

PROYECTO FSE _1_2011_1_6468

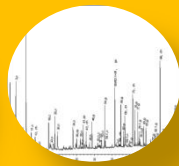


Producción de Bioetanol a partir de residuos forestales

Fecha de realización: Enero 2012 – Diciembre 2014

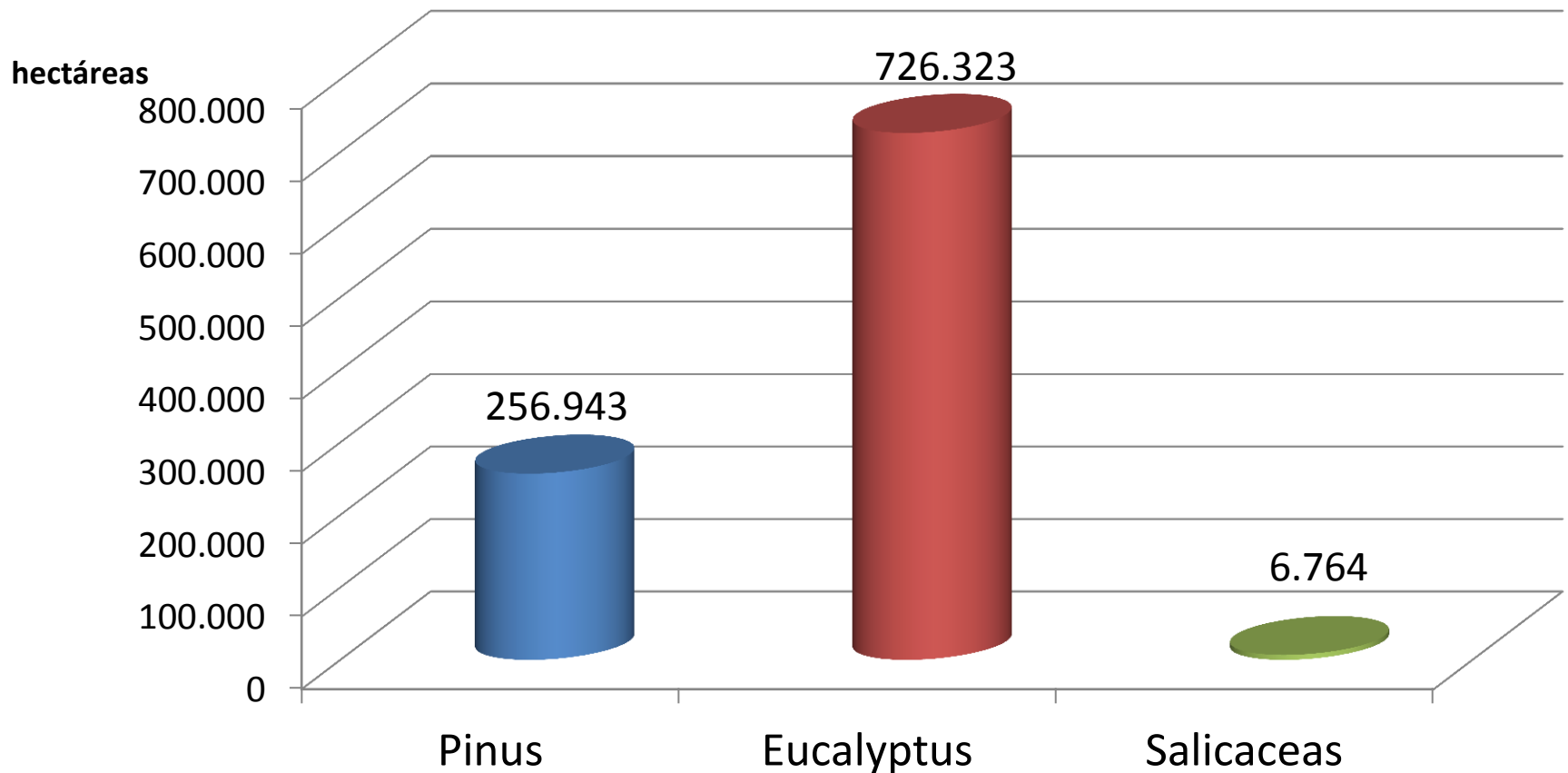
Responsable: María del Pilar Menéndez

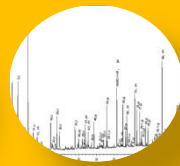
Laboratorio de Biocatálisis y Biotransformaciones - Facultad de Química -UdelaR



Antecedentes

Superficie forestada bajo proyecto Periodo 1975-2012

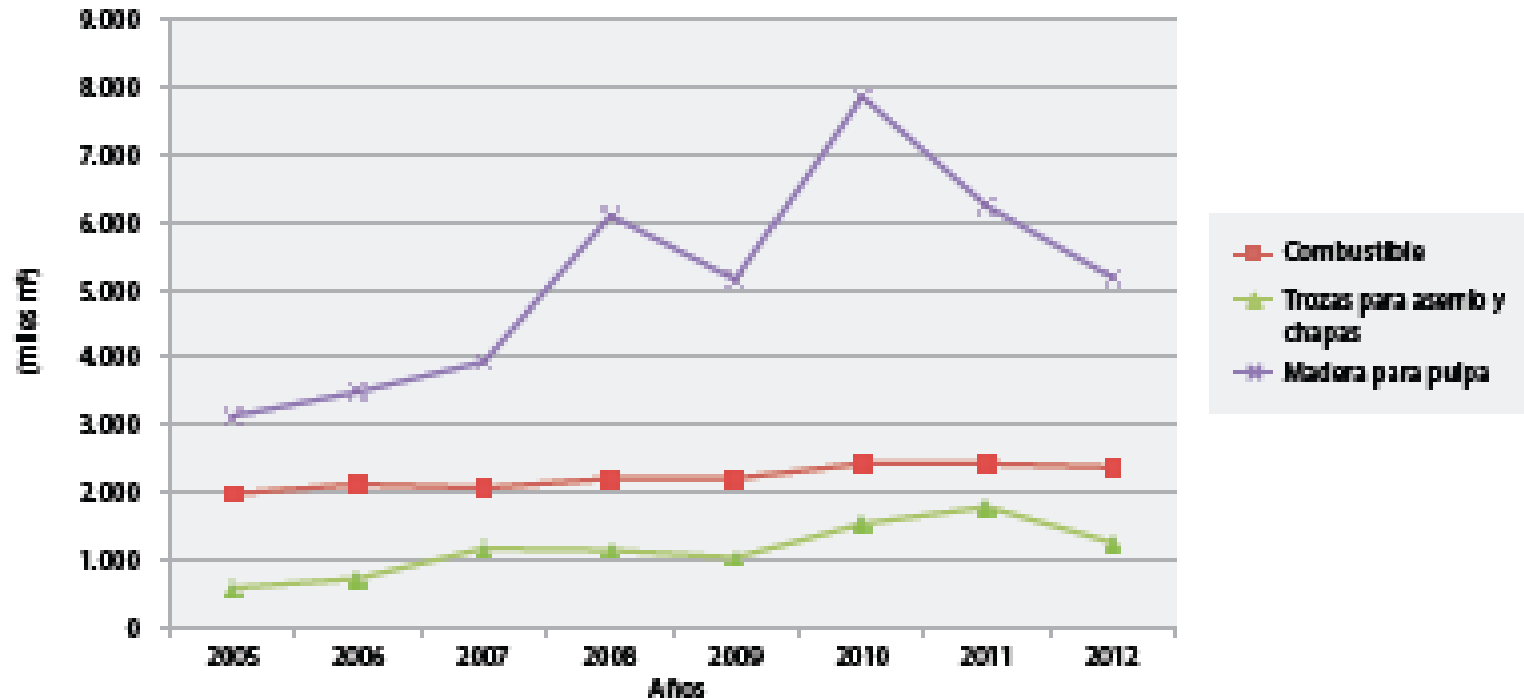




Antecedentes

Gráfico II - 28

Extracción de madera por año, según destino



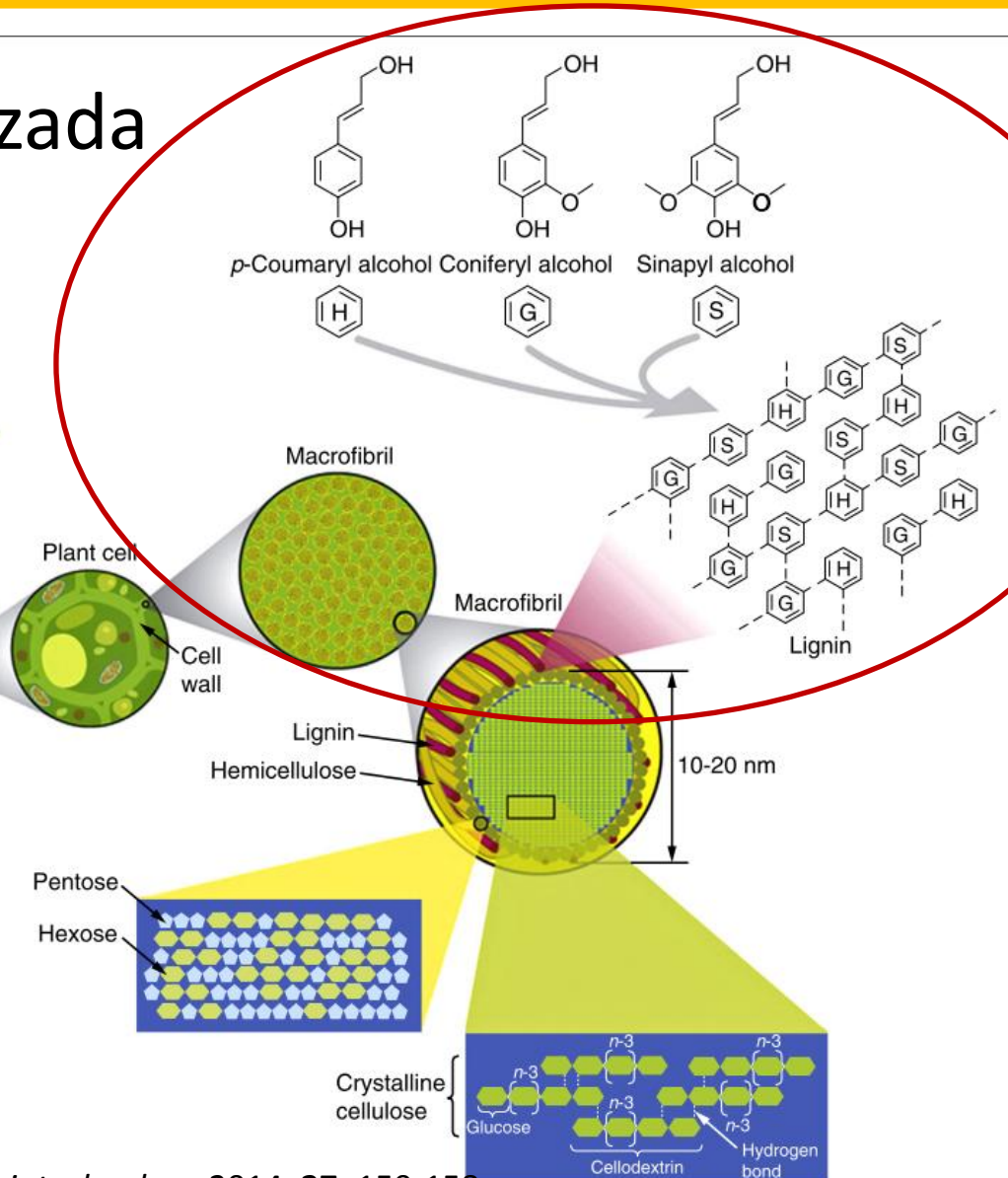
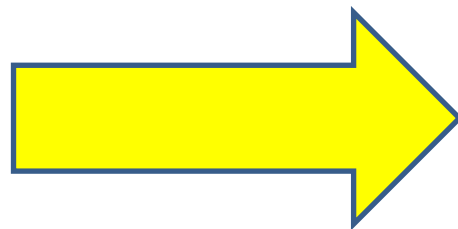
Fuente: INEAP - DGF

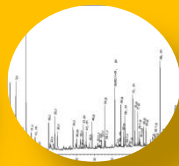
Se generan grandes cantidades de corteza de *Eucalyptus*, residuo de la industria papelera, biomasa de posible uso para producción de etanol de segunda generación

Antecedentes

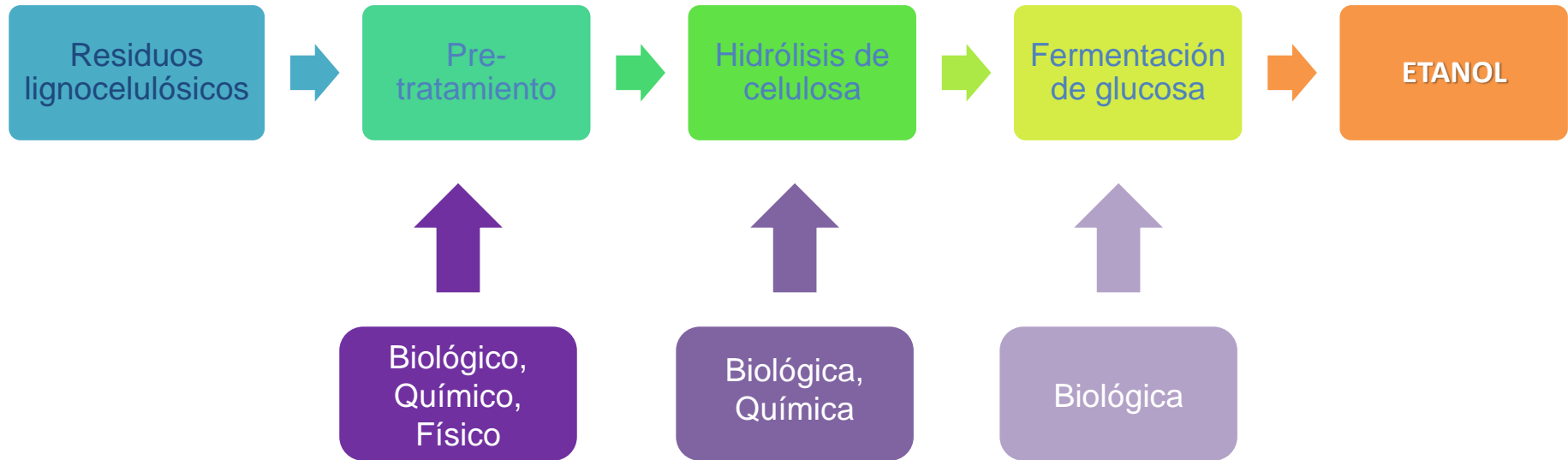
Corteza *E. dunnii* utilizada

% Lignina: 27,1
 % Celulosa: 37,1
 % Hemicelulosa: 9,8
 % Extractivos: 14
 % Cenizas: 12





Esquema producción de etanol a partir de residuos lignocelulósicos



Objetivos

- ➡ Estudiar el comportamiento del material lignocelulósico en líquido iónico.
- ➡ Estudiar la acción de un hongo seleccionado sobre material lignocelulósico.
- ➡ Hidrólisis de la corteza pretratada, utilizando celulasa comercial y obtención de etanol utilizando una *S. cerevisiae*

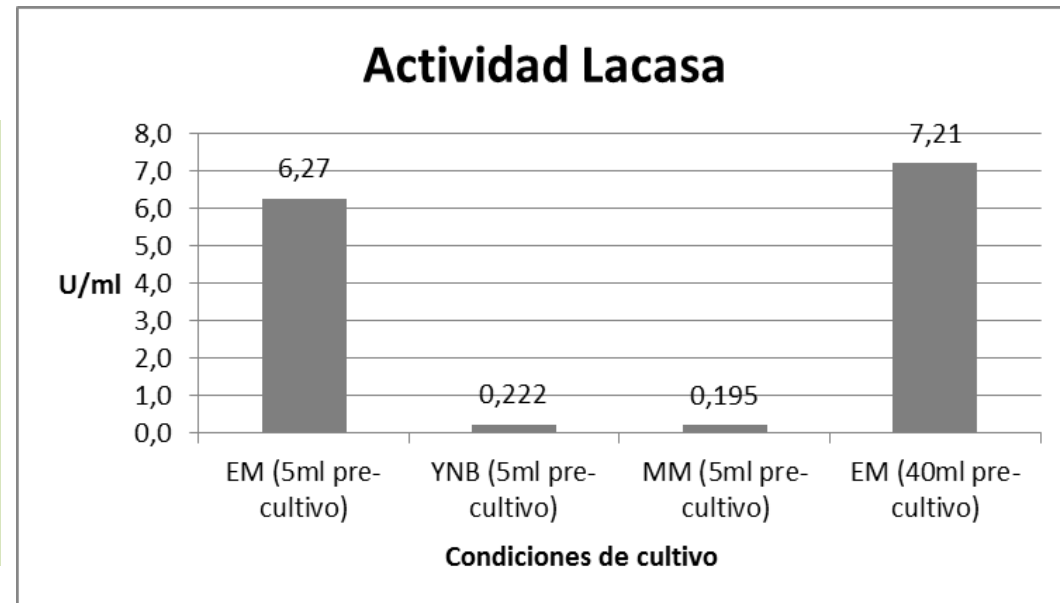


Pre-tratamiento

BIOLÓGICO: Utilizando el hongo *Dichostereum sordulentum*

Variables:

- medios cultivo (mínimos y ricos) en presencia del material a pre-tratar
- días de pre-tratamiento (16, 32, 60)

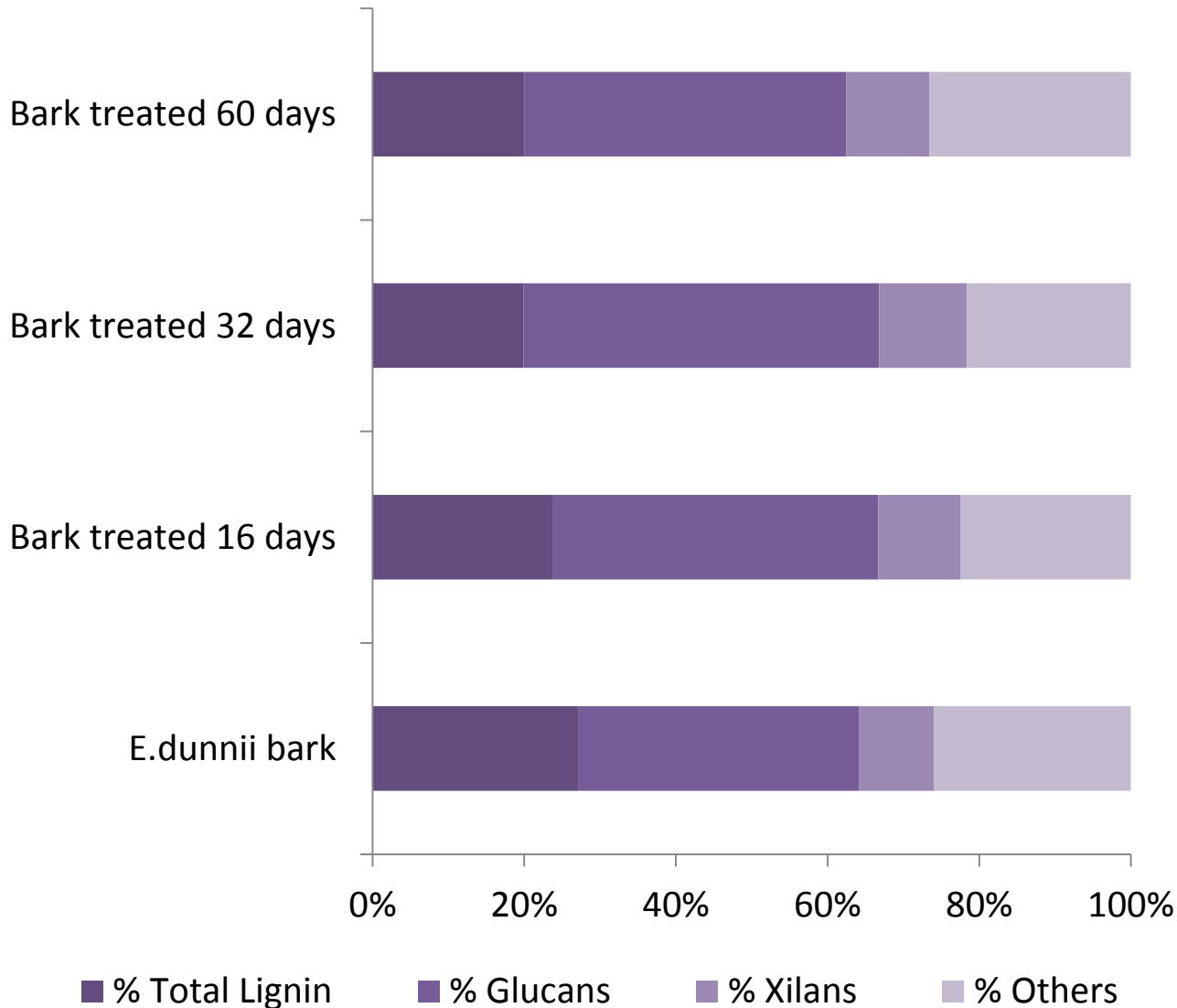


A partir de estos resultados se observa que el hongo utilizado tiene un óptimo crecimiento y producción de enzimas ligninolíticas en un medio con corteza de *Eucalyptus dunnii* suplementada con extracto malta 5%, cobre 0,5mM y peptona 1%.

Se llevan a cabo los pre-tratamientos en este medio de cultivo durante 16, 32 y 60 días y a las muestras de cortezas obtenidas luego del mismo, se les realizó un análisis de porcentaje de lignina total (lignina klason + soluble) y porcentaje de glucanos y xilanos.

Composición del material resultante

%
%deslignificacion %
 enriquecimiento
 en celulosa +
 hemicelulosa



31

14

30

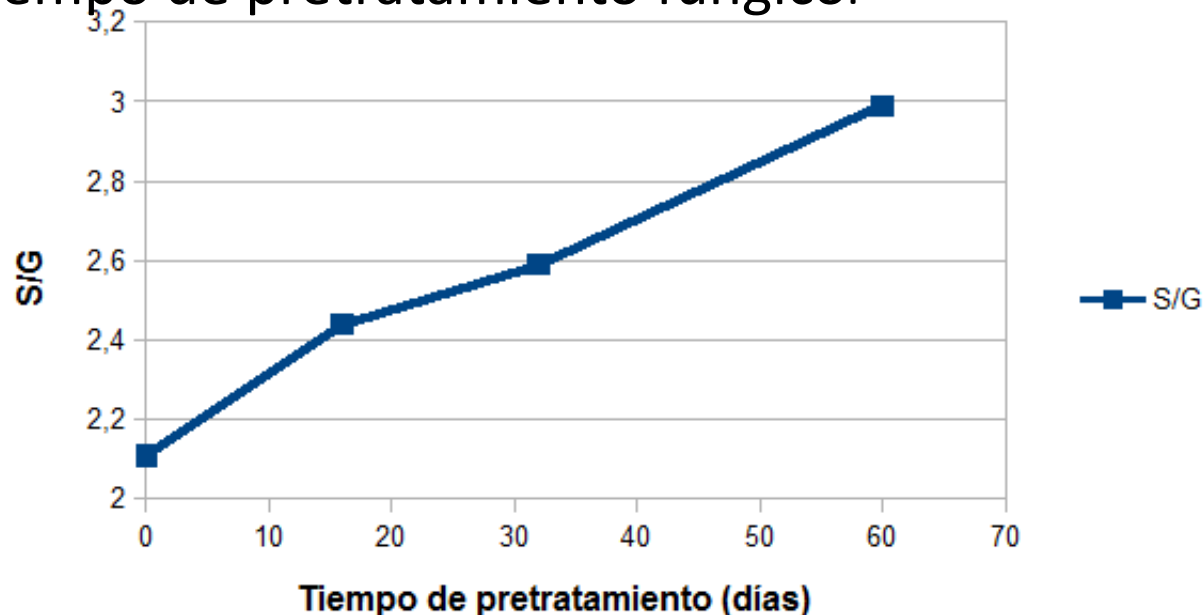
23

15

15

Efecto del pretratamiento fúngico en la estructura de la lignina

- La estructura de la lignina de la corteza pretratada con hongos se estudió mediante la técnica de Pirolisis - Cromatografía de Gases - Espectrometría de Masas.
- Se observó un incremento en la relación siringilo (S) /guayacilo (G) con el tiempo de pretratamiento fúngico.



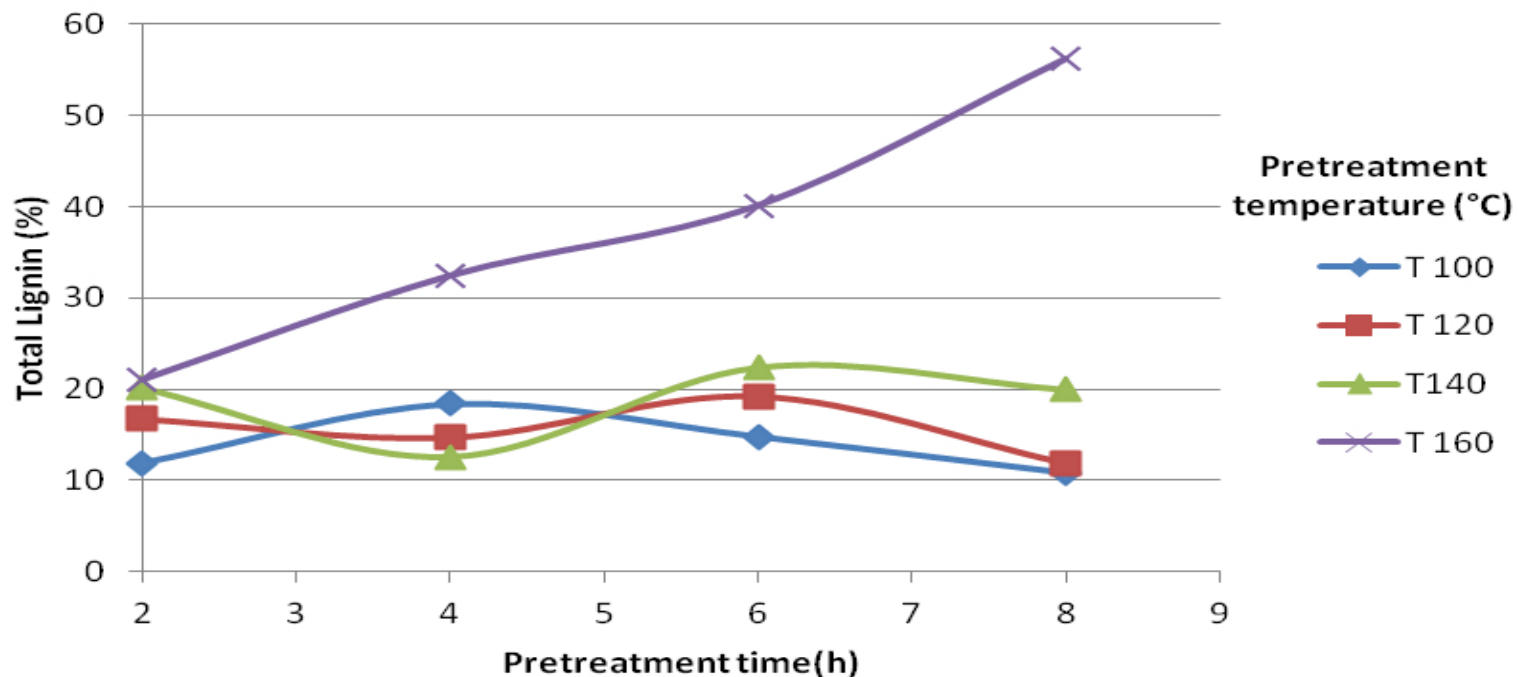


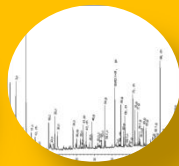
Pre-tratamiento

QUÍMICO: Utilizando el líquido iónico, Cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio

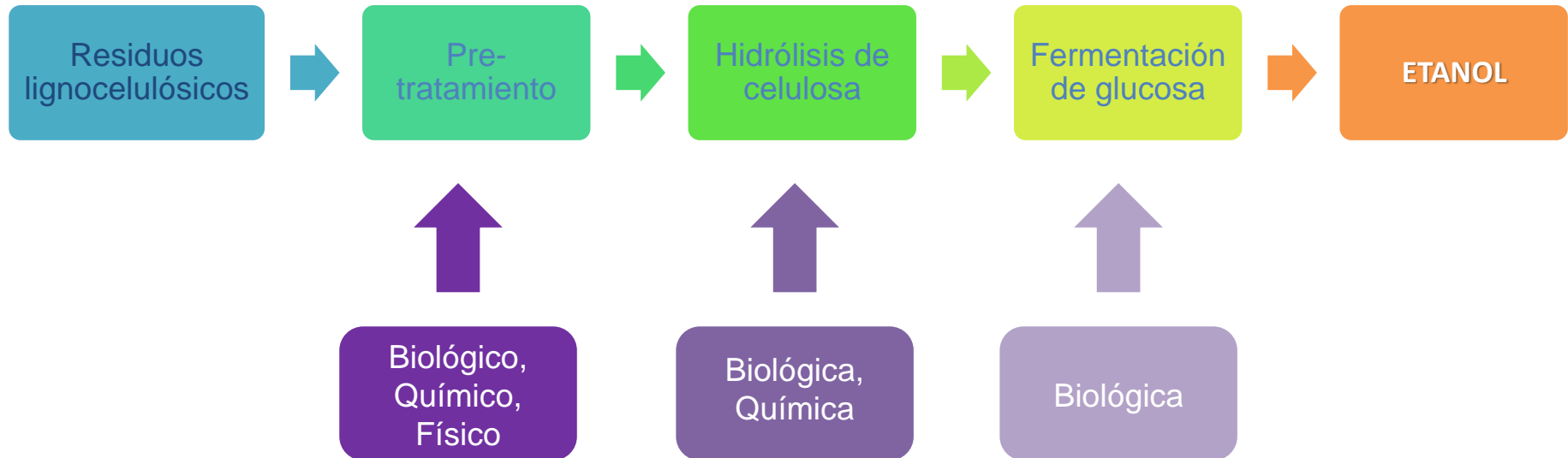
Variables:

- temperatura (de 100°C a 160°C)
- tiempo de pre-tratamiento (de 2 a 8hrs).





Esquema producción de etanol a partir de residuos lignocelulósicos



Objetivos

- ➡ Estudiar el comportamiento del material lignocelulósico en líquido iónico.
- ➡ Estudiar la acción de un hongo seleccionado sobre material lignocelulósico.
- ➡ Hidrólisis de la corteza pretratada, utilizando celulasa comercial y obtención de etanol utilizando una *S. cerevisiae*

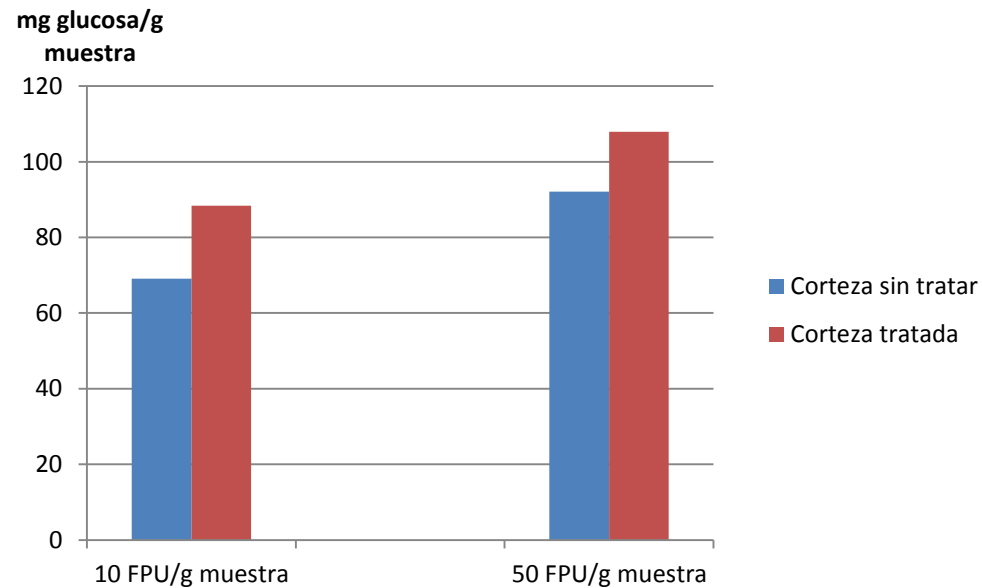


Hidrólisis con celulasa comercial

Material tratado hongo

200mg de corteza pretratada en un volumen total de 10ml en buffer citrato pH 4,8.

La sacarificación se realizó con diferentes cargas enzimáticas (10, 20, 50 FPU/g de corteza)de celulasa comercial de *Trichoderma reesei* durante 144hs en las cuales se tomaron muestras en intervalos de 24hs.

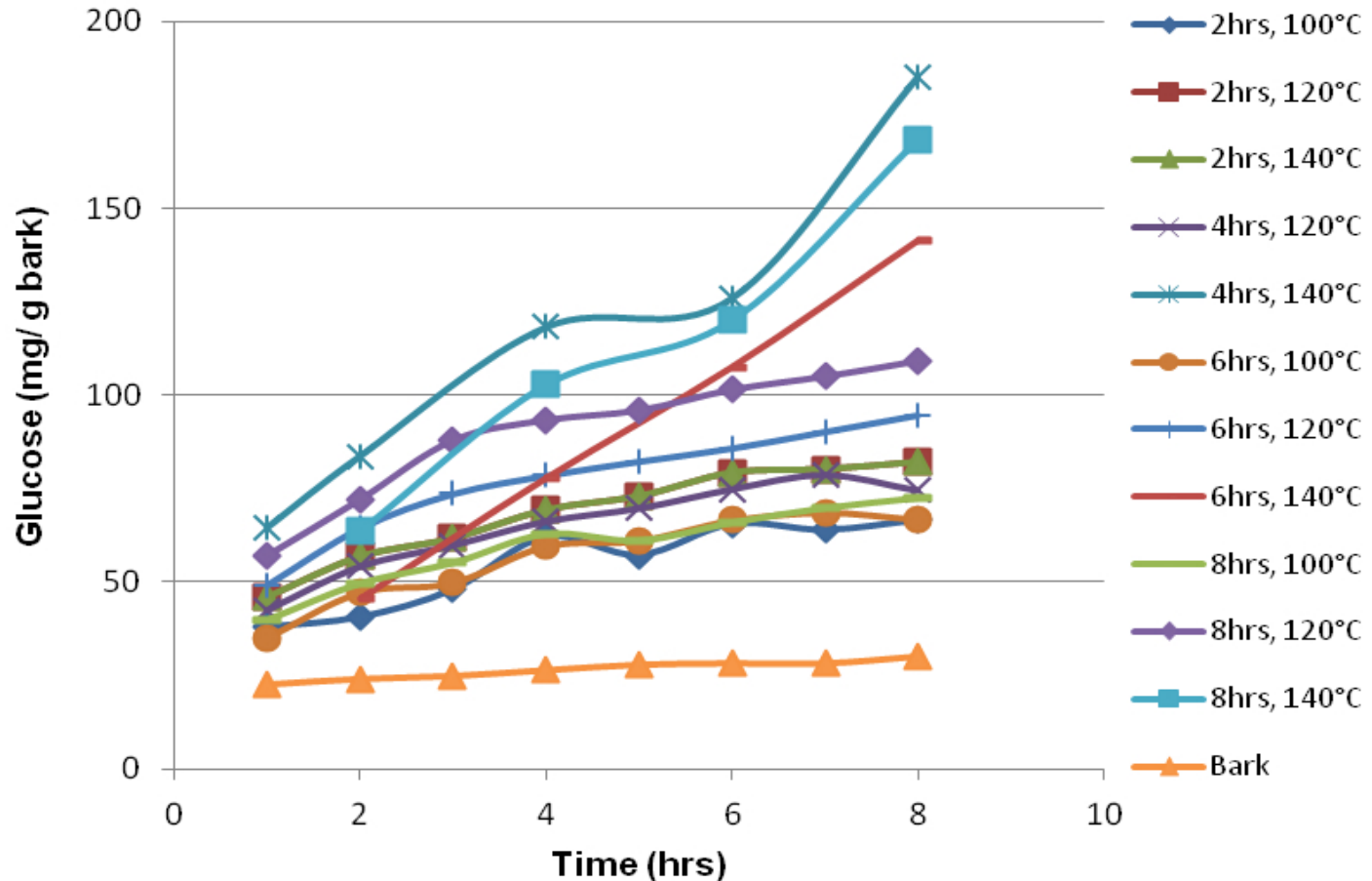


Mejores resultados del pre-tratamiento **BIOLÓGICO** a las **144 hrs.**

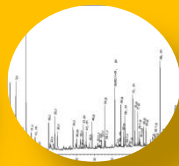


Hidrólisis con celulasa comercial

Material LI

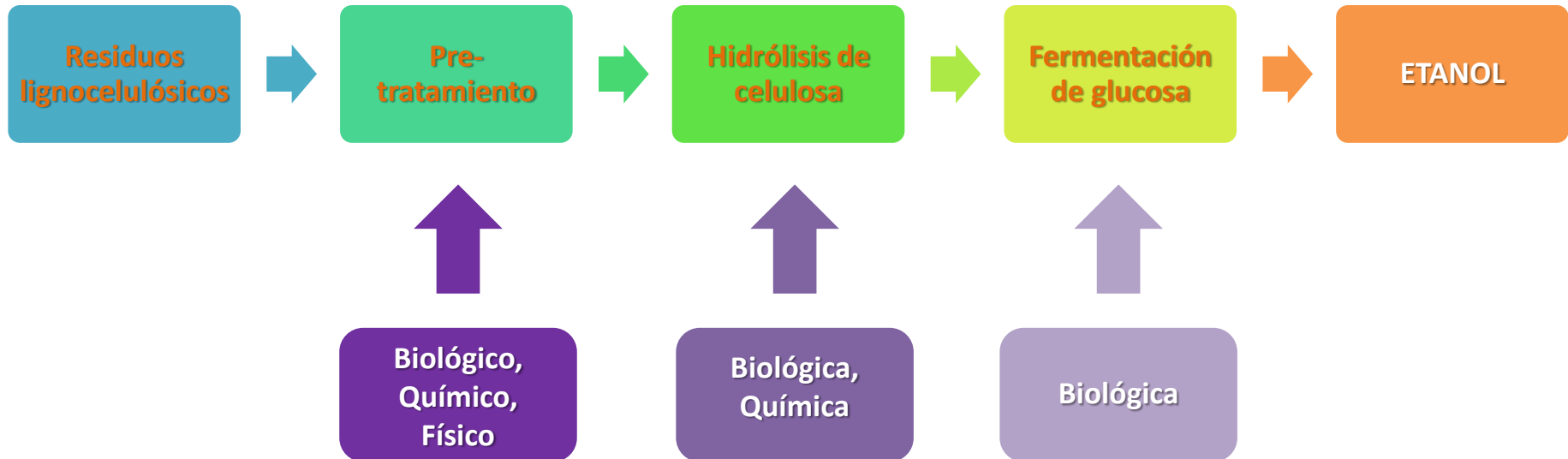


Se observó que la temperatura de pretratamiento que permitió alcanzar una mayor producción de glucosa en la etapa de hidrólisis enzimática fue de 140°C. Se utilizaron 10 FPU/gramo lográndose un rendimiento del 40% de sacarificación.

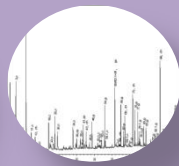


Objetivos

Esquema producción de etanol a partir de residuos lignocelulósicos



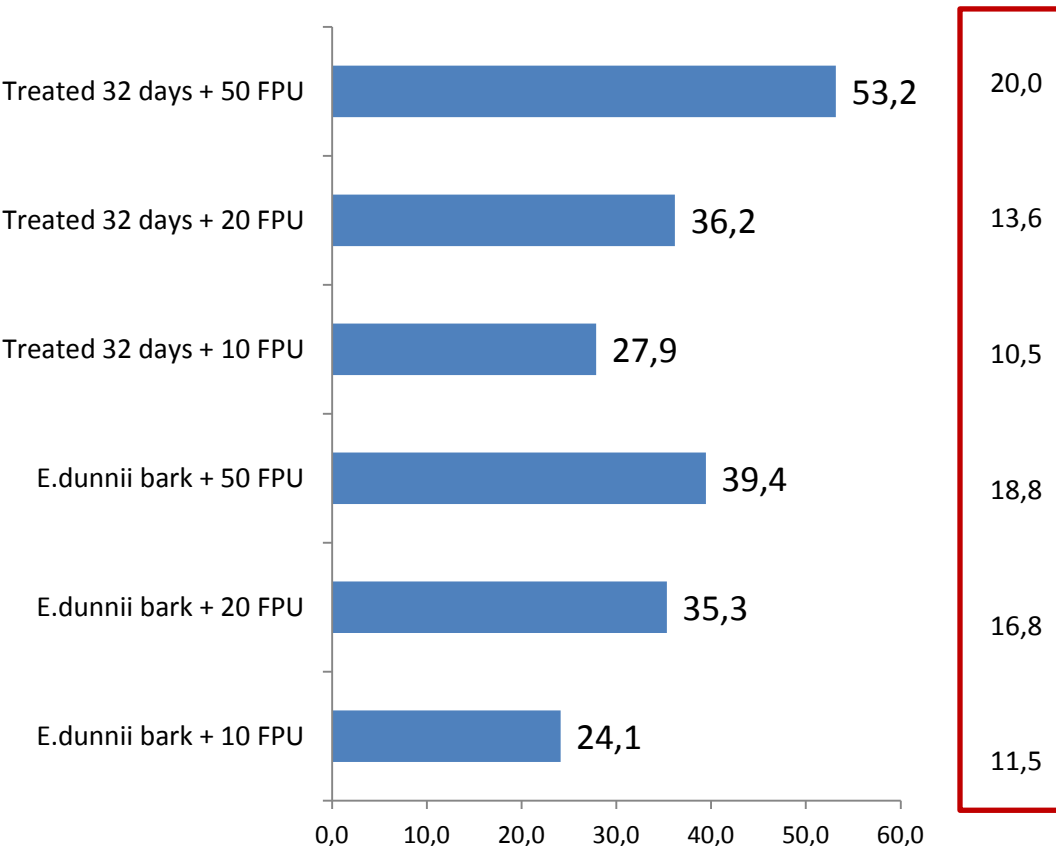
- ➡ Estudiar el comportamiento del material lignocelulósico en líquido iónico.
- ➡ Estudiar la acción de un hongo seleccionado sobre material lignocelulósico.
- ➡ Hidrólisis utilizando celulasa comercial y obtención de etanol utilizando una *S. cerevisiae*



Sacarificación y Fermentación con *S. cerevisiae*

Estos ensayos de fermentación, se llevaron a cabo en un medio de cultivo con 1% p/v extracto de levadura y 2% p/v de peptona, en un volumen total de 10ml en buffer citrato pH 4,8. La sacarificación se realizó con celulasa comercial de *Trichoderma reesei* durante 24hs luego se añadió 1ml de pre-cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* de 0,1 g células/ml y se siguió la producción de glucosa y etanol durante 144hs.

mg etanol por g muestra



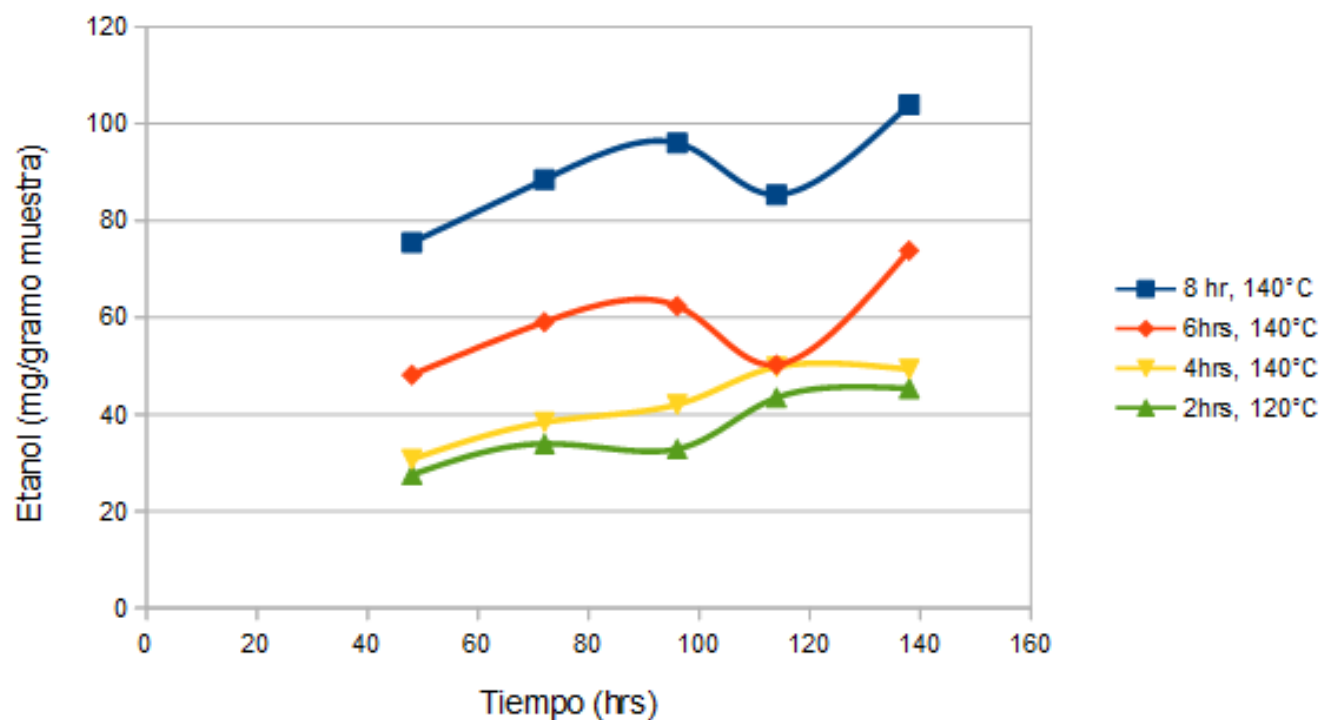
Pre-tratamiento BIOLÓGICO

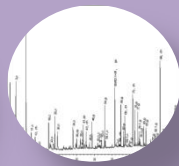
% Rendimiento etanol en relación al que se obtendría a partir de la glucosa presente en el material **CUAL** El original o el pretratado???



Sacarificación y Fermentación con *S. cerevisiae*

- Dado que las muestras pretratadas a 140°C eran las que producían mas glucosa en la etapa de sacarificación se seleccionaron estas para efectuar la fermentación.
- Se observó que las condiciones de 8hrs y 140°C con 10FPU de enzima fueron las de mayor producción de etanol. De este modo se continuo con el estudio del material pretratado en estas condiciones

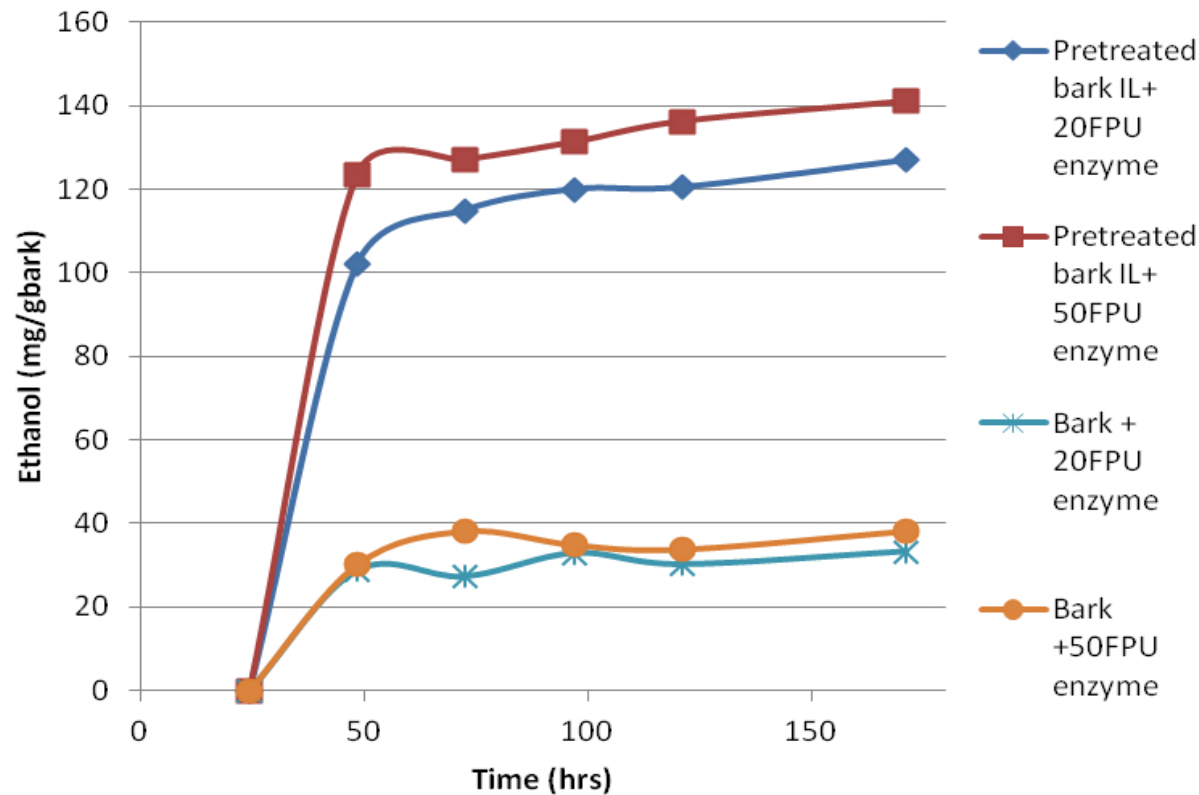


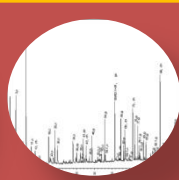


Sacarificación y Fermentación con *S. cerevisiae*

QUÍMICO

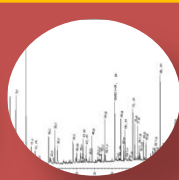
De las distintas condiciones estudiadas para la producción de ethanol las que permitieron maximizar el rendimiento fueron, una **relación LI:Corteza** de **5:1** con un tiempo de pretratamiento de **8 horas** a **140°C** y una carga enzimática de 50FPU/gramo. Estas condiciones permitieron alcanzar un **rendimiento** del **70%**.





Conclusiones

- Se logró una deslignificación del 30% del material de partida al utilizar el Basidiomycete de la pudrición blanca de la madera, *Dichostereum sordulentum*, en un medio optimizado para la producción de enzima lacasa.
- El pretratamiento fúngico produce un cambio en la estructura de la lignina aumentando la relación siringilo /guayacilo con el tiempo de pretratamiento.
- Se obtuvo un rendimiento de etanol de 20% al hidrolizar y fermentar la corteza pre-tratada con el hongo durante 32 días



Conclusiones

Una relación LI:Corteza de 5:1 con un tiempo de pretratamiento de 8 horas a 140°C y una carga enzimática de 50 FPU/gramo permitieron alcanzar un rendimiento máximo del 70% de etanol

Fue posible estudiar la composición de corteza de *Eucalyptus dunni* y *grandis*, se pudo conocer el contenido de lignina, determinarse su estructura, así como el contenido de los carbohidratos y compararlos con los de las maderas de las mismas especies. Todos estos datos se consideran claves al momento de realizar una evaluación de la posibilidad de producción de etanol a partir de este material



Q.F. Emiliana Botto



I.Q. Msc. Luis Reina



Q.F. Alejandra Galetta



B.Q. Larissa Gioia



Dra.Q.F. María del Pilar
Menéndez



biofuels
functional fibres
biocomposites
nanocellulose
sustainability
bio-economy
breakthroughs
biosensors



biopolymers
hemicelluloses *xylan*
oligomers **cellulose**
carbohydrates **extractives**
biomass **lignin**
sugars *wood*
cooperation
development



Workshop on Insights and Strategies Towards a Bio-Based Economy

22-25 Nov 2016
URUGUAY