

# ETANOL DE BIOMASA LIGNOCELULOSICA

Ing. Quím. Juan José Burastero

Centro de Investigaciones Tecnológicas  
ANCAP - Pando, Depto. Canelones

## 0.0 INTRODUCCION

La biomasa lignocelulósica - término amplio que abarca maderas, desechos forestales y residuos agroindustriales- ha despertado un interés creciente para destinarla a la producción de alcohol combustible, como alternativa de energía renovable sustitutiva del petróleo.

Estos materiales contienen carbohidratos poliméricos, desdoblables hidrolíticamente en azúcares fermentables que pueden convertirse a etanol. La fracción de carbohidratos incluye a la celulosa y a otros polisacáridos que se distinguen con el nombre colectivo de hemicelulosa.

La celulosa, principal componente, es un homopolímero de alta cristalinidad que por hidrólisis produce glucosa.

La hemicelulosa, fracción de carbohidratos no celulósicos, es un heteropolisacárido que por hidrólisis suministra pentosas, junto a hexosas y compuestos no azúcares, en cantidades variables según las especies. Las maderas duras y residuos agroindustriales se caracterizan por el alto contenido de la pentosa xilosa.

La composición química y la estructura física de los sustratos lignocelulósicos tienen un efecto muy importante en las distintas etapas del procesamiento.

La etapa de hidrólisis puede ser catalizada por ácidos o por enzimas.

La sacarificación enzimática tiene una serie de ventajas: no exige condiciones severas, no tie-

ne problemas de corrosión ni produce residuos contaminantes. Pero el costo de las enzimas es alto y su acción exige someter al material a algún tipo de pretratamiento para alcanzar rendimientos y velocidades aceptables. Es un proceso promisorio; no obstante requiere mayores avances especialmente en definir la etapa de pretratamiento y en abatir el costo de las enzimas.

La sacarificación ácida, muy estudiada en las últimas décadas, ha encontrado aplicación en conocidos procesos diseñados para lograr una efectiva hidrólisis de la celulosa sin una excesiva degradación de los productos. Y aparece como la opción más factible a corto plazo.

Atendiendo a la producción de etanol, el proceso global debe procurar una alta recuperación de la glucosa y el uso de la xilosa. Contemplando estos aspectos, se consideran posibles opciones, que podrían encontrar aplicación en el procesamiento de madera de eucalipto, de particular interés por su elevado rendimiento potencial en alcohol y por ser el género forestal más intensamente cultivado en nuestro país. En este material se centran las investigaciones que ANCAP, a través de su Centro de Investigaciones Tecnológicas, realiza sobre la factibilidad técnica y económica de producción de etanol carburante a partir de recursos lignocelulósicos, que aparecen como materias primas atractivas por su disponibilidad, bajo costo y carácter renovable.

## 1.0 LA HEMICELULOSA EN LA PRODUCCION DE ETANOL

### 1.1. Utilización de la hemicelulosa.

De la evaluación económica de distintas alternativas, se concluye que el etanol por bioconversión de sustratos lignocelulósicos no resultaría competitivo como combustible a menos que haya créditos a su producción derivados de la fracción hemicelulosa. Con ese propósito se han desarrollado distintas alternativas para su valorización (3).

Evidentemente la opción de mayor interés para esta fracción es destinarla a la elaboración de etanol.

En un estudio efectuado por el SERI (Solar Energy Research Institute, USA) sobre un proceso enzimático para la producción de etanol se evalúa la sensibilidad en el costo del etanol (US/gal) cuando se produce un 1% de cambio en los principales parámetros del proceso (16). La Figura 1, tomada de dicho estudio, permite identificar al rendimiento del proceso como el parámetro más importante seguido de la concentración y velocidad de producción.

Precisamente, la utilización de la hemicelulosa incorporando un azúcar adicional, la xilosa, para la producción de etanol permitiría aumentar el rendimiento del proceso incidiendo así en el parámetro de mayor influencia.

Esta opción se vio postergada en el pasado debido al impedimento de fermentar a la xilosa.

## 1.2 La hemicelulosa en el conjunto de la materia prima.

El contenido y composición de la hemicelulosa varía con el material lignocelulósico empleado. Dentro de una clasificación representativa de sustratos, la materia prima utilizada en nuestro caso, el eucalipto, es una madera dura caracterizada por un contenido relativamente alto de hemicelulosa cuyo azúcar principal, la xilosa, representa alrededor de un 23% en peso de la materia prima.

Desfavorablemente, esta pentosa que puede separarse fácilmente bajo condiciones ácidas suaves no es fermentable directamente por las levaduras convencionales.

Pero junto a la hemicelulosa estos materiales contienen como principal componente a la celulosa, homopolisacárido que se hidroliza produciendo glucosa, hexosa fácilmente convertida a etanol por fermentación para la cual tradicionalmente se ha empleado la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Pero la hidrólisis de la celulosa es difícil, debido fundamentalmente a su alta cristalinidad y a su fuerte asociación con lignina, tercer componente importante de la biomasa que por su composición, básicamente un polímero de fenilpropano, no suministra azúcares.

De este modo los dos componentes del sustrato que aportan azúcares muestran características diferentes: la celulosa se hidroliza con dificultad a glucosa la cual puede fermentarse con relativa facilidad; en tanto que la hemicelulosa se hidroliza fácilmente produciendo xilosa cuya fermentación ofrece problemas.

Por lo tanto, la integración de la obtención y fermentación de la xilosa al proceso global debe compatibilizar las diferencias de comportamiento de ambos polisacáridos en la hidrólisis y de

los azúcares resultantes en la fermentación.

## 1.3. Fermentación de la xilosa.

Una sostenida investigación para fermentar la xilosa comienza con el descubrimiento de que muchas levaduras, entre ellas la bien conocida *Saccharomyces cerevisiae*, podían fermentar la xilulosa, isómero que se obtiene a partir de la xilosa por la acción de una enzima comercial, la xilosa isomerasa, empleada industrialmente para la fabricación de jarabes de alta fructosa a partir de maíz (7).

Se sugirió entonces un proceso en dos etapas de las cuales la primera, la isomerización, es lenta, incompleta y exige un costo adicional por el empleo de la enzima.

Un nuevo interés surge cuando al comenzar la década de los 80 se descubre que la xilosa puede ser fermentada directamente por varias especies de levaduras. De ellas sólo algunas, especialmente *Pachysolen tannophilus*, *Candida shehatae* y *Pichia stipitis* cumplen la fermentación a velocidades de interés práctico (11,12).

También llevan a cabo esa fermentación algunas bacterias y hongos; pero la información sobre estos microorganismos es más limitada lo que dificulta su evaluación técnica y económica. En una situación similar se encuentra la información concerniente al uso de la combinación isomerasa y levadura.

Así, entre las tecnologías disponibles aquella que emplea las levaduras fermentadoras de pentosas referidas, aparece como la opción más factible en el estado actual para una fermentación comercial de la xilosa.

Al considerar su aplicación comercial, es inevitable su comparación con la utilización de la glucosa por la conocida levadura de panificación (*S. cerevisiae*). Con respecto a esta fermentación con-

vencional la fermentación de la xilosa por las levaduras transcurre con una merma en la productividad, un menor rendimiento y alcanza una concentración final de etanol más baja (10). Ya el propio rendimiento, teóricamente asumido de 0.46 gramos por gramo de xilosa utilizada (7), es alrededor de un 10% menor con respecto al de la glucosa y al que correspondería si se emplearan bacterias o se fermentara vía xilulosa.

## 1.4 Hidrólisis de la hemicelulosa. Obtención de xilosa.

La hemicelulosa es fácilmente hidrolizada en condiciones moderadas de acidez y temperatura. Con este tratamiento la celulosa no hidroliza o lo hace incompletamente. La hidrólisis de la celulosa requiere un tratamiento más severo que se logra modificando las variables concentración de ácido, temperatura y tiempo.

Pero las condiciones de reacción que conducen a una hidrólisis rápida y completa de la celulosa causan descomposición de los azúcares resultantes. Principalmente de las pentosas que son más fácilmente degradables.

Debido a la naturaleza heterogénea de la biomasa lignocelulósica no hay un proceso hidrolítico conocido capaz de convertir estas materias primas en una única etapa con buenos rendimientos en azúcares. El proceso debe cumplirse así en más de una etapa, a fin de adaptar las condiciones de reacción a la reactividad de los diferentes polisacáridos y además permitir la remoción de los azúcares formados en cada etapa para prevenir su destrucción por tratamiento ácido prolongado.

## 1.5 Integración de la fermentación de xilosa en el proceso.

El proceso de obtención de etanol a partir de un sustrato

lignocelulósico involucra como etapa fundamental la producción de azúcares fermentables a partir de su principal constituyente, la celulosa. Esa sacarificación puede hacerse empleando ácidos o por vía enzimática.

En la sacarificación ácida es necesario ajustar la hidrólisis con la reacción de descomposición de los azúcares de modo que el rendimiento, sea lo mayor posible.

En los procesos que usan ácidos diluidos y temperaturas mayores los azúcares generados deben ser removidos rápidamente de la zona de reacción antes que la degradación sea significativa.

Los procesos que usan ácidos concentrados operan a temperaturas menores y con escasa degradación de los azúcares resultantes.

La mayoría de los procesos de hidrólisis ácida más desarrollados incluyen una etapa de prehidrólisis con la finalidad de hidrolizar previamente la hemicelulosa en condiciones de reacción más suaves, logrando altas recuperaciones de la xilosa al evitar o reducir su descomposición a furfural.

En la Tabla I se sumarian las condiciones de operación de la etapa de prehidrólisis para los principales procesos de hidrólisis ácida. Los datos se refieren a aquellas tecnologías que aparecen mejor descritas en la bibliografía disponible. Esos procesos han sido probados con materiales diversos y presentan diferentes escalas de desarrollo.

Todos los procesos diseñados de modo que la hidrólisis de la hemicelulosa se efectúe en una etapa independiente (prehidrólisis) y se evite la degradación de la xilosa resultante al sustraerla de las condiciones más severas en la zona de hidrólisis principal son potencialmente adecuados para integrar la fermentación de la xilosa al proceso global de obtención de etanol.

Por razones de economía, en los procesos que se han optimizado para el aprovechamiento de la hidrólisis de la hemicelulosa, la misma se efectúa utilizando una solución residual de azúcares y ácido. Esto permite aprovechar tanto el ácido como el calor remanente y evita la dilución excesiva de azúcares. El resultado es una solución que contiene una mezcla de azúcares que debe ser fermentada por un microorganismo capaz de fermentar los componentes mayoritarios glucosa y xilosa. Esto último implica usar la levadura *Pichia stipitis* en lugar de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, corrientemente empleada en la industria de la fermentación etanólica.

Un diagrama simplificado de un proceso típico de hidrólisis ácida incorporando la fermentación de la xilosa se presenta en la Figura 2. Con pequeñas modificaciones es válido para los distintos procesos de hidrólisis ácida referidos.

Si la sacarificación se realiza por vía enzimática, es necesario hidrolizar previamente la hemicelulosa mediante un tratamiento ácido en condiciones suaves por control de las variables acidez, temperatura y tiempo de reacción.

Esa prehidrólisis catalizada por ácidos, ha mostrado además ser un efectivo pretratamiento para aumentar la digestibilidad de la celulosa por acción de la celulasa, usada en la posterior hidrólisis enzimática de la celulosa.

Es interesante notar que hay una correlación entre la remoción de la hemicelulosa y la susceptibilidad a la degradación enzimática de la celulosa; y ha sido señalado que el grado de digestibilidad es cercanamente proporcional a la cantidad de xilanos separados por hidrólisis (8).

Cuando se utiliza la hemicelulosa para la producción de etanol un pretratamiento de

este tipo tiene una valoración adicional ya que constituye simultáneamente una etapa de prehidrólisis.

Un pretratamiento ácido en condiciones moderadas ( $H_2SO_4$  0.5-1.1%, 140-160 °C, 10-40 min) produce una pulpa celulósica altamente digestible y permite separar la xilosa con alto rendimiento.

Esa prehidrólisis puede realizarse por el proceso de explosión con vapor. En estas condiciones se produce una autohidrólisis; reacción que en este caso es catalizada por ácidos generados in situ (ácido acético y otros ácidos orgánicos).

La autohidrólisis no es efectiva en caso de maderas blandas; y para estos sustratos ese pretratamiento con vapor puede ser notoriamente mejorado en presencia de dióxido de azufre. La presencia de este gas también mejora la eficiencia del tratamiento de maderas duras, aunque en menor grado.

En la Tabla II se indican las condiciones de operación de los principales procesos de hidrólisis de la hemicelulosa, que además de permitir recuperar la xilosa actúan como un eficiente pretratamiento para incrementar la digestibilidad enzimática de la celulosa. Los datos pertenecen a los procesos mejor descritos en la literatura.

En la Figura 3 se presenta un diagrama de flujo simplificado mostrando un típico proceso de hidrólisis enzimática al cual se ha integrado la fermentación de la xilosa.

La solución de xilosa y otros azúcares menores que integran el hidrolizado de hemicelulosa es, previa neutralización, fermentada por la levadura adoptada *P.stipitis*. La solución alcohólica producida puede utilizarse como líquido de proceso en la etapa de hidrólisis y fermentación. En esta última etapa se puede usar la levadura *S.cerevisiae* que es más

apta para la fermentación de glucosa.

Otra alternativa, también indicada en la figura, es que el hidrolizado sea utilizado directamente como líquido de proceso en la etapa de hidrólisis y la fermentación. En este caso fermentación de la glucosa y de la xilosa ocurren simultáneamente en la misma etapa y entonces se deberá utilizar la levadura *P. stipitis*, capaz de fermentar los azúcares provenientes de la hemicelulosa y de la celulosa.

En ambas alternativas se supone que las etapas de sacarificación y fermentación se hacen en forma combinada (simultánea o acoplada), proceso que determina el menor costo.

### 1.6 Incidencia económica de la conversión de la xilosa.

En la figura 4 aparece el costo de producción del etanol para los distintos procesos que utilizan la sacarificación ácida cuyos datos operacionales se daban en la Tabla 1. No se incluye el proceso

de flujo pistón pues opera en condiciones que degrada la xilosa a furfural. Se han evaluado configuraciones alternativas que permitan producir xilosa, pero esos diseños incrementan los requerimientos de capital y energía (15).

Los costos del etanol fueron estimados tomando como base los estudios de costos de producción efectuados para esos procesos (5,15).

Sin incluir la venta de subproductos esos costos cubren un rango entre U\$ 0.50 y 0.57 el litro.

Para cada proceso aparece junto al valor base el costo estimado si se incorpora la conversión de xilosa a etanol. Se supone que la xilosa es fermentada conjuntamente con la glucosa usando la levadura *P. stipitis* con un rendimiento de 0.35 g etanol/g xilosa. Con la integración de la xilosa al proceso los costos de producción sufren en los cuatro casos considerados una reducción similar en el entorno del 30%.

Para lograr una idea del efecto económico causado por la incor-

poración de la xilosa en los procesos que operan la sacarificación por vía enzimática, resultan ilustrativos los resultados que se muestran en la Figura 5, extractados de un análisis económico efectuado por el SERI (9).

La reducción máxima en el costo del etanol sería de un 25% con respecto al valor base. Esa reducción potencial supone los mejores valores teóricamente alcanzables en tres parámetros claves en la economía de la conversión de la xilosa: rendimiento de fermentación, concentración de etanol y productividad. El costo es sumamente sensible en especial para los dos primeros.

Los costos que figuran para cada una de las levaduras fueron estimados en base a los datos experimentales aportados por la bibliografía. En el caso de las dos levaduras que se desempeñan mejor esa reducción sería del orden del 17%. Es decir que en el estado actual de la tecnología de la fermentación de la xilosa, se lograría una reducción cercana al 70% del valor máximo potencial.

## 5.0 REFERENCIAS

1. Angeloro, H., Albornoz, C., Ferrari, M.D., Neirotti, E. y Saucedo, E. 1989. Etanol de madera: fermentación alcohólica de hemicelulosa de eucalipto. Informe de investigación 1058/89, Centro de Investigaciones Tecnológicas, ANCAP, Pando, Uruguay.
2. Bienkowski, P.R., Ladisch, M.R., Voloch, M. y Tsao, G.T. 1984. Acid hydrolysis of pretreated lignocellulose from corn residue. *Biotechnol. Bioeng. Symp.* 14: 511-524.
3. Burastero, J.J. 1990. Etanol de hemicelulosa: Utilización de la hemicelulosa en un proceso de producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica. Presentado en el Taller iberoamericano sobre Oportunidades y competitividad de los recursos lignocelulósicos en la obtención de etanol. Programa CYTED-D, Universidad del Bio-Bio, Concepción, Chile, 16 noviembre 1990.
4. Ferrari, M.D., Neirotti, E., Albornoz, C. y Saucedo, E. 1990. Producción de etanol a partir de hidrolizados de hemicelulosa de madera de eucalipto por *Pichia stipitis*. Informe de Investigación 1061/90, Centro de Investigaciones Tecnológicas, ANCAP, Pando, Uruguay.
5. Ferrari, M.D. 1991. Procesos de hidrólisis ácida para la producción de etanol a partir de materiales lignocelulósicos. Centro de Investigaciones Tecnológicas, ANCAP, Pando, Uruguay.
6. Gilbert, N., Hobbs, I.A. y Levine, J.D. 1952. Hydrolysis of wood using dilute sulfuric acid. *Ind. Eng. Chem.* 44: 1712-1720.
7. Gong, C.S. Recent advances in D-xylose conversion by yeasts. En G.T. Tsao (ed) 1983. Annual reports on fermentation processes, 6: 253-297, Academic Press, New York.
8. Grohmann, K., Torget, R. y Himmel, M. 1985. Optimization of dilute acid pretreatment of biomass. *Biotechnol. Bioeng. Symp.* 15: 61-80.
9. Hinman, N.D., Wright, J.D., Hoagland, W. y Wyman, C.E. 1989. Xylose fermentation: An economic analysis. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 20/21: 391-401.
10. Jeffries, T.W. 1985. Emerging technology for fermenting D-xylose. *Trends Biotechnol.* 3: 208-212.
11. Prior, B.A., Gows Kilian, S. y du Preez, J.C. 1989. Fermentation of D-xylose by the yeasts *Candida shehatae* and *Pichia stipitis*: Prospects and problems. *Process Biochem.* 24: 21-32.
12. Skoog, K. y Hahn-Hagerdal, B. 1988. Xylose fermentation. *Enzyme Microb. Technol.* 10:66-80.
13. Wayman M. y Parekh, S.R. 1988. SO<sub>2</sub> prehydrolysis for high yield ethanol production from biomass. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 17: 33-43.
14. Wayman, M. Seagrave C. y Parekh, S.R. 1987. Ethanol fermentation by *Pichia stipitis* of combined pentose and hexose sugars from lignocellulosics prehydrolysed by SO<sub>2</sub> and enzymatically saccharified. *Process Biochem.* April: 55-59.
15. Wright, J.D. y Power, A.J. 1986. Comparative technical evaluation of acid process for conversion of cellulose to alcohol. SERI/TP-232-2957, Solar Energy Research Institute, Golden, Co. USA.
16. Wright, J.D. Wyman, C.E. y Grohmann, K. 1988. Simultaneous saccharification and fermentation of lignocellulose: Process evaluation. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 18: 75-90.

Variación del costo del etanol en centavos (USA) por litro y por 1% de cambio

c/L %

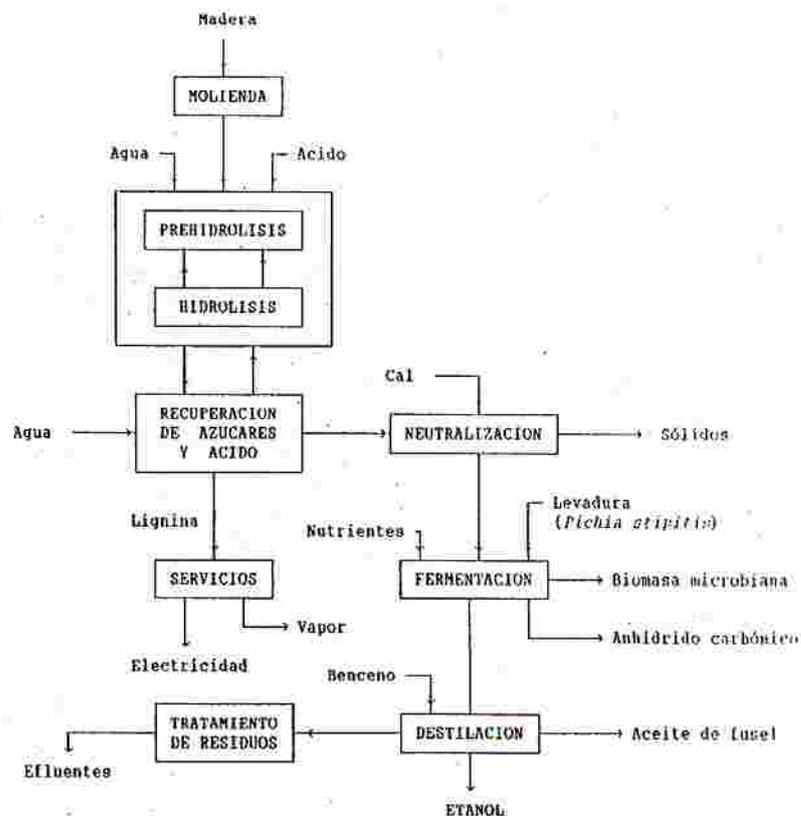
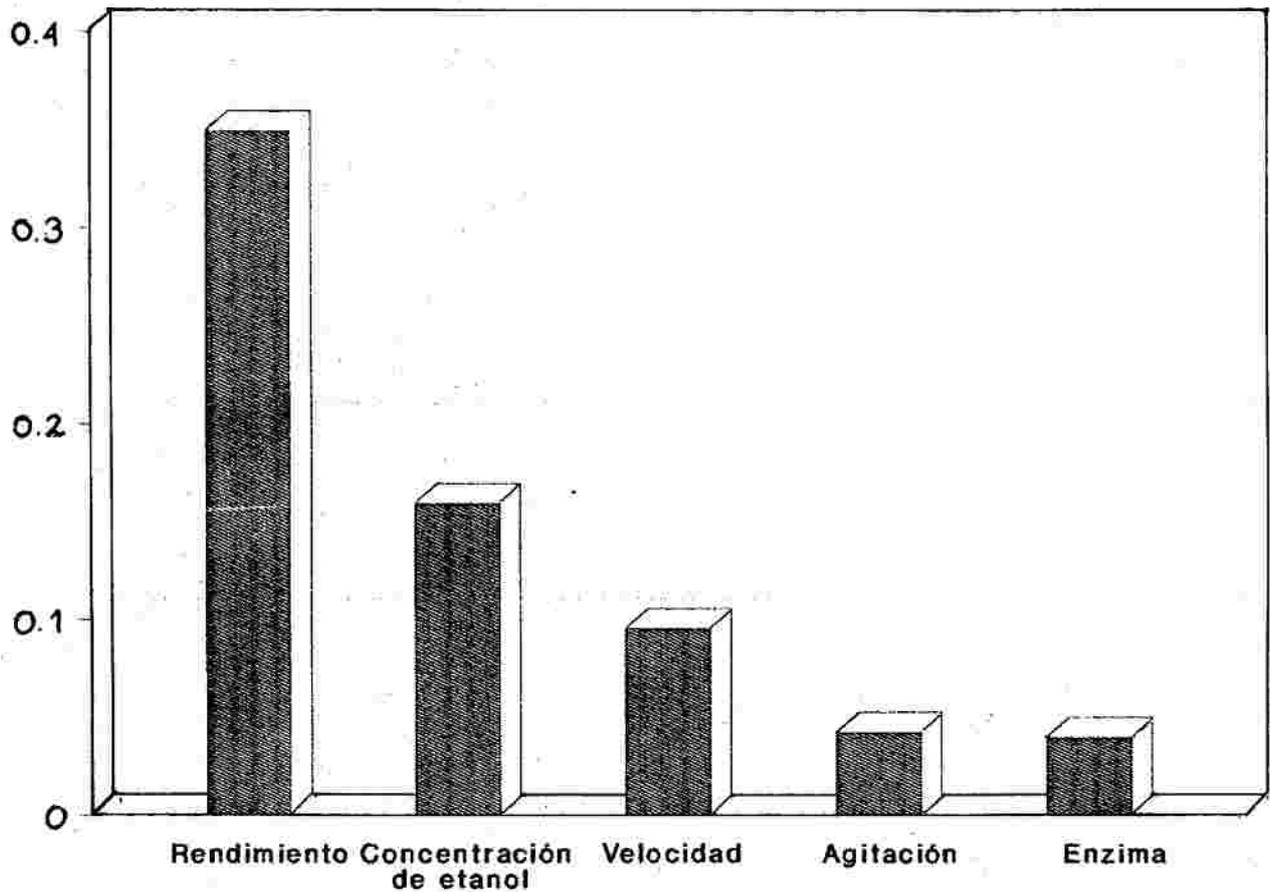


Figura 2. Diagrama de flujo simplificado para la producción de etanol a partir de madera utilizando un proceso ácido para la hidrólisis de la celulosa.

Costo del etanol, c/L

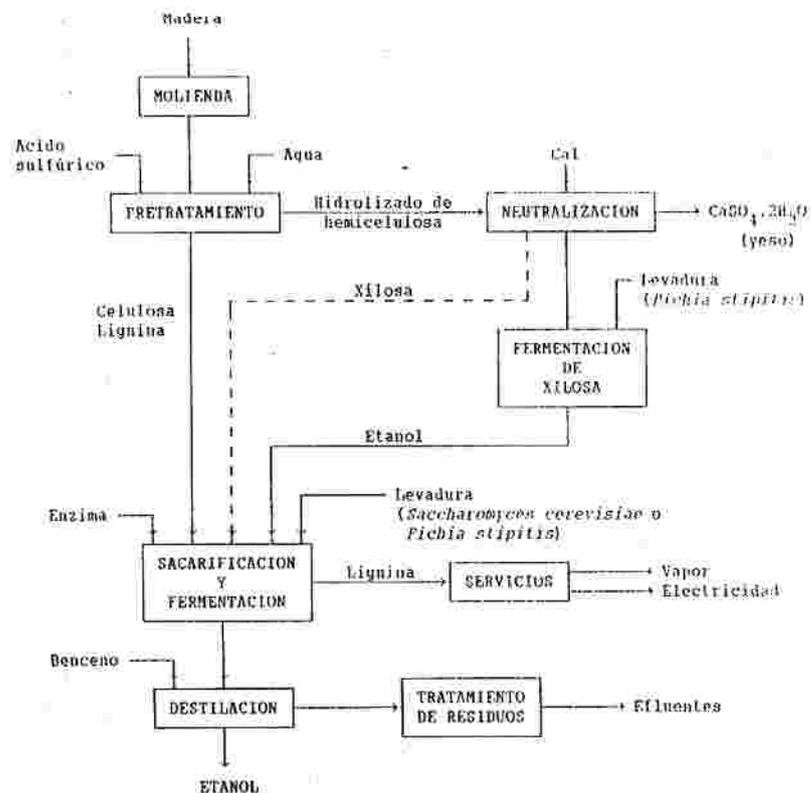
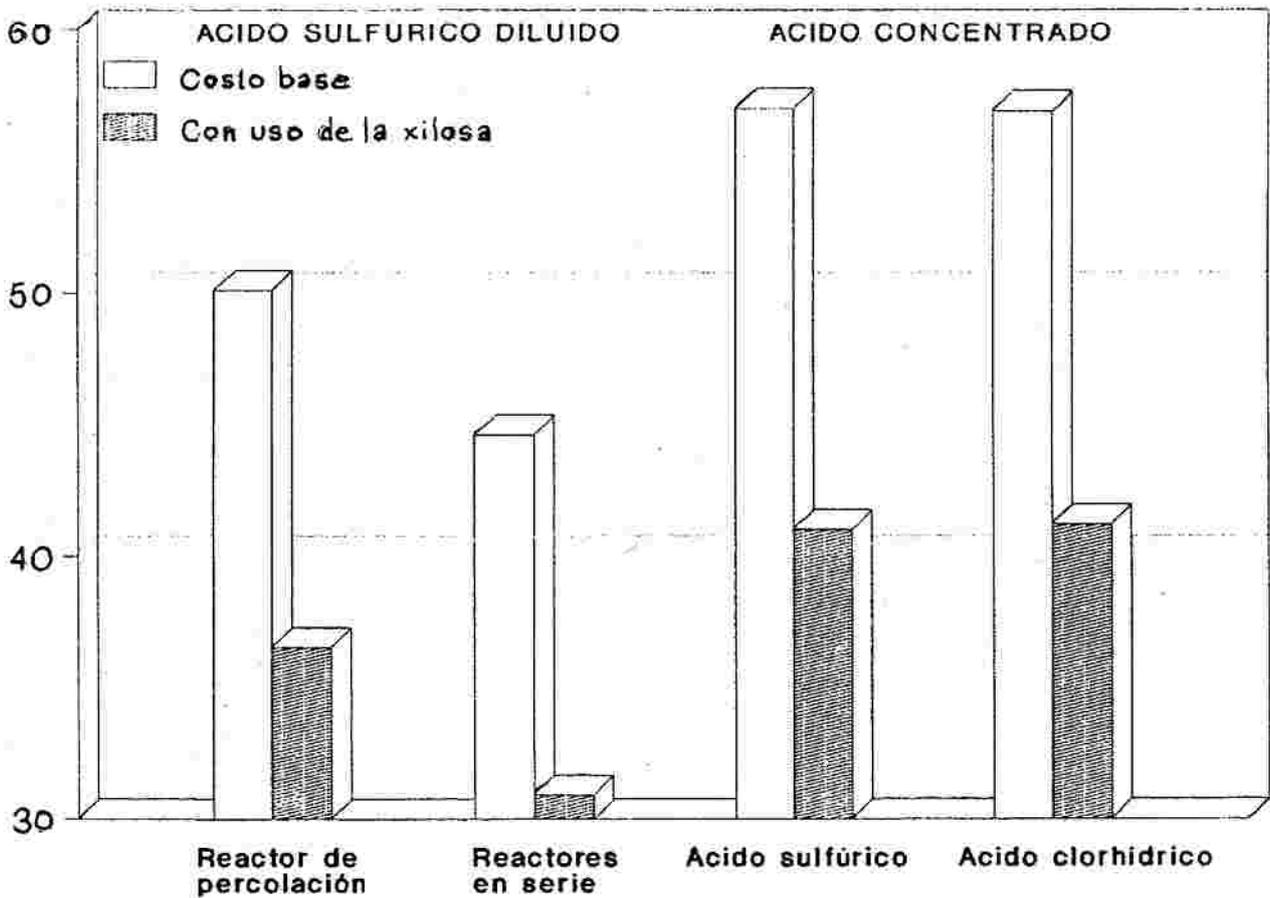
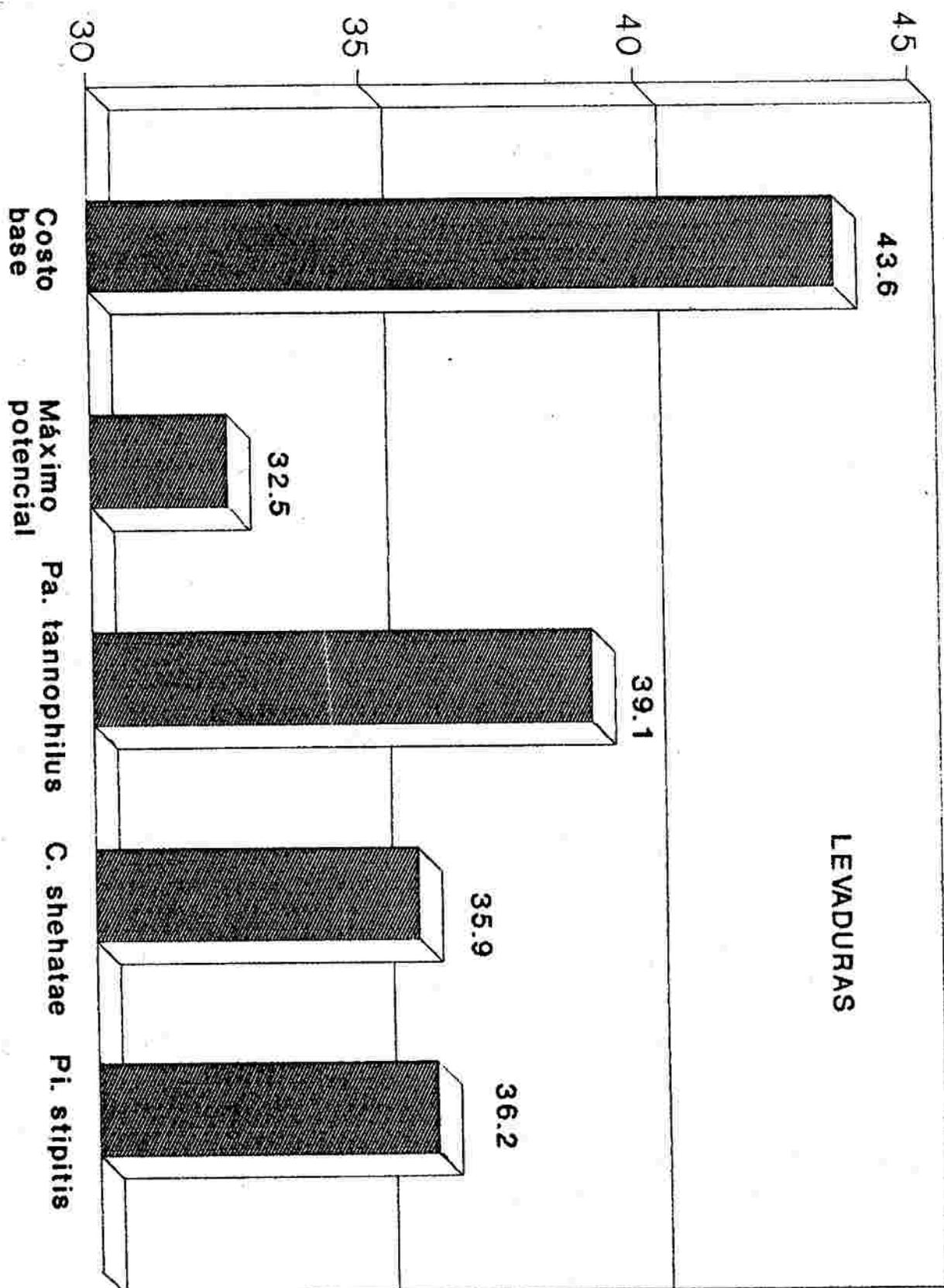


Figura 3. Diagrama de flujo simplificado de la producción de etanol a partir de madera utilizando un proceso enzimático para la hidrólisis de la celulosa.

Costo del etanol, c/L



**Tabla I. Hidrólisis ácida de la hemicelulosa (prehidrólisis) en procesos de producción de etanol por sacarificación ácida de la celulosa.**

Proceso:	Baja concentración de ácido			Alta concentración de ácido	
	Percolación TVA	Reactores en serie SERI	Flujo pistón SERI	Univ. de Purdue TVA	Udic-Rheinau
TIPO DE ACIDO:	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	HCL (líquido)			
CONCENTRACION DE ACIDO, %	0.5	0.7	1	7	32
TEMPERATURA, °C	120-150	150	180	100	ambiente
TIEMPO DE REACCION, min					
Líquido	-	20	-	-	-
Sólido	-	30	-	-	-
Total	30	-	10	120	-
EFICIENCIA DE HIDROLISIS, %					
Hemicelulosa	-	95	-	95	-
Total	75	-	-	-	90
RENDIMIENTO DE FURFURAL, kg/ton	-	6.5	100	-	-
DISEÑO OPTIMIZADO PARA USO DE HEMICELULOSA PARA ETANOL	Si	Si	No	Si	Si
ESCALA DE DESARROLLO:	comercial	conceptual	piloto	piloto	comercial
MATERIAS PRIMAS ENSAYADAS:	maderas	-	maderas, papel celulosa	residuos de maíz, bagazo, cáscaras	maderas

Valores adaptados de las referencias 2, 6 y 15.  
Se indica la eficiencia total de la hidrólisis (celulosa + hemicelulosa) cuando no se tiene el valor para la hemicelulosa.

**Tabla II. Hidrólisis ácida de la hemicelulosa (prehidrólisis) como pretratamiento para la sacarificación enzimática de la celulosa.**

CATALIZADOR	Universidad de Toronto, Canadá				SERI, USA		
	Auto-hidrólisis con vapor	Auto-hidrólisis con vapor	SO <sub>2</sub>	SO <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
NIVEL USADO DE CATALIZADOR	-	-	3%	2%	0.5%	0.5%	1.1%
TEMPERATURA, °C	208	208	160	208	140	160	160
PRESION, MPa	1.72	1.72	0.52	1.72	-	-	-
TIEMPO, min	2	2	30	2	40	10	10
EFICIENCIA, %	81	60	92	89	86	90	93
FURFURAL, %	-	-	-	-	6	10	30
DIGESTIBILIDAD DEL RESIDUO CELULOSICO, %	81	27	90	94	80	80	100
MATERIA PRIMA	madera dura	madera blanda	madera dura	madera blanda	madera dura	madera dura	madera dura
ESCALA	piloto	piloto	piloto	piloto	laboratorio	laboratorio	laboratorio

- Valores adaptados de las referencias 8, 13, 14 y 16.

- El nivel del ácido sulfúrico se expresa por su concentración en peso en la fase líquida.

- El nivel de anhídrido sulfuroso se expresa como la cantidad en peso utilizada por 100 g de madera seca.