

Enfoque cromatográfico aplicado al pretratamiento de lignocelulosas para prospectar la producción de bioetanol



Dr. Alejandro García
M. Sc. Sari Hyvärinen
M. Sc. René Carmona
Dr. María Elena Lienqueo
Dr. Oriana Salazar



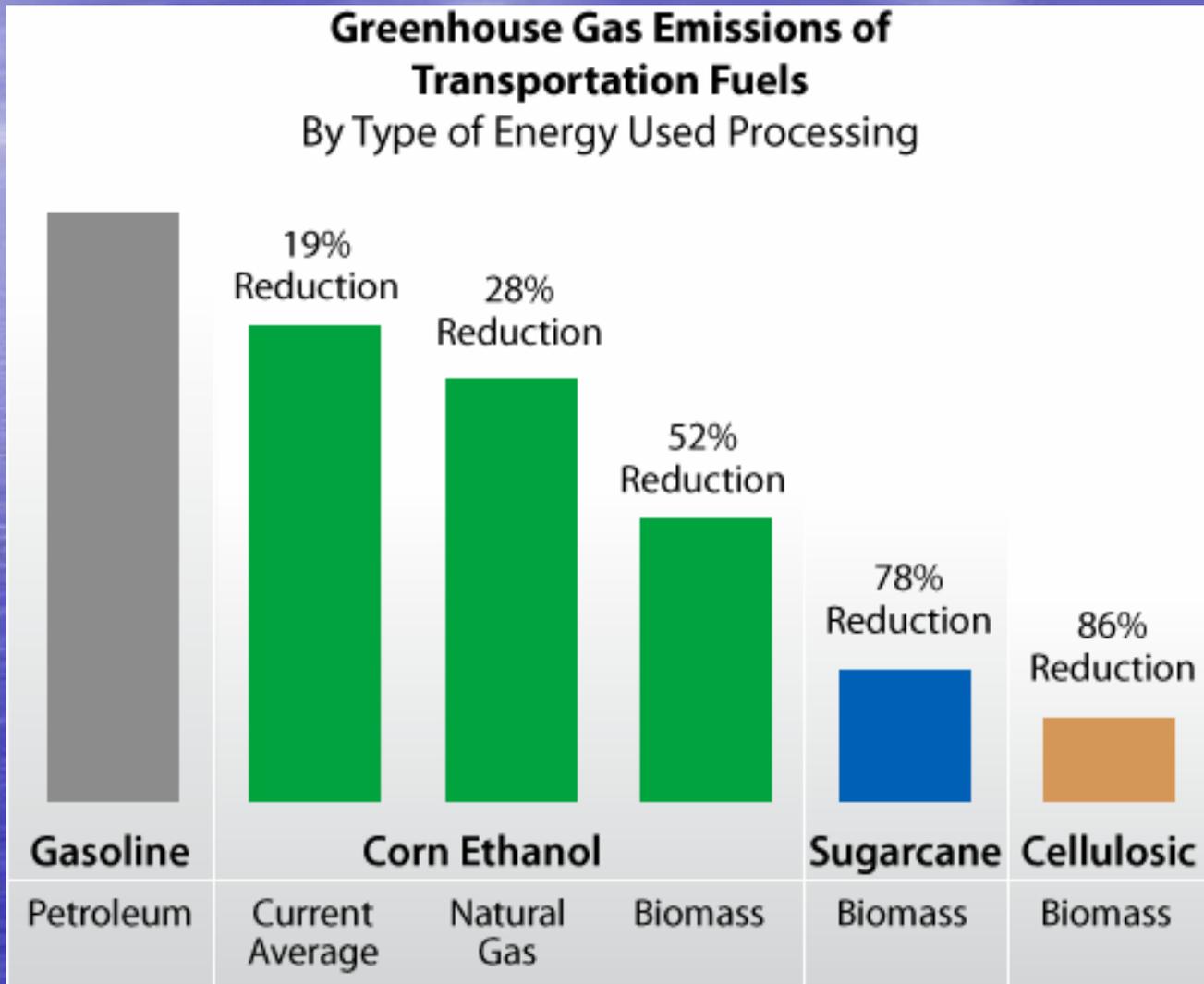
Proyecto CCF05 : Optimal treatment processes of lignocelluloses for bioethanol

Consortium OPTBIO



GOBIERNO DE CHILE

Reducción en las emisiones de gases de efecto invernadero



BIOMASA UTILIZADA EN LA PRODUCCION DE ETANOL



AZUCAR
Caña de Azúcar
Remolacha

Jarabe



ALMIDON
Maíz, Trigo, Papas

Molienda

Obtención
azúcares



LIGNOCELULOSA
Residuos Forestales, Agrícolas
Plantaciones

Pretratamiento

Hidrólisis Enzimática
de la Celulosa

Azúcares
fermentables

**Fermentar, Destilar,
Deshidratar**

ETANOL

Primera Generación

Segunda
Generación



AZUCAR
Caña de Azúcar
Remolacha

ALMIDON
Maíz, Trigo, Papas

LIGNOCELULOSA
Residuos Forestales, Agrícolas
Plantaciones

Jarabe

Molienda

Obtención
azúcares

Pretratamiento

Hidrólisis Enzimática
de la Celulosa

Azúcares
fermentables

**Fermentar, Destilar,
Deshidratar**

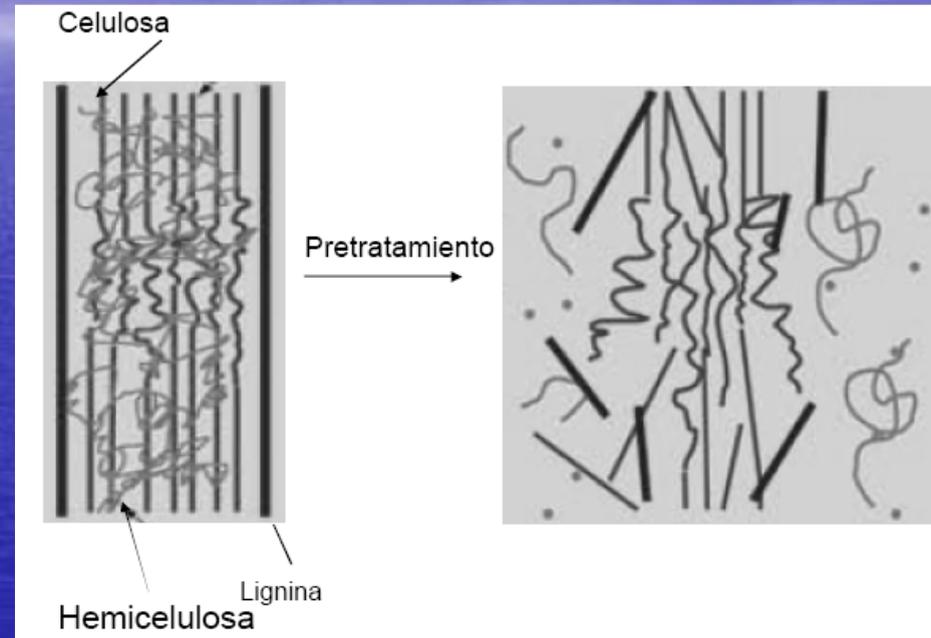
ETANOL

Primera Generación

Segunda
Generación

PRETRATAMIENTO.

- En general todo pretratamiento busca disgregar la compleja estructura y favorecer el rendimiento de la hidrólisis:
 - Disociar el complejo lignina-polisacáridos
 - Celulosa reduzca grado de cristalinidad
 - Aumento de la celulosa amorfa



✓ Sin un pretratamiento adecuado los rendimientos en azúcares reductores serían bajos.

PRETRATAMIENTO BIOLÓGICO.

- El material se somete a la acción de microorganismos degradadores de lignina y celulosa.
 - Hongos de pudrición blanca (HPB)
 - Hongos de pudrición marrón o café (HPC)

Ventajas:

- No requiere instalaciones complejas ni mayor gasto energético
- Proceso amigable con el medio ambiente.

PRETRATAMIENTO BIOLÓGICO.



HPB

HPC

Sustrato: Lenga

Preparación material

Madera de Lengua y rastrojos de trigo

- Reducción del tamaño a granulometría “pin-chip” mediante un molino de martillo, posterior tamizado.



A: maíz

B: paja trigo

C: Eucalipto

D: Lengua

POTENCIAL DE LOS BOSQUES DE LENGA DE MAGALLANES

- Superficie productiva: 600.000 ha
- Actualmente intervenida: 40.000 ha (2.000 ha/año)
- Volúmenes Existentes:
 - 600 m³/ha + 120 m³/ha Vol. madera muerta
 - 150 m³ a industria
 - 50 m³ se desechan
 - 10 m³ se aprovechan en madera
- Volumen anual de residuos generados bajo este régimen es de 1,2 MM m³.
- Si se aumenta a 5.000 ha la superficie intervenida anualmente. Se estima la producción de 3 MM m³

Se evitaría de ésta forma la pérdida por mortalidad de 3 millones de m³, lo cual equivaldría a 402.725 m³ etanol (para un contenido de celulosa de 40% y una densidad de madera de 0,4 ton/m³ y una tasa de conversión de 134,25 L por m³ de madera) y a un 14% del consumo de gasolina de 93 octanos por el sector transporte terrestre para el año 2006 (CNE).

Residuos y madera muerta en bosques de Lengua



POTENCIAL DE LOS RASTROJOS DE COSECHA DEL TRIGO

- Superficie anual cultivada: 300.000 ha
- Rendimiento promedio nacional: 48 quintales/ha = 4,8 ton MS/ha
- Volumen de rastrojo existentes:
 - Indice de cosecha = 45%
 - Volumen de rastrojo = 5,87 ton MS/ha
 - Estimativos = 1.760.000 ton/país

Si se usa sólo un 50% = 880.000 toneladas

Que equivaldrían a 295.353 m³ etanol y que representan el 10,4% del consumo de gasolina de 93 octanos para el año 2006 (CNE).



Residuos de cosecha y su actual uso



Objetivo

- Estudiar el efecto de la aplicación de un pretratamiento, basado en la bioaumentación de dos residuos lignocelulósicos de importancia y relativa abundancia en Chile con cepas de hongos de pudrición blanca como primer paso en la obtención de bioetanol de segunda generación.
- Determinar las disponibilidades reales y potenciales de azúcares reductores, posibles precursores de la síntesis de bioetanol.

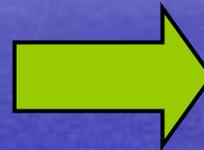
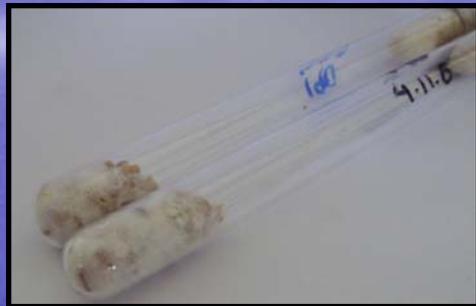
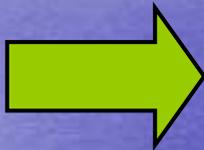
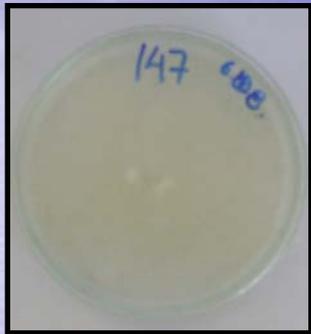
Preparación material.

Hongos.

- Cepas obtenidas desde la micoteca del Laboratorio de Biodeterioro y Preservación, Departamento de Ingeniería de la Madera.

<i>Cepa</i>	<i>Especie</i>
113	<i>Phanerochaete spp.</i>
162	<i>Lentinus spp.</i>
190	<i>Pleurotus spp.</i>
168	<i>Stereum spp.</i>
117	<i>Ganoderma spp.</i>

Método.



Autoclave



Cámara flujo laminar

Condiciones de la bioaumentación

- Uso de astillas finas de lenga y rastrojo de trigo
- Uso de distintas cepas de hongos de pudrición blanca
- Tiempo de incubación = 30 días
- Temperatura = 25°C
- Envío de muestras a Abo Akademi University

Procedimiento experimental

Muestras bioaumentadas y controles



Liofilización



Extracción en ASE

Re-liofilización de fracción
sólida remanente

Evaporación de alícuotas de extraíble
hasta sequedad en N₂ y adición de
"inner standard",

Metanólisis

Derivatización de
mezclas complejas

CG



Procedimiento de "escritorio"

- Obtención de cromatogramas
- Identificación de "inner standard"
- Identificación de "peaks" y etiquetado
- Obtención de áreas de especies identificadas
- Cálculo de concentraciones de especies presentes en mezclas complejas

Cromatograma de monómeros

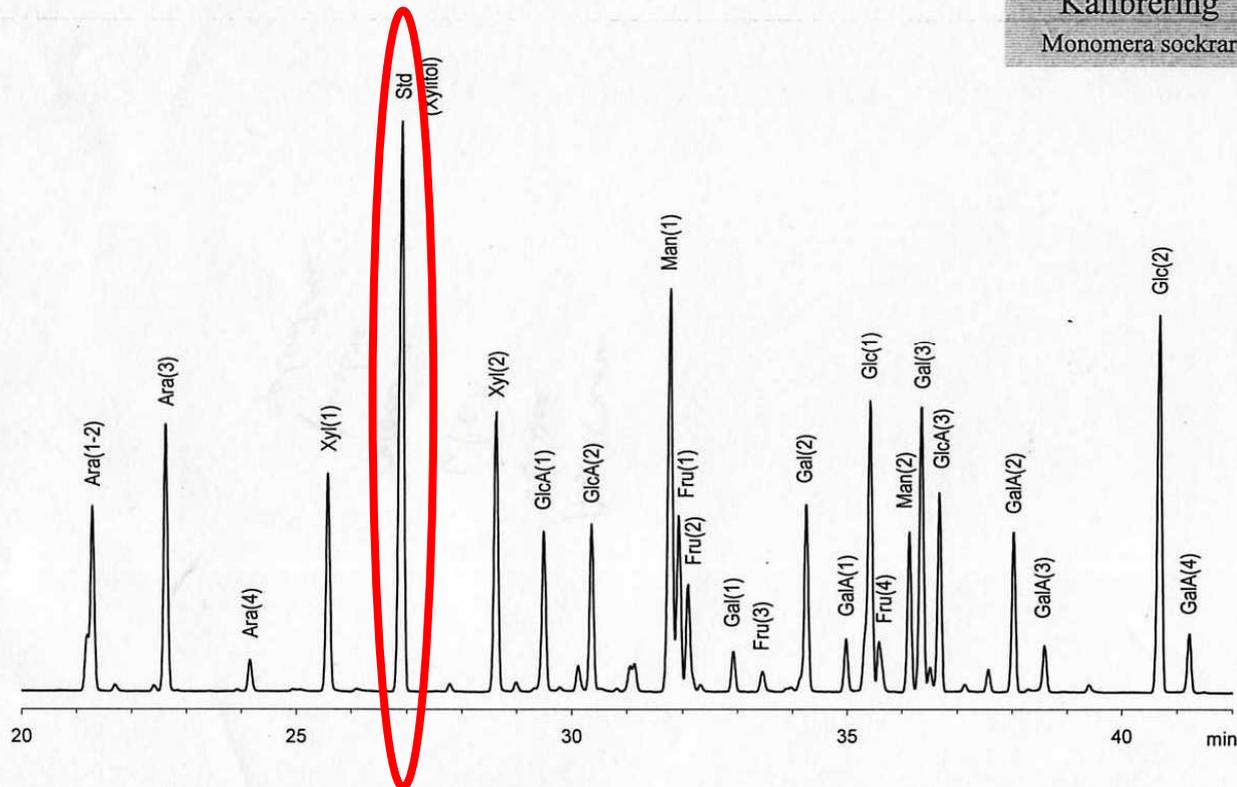
Kapillär GC: "Sockermomomerer"

TMS-derivat av fria sockrar

HP-1, 25 m x 0,20 mm; 100 °C, 8 min, 2 °C/min, 170 °C, 12 °C/min, 290 °C, 5 min

Kalibrering

Monomera sockrar



ÅBO AKADEMI, Lab. för skogsprodukternas kemi

Porthansgatan 3, FIN-20500 Åbo

Tfn (02) 215 31, fax (02) 215 4868

www.abo.fi/fak/ktf/spk/

Determinación de concentraciones particulares

$$C_X = C_{IS} * \text{área}_X / \text{área}_{IS} * 1/FD * 1/P_{\text{muestra}} * FH$$

Donde:

C_X = concentración de sustancia X (monómero)

C_{IS} = concentración de standard interno

área_X = sumatoria de las áreas de los isómeros de sustancia X

área_{IS} = área del peak correspondiente a standard interno

FD = factor de dilución

P_{muestra} = cantidad de muestra sometida a extracción o metanólisis

FH = factor de humedad

Cromatograma de monómeros

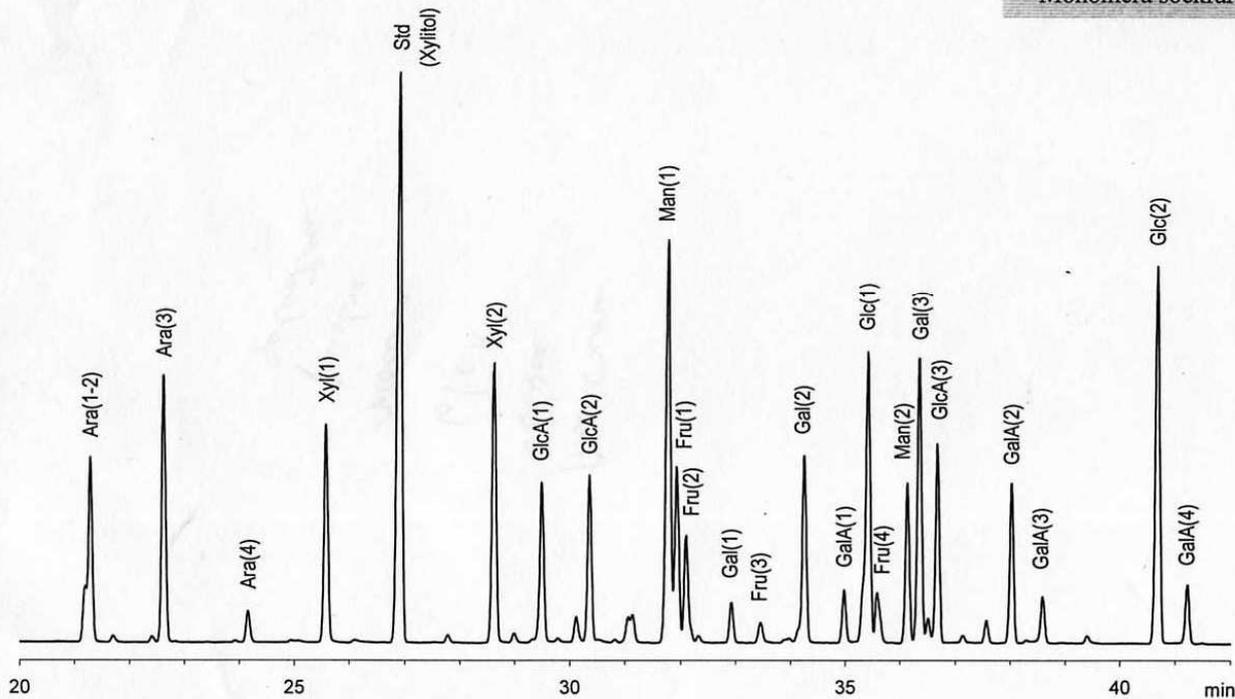
Kapillär GC: "Sockermonomerer"

TMS-derivat av fria sockrar

HP-1, 25 m x 0,20 mm; 100 °C, 8 min, 2 °C/min, 170 °C, 12 °C/min, 290 °C, 5 min

Kalibrering

Monomera sockrar



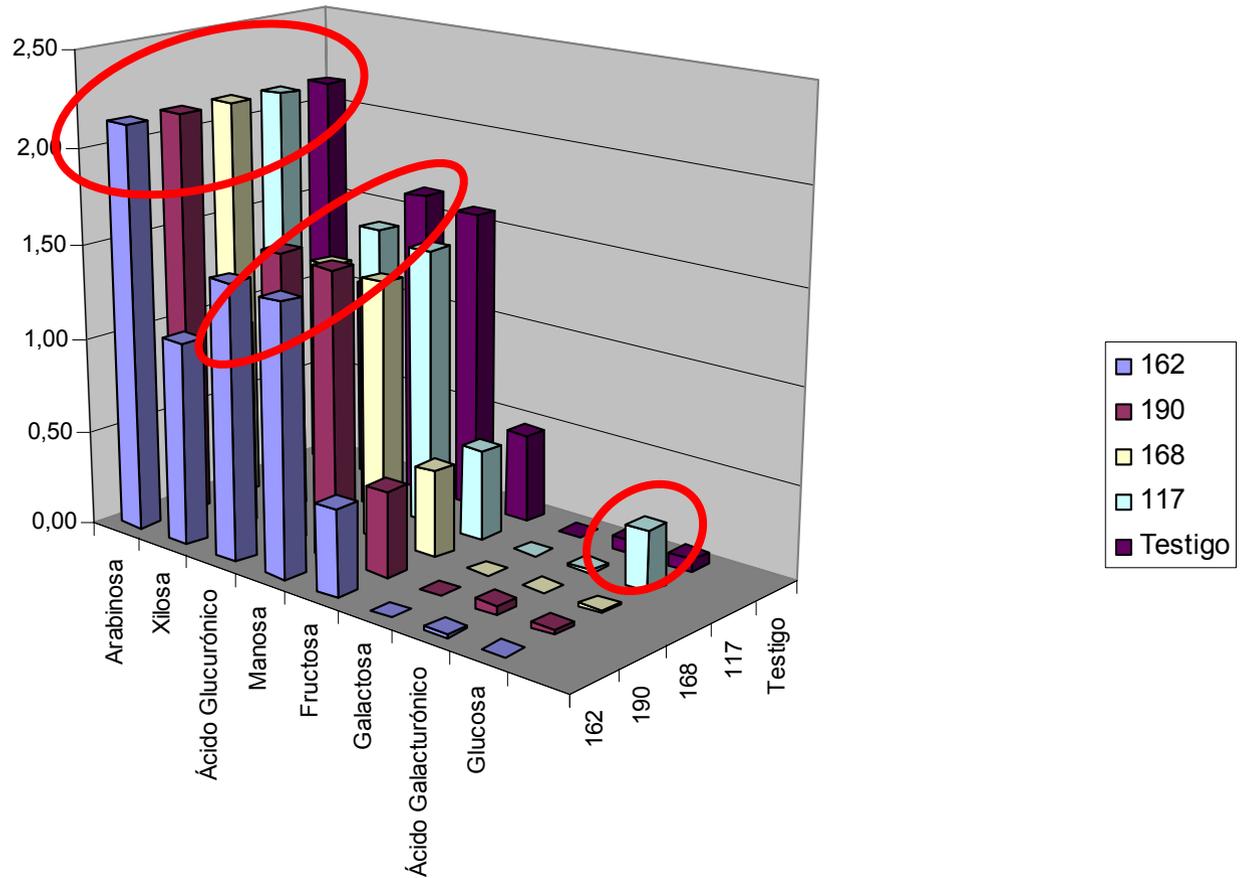
ÅBO AKADEMI, Lab. för skogsprodukternas kemi

Porthansgatan 3, FIN-20500 Åbo

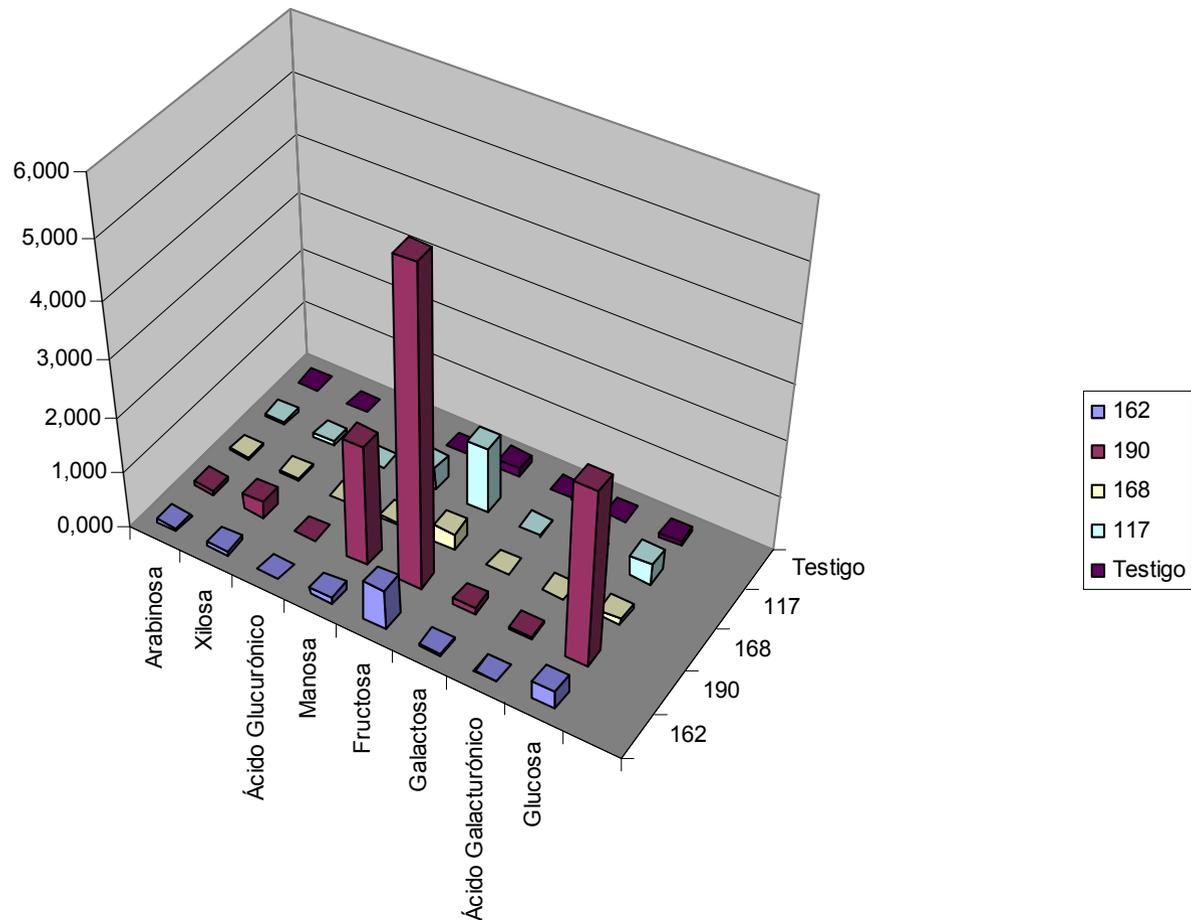
Tfn (02) 215 31, fax (02) 215 4868

www.abo.fi/fak/ktf/spk/

Perfil de monómeros en Extractos de Lengua (mg/g)



Perfil de monómeros en Extractos de paja de trigo (mg/g)

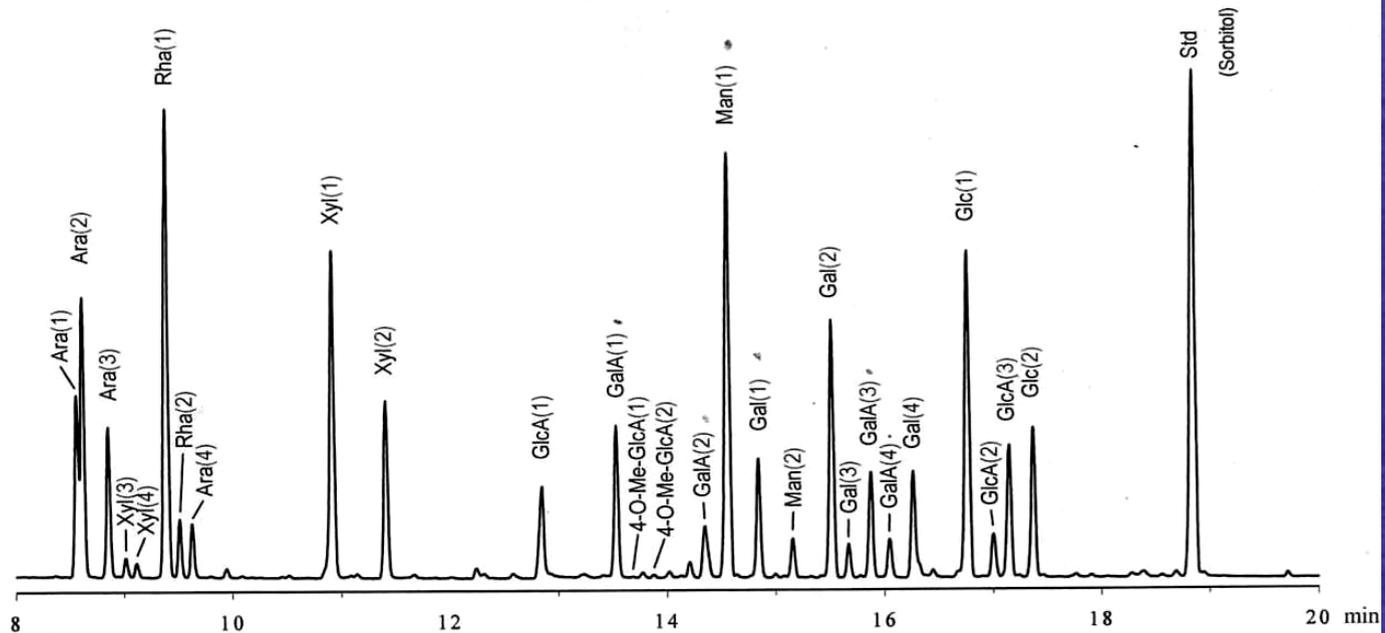


Cromatograma metanólisis

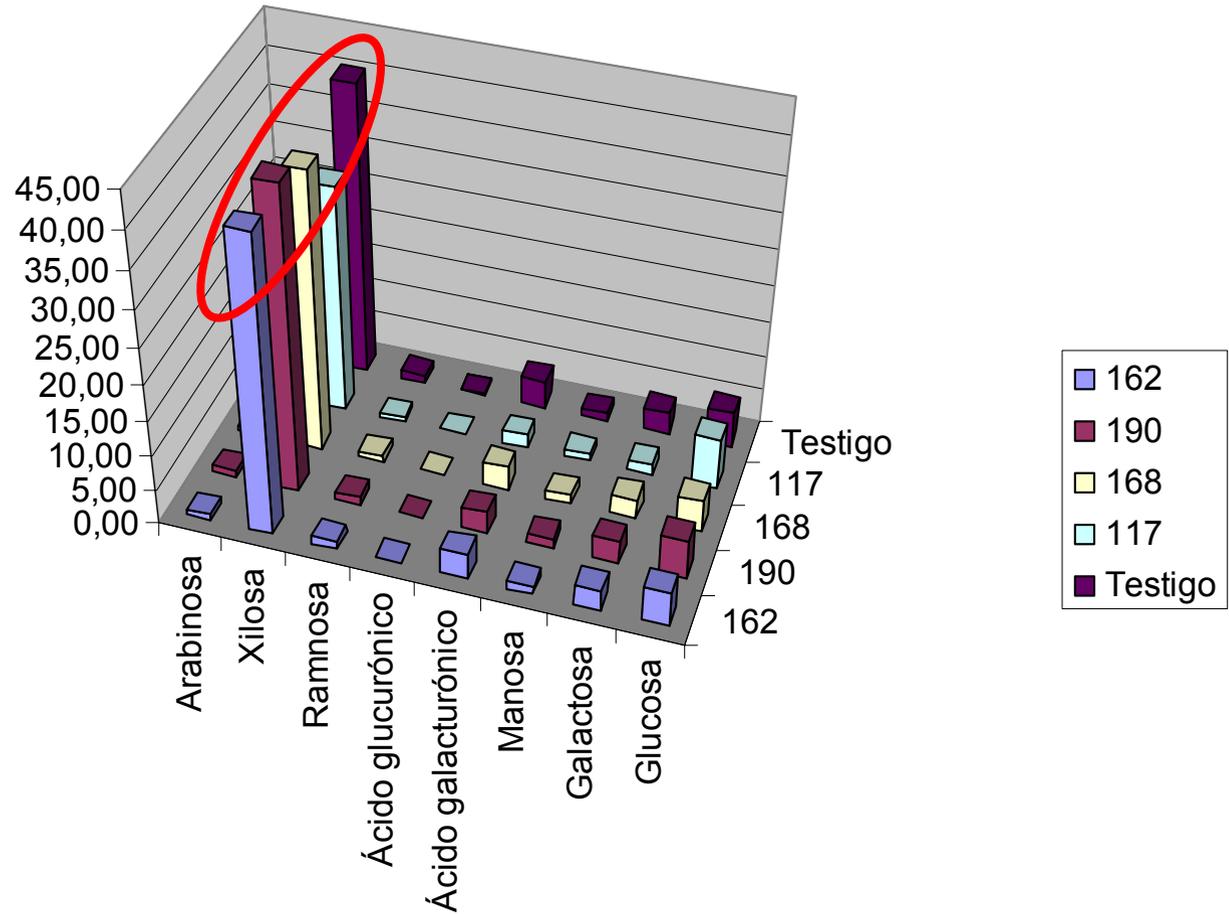
GC-2: "Kolhydrater"

TMS-derivat av metanoliserade sockrar

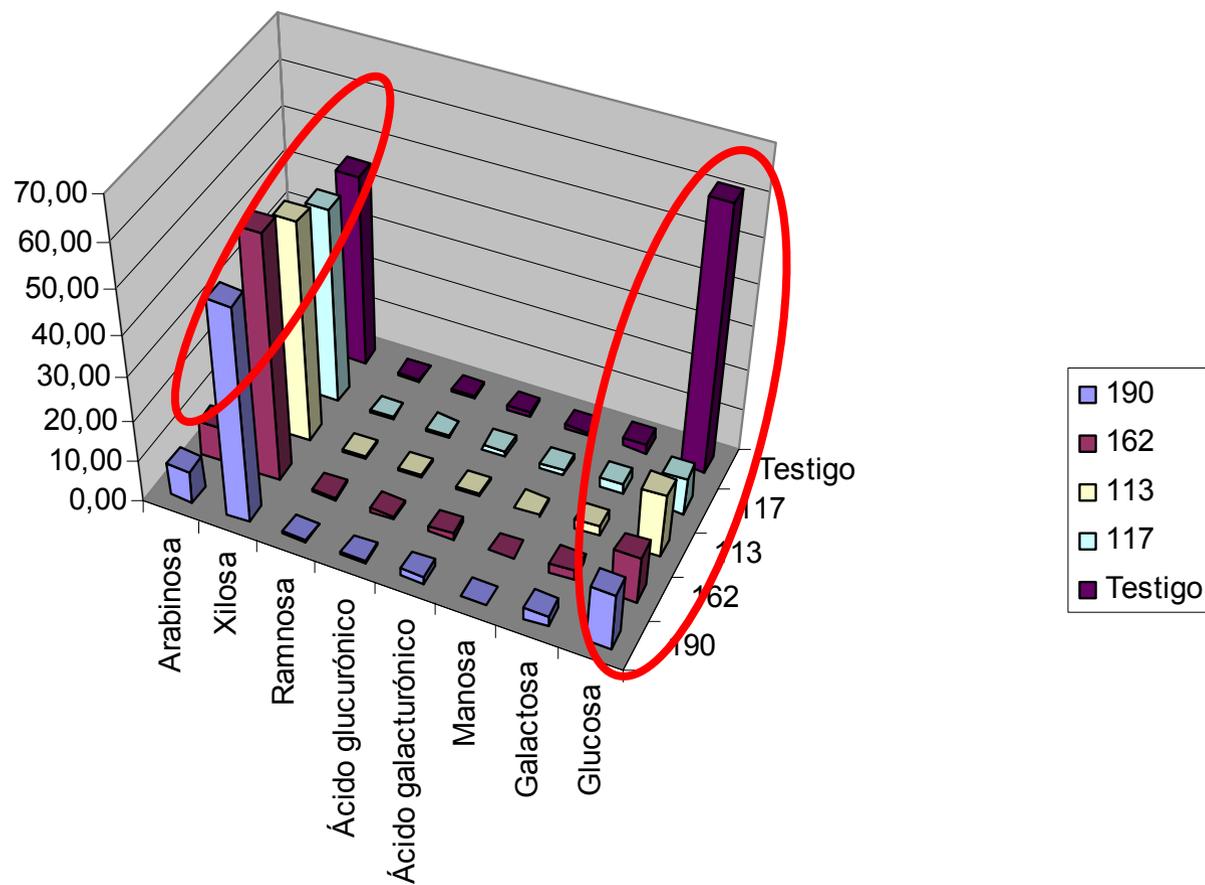
HP-1, 25 m x 0,20 mm; 100 °C, 4 °C/min, 175 °C, 12 °C/min, 290 °C, 5 min



Metanólisis de residuos de Lengua (mg/g)



Metanólisis de paja de trigo (mg/g)

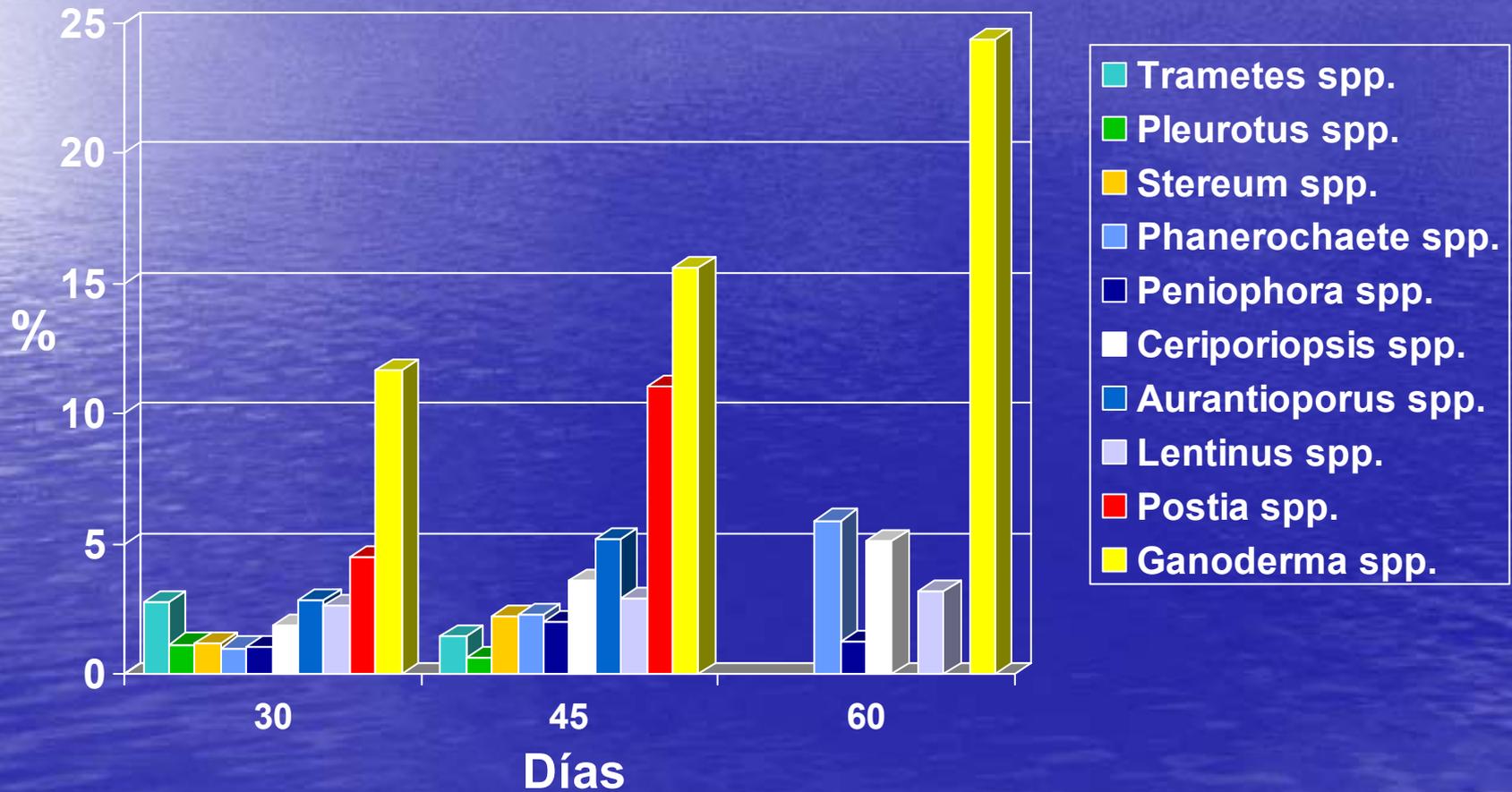


Conclusiones preliminares

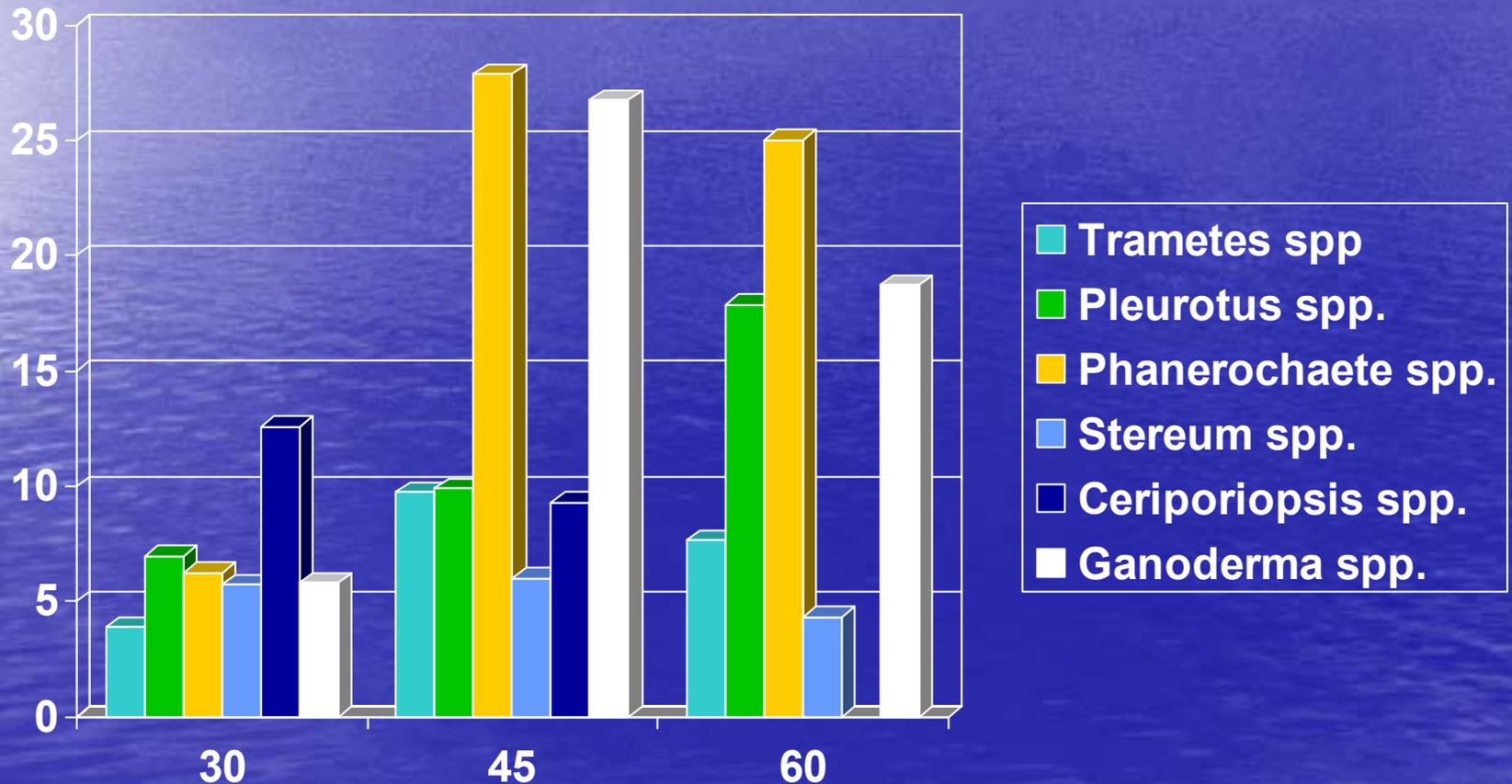
- La bioaumentación de residuos determina un cambio en el perfil de monómeros presentes en las muestras
- Ello sugiere su uso como estrategia de pretratamiento
- Existen diferencias en el modo de acción de los hongos según sustratos.
- En el caso de la lenga, al tiempo evaluado no existe un ataque significativo sobre la madera.
- Para la paja de trigo, se observan diferencias en el perfil de azúcares extraíbles y estructurales remanentes.
- El efecto de la bioaumentación es más marcado en el caso del trigo.

Pérdidas de peso promedio obtenidas para Lengua

Pérdida de peso promedio (%)



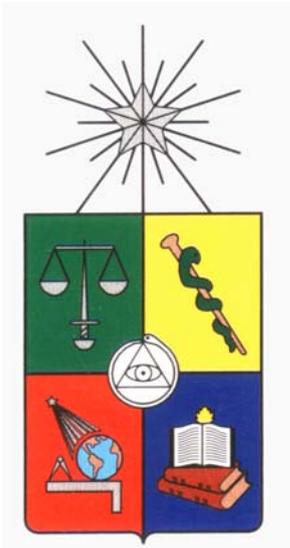
Pérdidas de peso promedio obtenidas para trigo.



Aplicaciones

1. Determinación de monómeros disponibles en la fracción extraíble de materiales lignocelulósicos sometidos a pretratamientos de cualquier origen, destinados a la obtención de bioetanol.
2. Determinación de sustancias disponibles potencialmente en fracciones remanentes de hemicelulosa, si las hubiere.
3. Permitiría inferir los patrones de ataque y consumo de azúcares e indirectamente definir tiempos de acción de los hongos de pudriciones blancas en bioaumentaciones orientadas a la producción de bioetanol.

Enfoque cromatográfico aplicado al pretratamiento de lignocelulosas para prospectar la producción de bioetanol



Dr. Alejandro García
M. Sc. Sari Hyvärinen
M. Sc. René Carmona
Dr. María Elena Lienqueo
Dr. Oriana Salazar



Proyecto CCF05 : Optimal treatment processes of lignocelluloses for bioethanol

Consortium OPTBIO



GOBIERNO DE CHILE

Definición

- Cromatografía: es un conjunto de técnicas basadas en el principio de retención selectiva y cuyo objetivo es separar los distintos componentes presentes en una mezcla. En algunos casos permite identificar éstos si es que no se conoce su composición mediante comparación de tiempos de retención con sustancias conocidas.
- Las técnicas cromatográficas son muy variadas, pero en todas ellas hay una fase móvil que consiste en un fluido (gas, líquido o fluido supercrítico) que arrastra a la muestra a través de una fase estacionaria que se trata de un sólido o un líquido fijado en un sólido.
- Los componentes de la mezcla interactúan en distinta forma con la fase estacionaria y con la fase móvil. De este modo, los componentes atraviesan la fase estacionaria a distintas velocidades y se van separando conforme avanzan. Después de haber pasado los componentes por la fase estacionaria y haberse separado pasan por un detector que genera una señal, cuya intensidad puede depender de la concentración y del tipo de compuesto.

Clasificación

Las distintas técnicas cromatográficas se pueden dividir según cómo esté dispuesta la fase estacionaria:

Cromatografía plana. La fase estacionaria se sitúa sobre una placa plana o sobre un papel. Las principales técnicas son:

- Cromatografía en papel
- Cromatografía en capa fina

Cromatografía en columna. La fase estacionaria se sitúa dentro de una columna. Según el fluido empleado como fase móvil se distinguen:

- Cromatografía de líquidos
- Cromatografía de gases
- Cromatografía de fluidos supercríticos

La cromatografía de gases es útil para gases propiamente tal o compuestos relativamente volátiles, lo que incluye a numerosos compuestos orgánicos. En el caso de compuestos no volátiles se recurre a procesos denominados de "derivatización", a fin de convertirlos en otros compuestos que se volatilicen en las condiciones de análisis.