de las proteínas constitutivas de dichos microorganismos (SCP).

Las principales dificultades para hidrolizar por vía enzimática los materiales lignocelulósicos están relacionadas, por un lado, con la baja actividad específica de las enzimas de las que se dispone en la actualidad y por tanto con la necesidad de un elevado consumo de las mismas durante el proceso, y por otro, con la propia estructura de los sustratos lignocelulósicos nativos. A pesar de ello, la hidrólisis enzimática de residuos celulósicos parece ser uno de los caminos más prometedores. El alto coste de las enzimas celulolíticas es, sin embargo, la principal barrera para hacer competitivo un proceso de obtención de etanol a partir de residuos lignocelulósicos, frente a otros procesos.

El proceso de hidrólisis mediante utilización de enzimas se lleva a cabo mediante un complejo enzimático formado principalmente por:

- Endoglucanasas. 1,4- β -D glucan glucanohidrolasas, EC 3.2.1.4, que actúan hidrolizando uniones internas de la molécula de celulosa.
- Exoglucanasas. En general 1,4- β -D glucan celobiohidrolasas, EC 3.2.1.91, que actúan presumiblemente sobre los extremos de la cadena de celulosa, liberando moléculas de celobiosa y D-glucosa.
- β -glucosidasas, EC 3.2.1.21 (o celobiasas cuando actúan sobre la celobiosa), muestran gran actividad sobre oligómeros solubles de bajo peso molecular.

La hidrólisis enzimática es claramente preferida a partir de un proceso orientado y desde el punto de vista medio ambiental. Sin embargo, la viabilidad económica requiere el desarrollo de celulasas activas a altas temperaturas, tolerantes a bajos pH, con actividad altamente específica y resistente a la inhibición por glucosa. Otro problema que es necesario resolver es la eliminación (o prevención de formación por condiciones suaves en el proceso) de los productos inhibitorios a partir de la fracción lignina. Estos compuestos inhiben la subsecuente fermentación a etanol, reduciendo la efectividad del proceso e incrementando los costos de producción. Un posible aprovechamiento es la remoción (por precipitación) de la lignina antes de la fermentación y usar la lignina como materia prima para químicos o para generación de vapor o energía.

Fermentación

La obtención de etanol a partir de recursos biomásicos sólo será rentable económicamente si, además del contenido en celulosa, se aprovecha la hemicelulosa. La xilosa es el segundo carbohidrato más abundante de la naturaleza, por lo que su fermentación comercial puede ser determinante para la obtención de un combustible renovable como el etanol. La xilosa puede ser fermentada por levaduras y bacterias. Las levaduras presentan una serie de ventajas sobre las bacterias para un proceso de fermentación comercial: menores requerimientos de nutrientes, paredes celulares más espesas, mayor tamaño, mejor crecimiento a bajos pH y mayor resistencia a la contaminación, Jeffries (2006).

La hidrólisis de los residuos lignocelulósicos genera una mezcla de azúcares cuya fermentación presenta ciertas dificultades; las levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) o bacterias (*Zymomonas mobilis*) convencionales no pueden fermentar mezclas de azúcares por lo que es necesario recurrir al empleo de microorganismos modificados genéticamente.

Bibliografía

1. Ballesteros M, Oliva JM, Negro MJ, Manzanares P, Ballesteros I. (2004). Ethanol from lignocellulosic materials by a simultaneous saccharification and fermentation process (SSF) with *Kluyveromyces marxianus* CECT 10875. *Process Biochem* 39, 1843-1848.
2. Galbe M, Zacchi G. (2002). A review of the production of ethanol from softwood. *Appl Microbiol Biotechnol* 59, 618-628.
3. Hahn-Hägerdal B, Galbe M, Gorwa-Grauslund MF, Lidén G, Zacchi G. (2006). Bioethanol— the fuel of tomorrow from the residues of today. *Trends Biotechnol* 24, 549-556.
4. Hsu, T. (1996). Pretreatment of biomass. En: *Handbook on bioethanol*. Wyman, C.E. (ed.). Taylor & Francis. Washington. pp. 179-212.
5. Jeffries TW. (2006). Engineering yeasts for xylose metabolism. *Curr Opin Biotechnol* 17, 320–326.
6. Philippidis GP, Smith TK, Wyman CE. (1993). Study of enzymatic hydrolysis of cellulose for production of fuel ethanol by the simultaneous saccharification and fermentation process. *Biotechnol Bioeng* 41, 846-853.
7. Saha B, Iten L, Cotta M, Wu V. 2005. Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of rice hull to ethanol. *Biotechnol. Prog* 21, 816-822.
8. Sun, Y; Cheng, J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, v. 83, n.1, p. 1-11.
9. Wyman CE. What is (and is not) vital to advancing cellulosic ethanol. *Trends Biotechnol* 2007; 25:153-7