



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES Y CONSERVACIÓN
DE LA NATURALEZA

ESCUELA DE CIENCIAS FORESTALES
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA DE LA MADERA



RENDIMIENTO DE AZÚCARES REDUCTORES A PARTIR DE *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser SOMETIDO A UN PRETRATAMIENTO BIOLÓGICO PARA LA PRODUCCIÓN DE ETANOL.

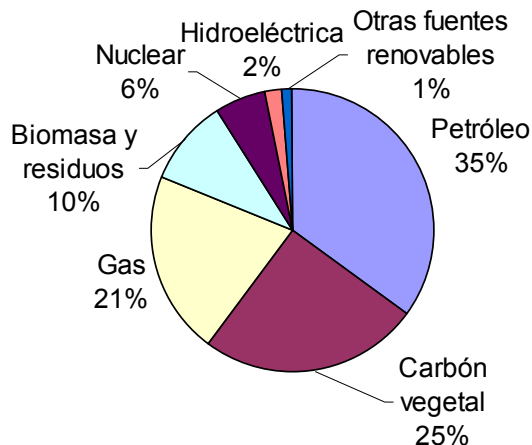
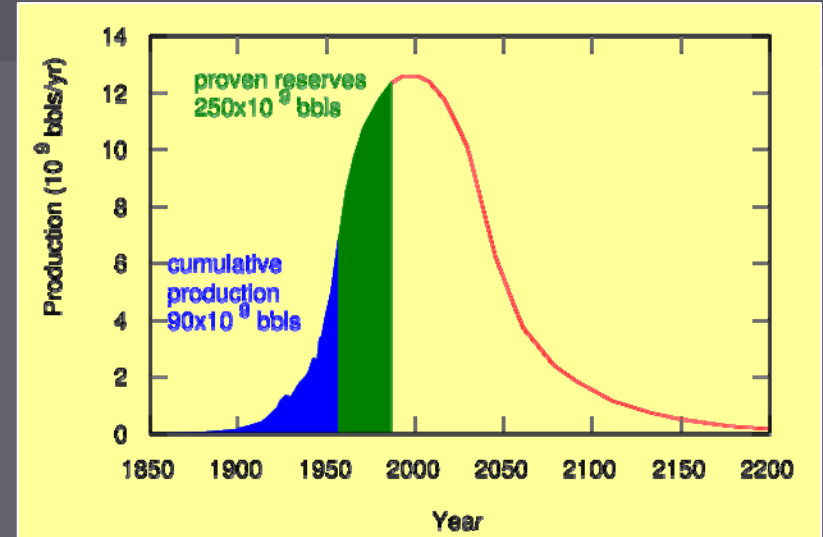
CONSUELO ZENAIDA FRITZ FUENTES

Profesores guías: M.Sc. René Carmona C.
Dra. María Elena Lienqueo C.

3 Diciembre, 2009.

Situación energética mundial.

- Petróleo: no es renovable.
- Problemas medioambientales.
- Crecimiento económico.



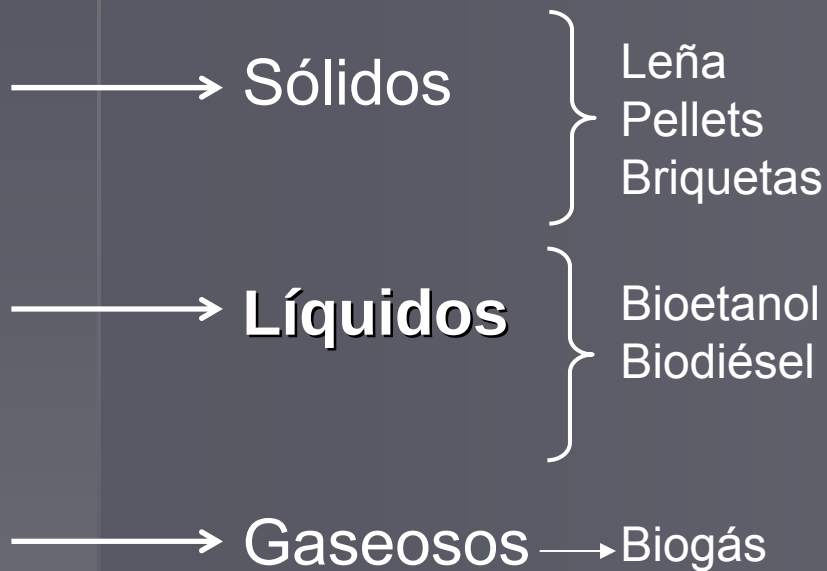
Energías renovables no convencionales (ERNC)



Biomasa

Situación energética mundial.

Biocombustibles:



Ciclo de vida, emisiones neutras

Biocombustibles en Chile.

- Un 75% combustibles líquidos, un 98% a partir de petróleo importado (ODEPA, 2007).
- Diversificación matriz energética.
- Mayor independencia y autonomía.
- Promover ERNC: 2% y 5% de bioetanol o biodiésel mezclado con gasolina.
- Proyecto Domeyko-Energía
- Proyecto Finlandia CCF05

Recurso forestal chileno.



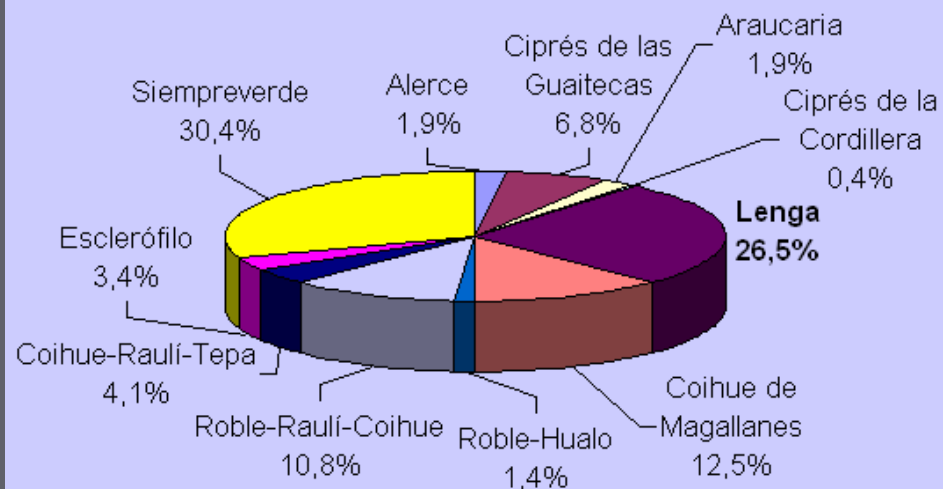
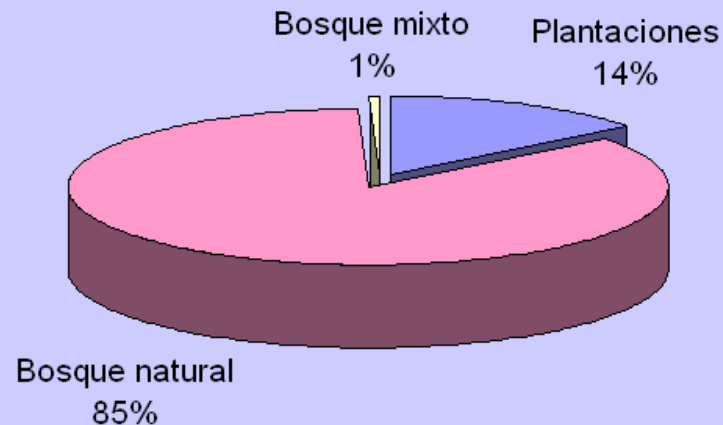
Lenga.

Bosques manejados silviculturalmente: cortas de protección (Schmidt *et al.*, 2003)

Bajos aprovechamiento industriales (Schmidt *et al.*, 1992)

Madera aserrada, cepillada, muebles, productos encolados y leña.

Residuos (biomasa) → Biocombustibles (bioetanol 2^a generación)

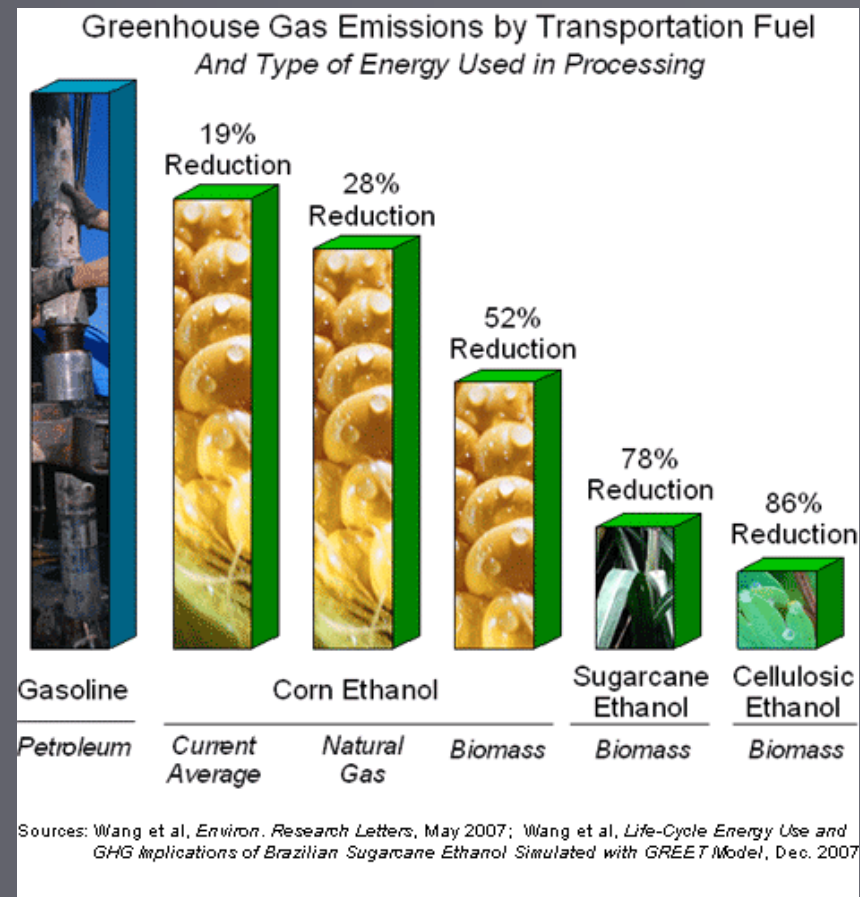


Fuente: INFOR, 2007.

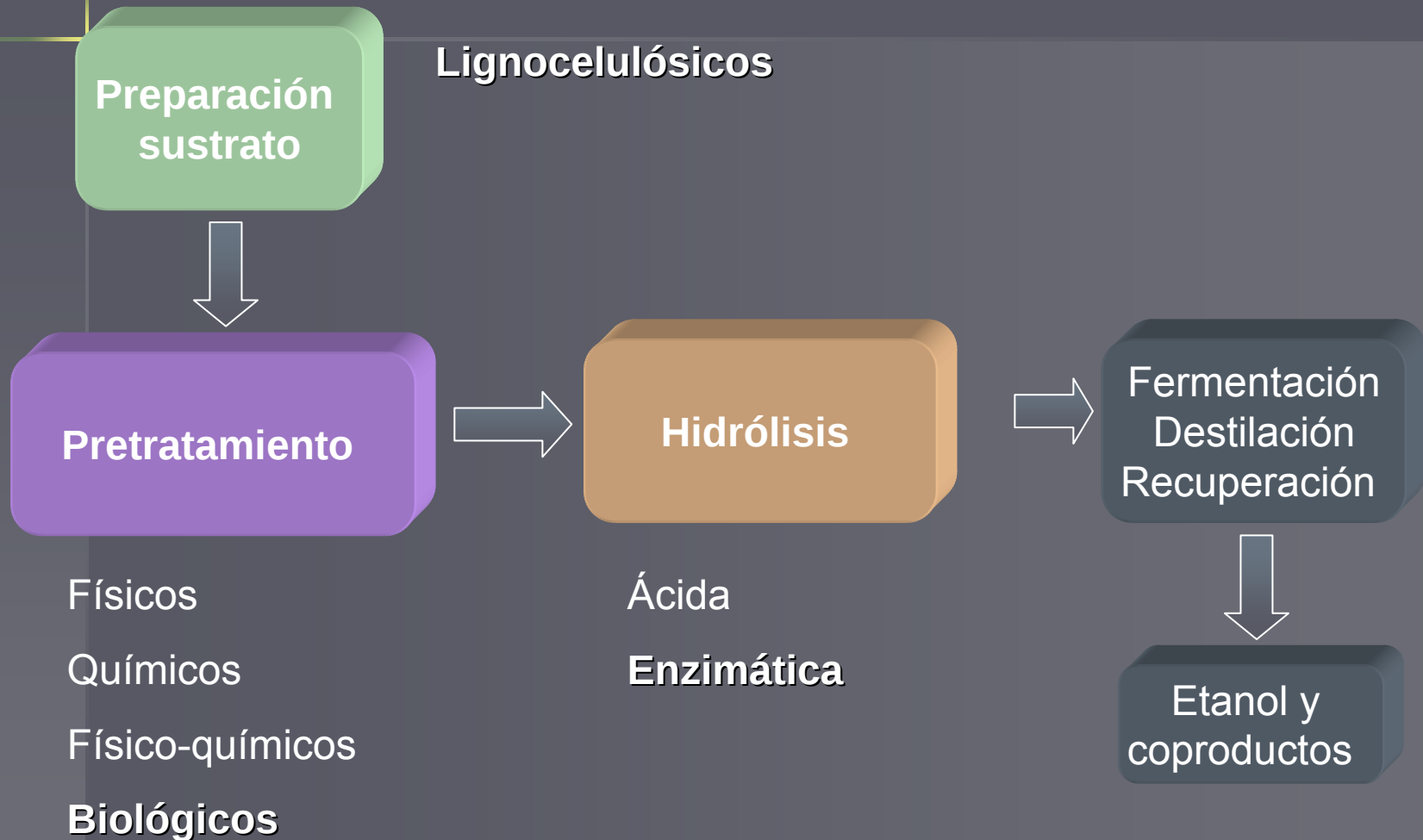
Bioetanol.

- Fermentación de azúcares presentes en la materia prima.
- 3 usos:
 - Aditivo gasolinas
 - Directo como combustibles
 - Mezclado en diferentes proporciones.

Reducción emisiones gases efecto invernadero



Bioetanol 2^a generación.



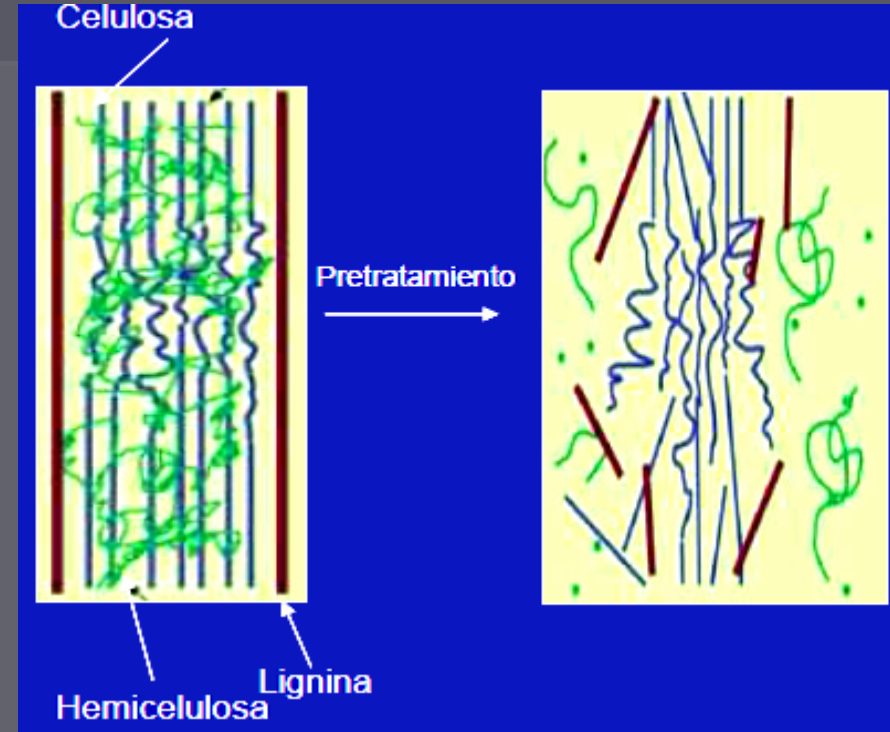
Pretratamiento biológico.

Disociar el complejo lignina-polisacáridos

Celulosa reduzca grado de cristalinidad

Aumento de la celulosa amorfa

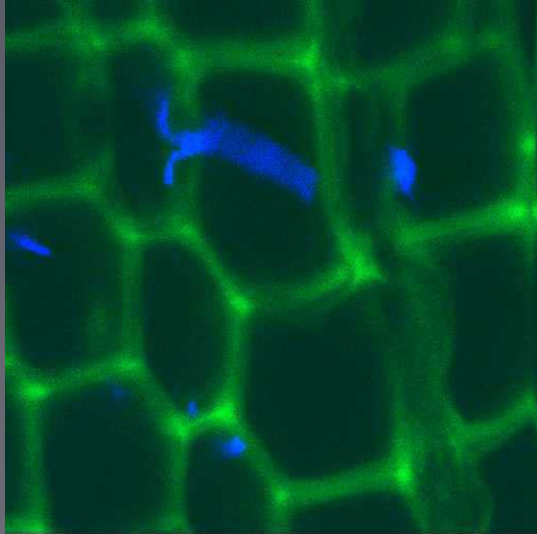
- Ventajas**
- No se requieren instalaciones ni equipos costosos
 - Bajo requerimiento energético
 - Condiciones ambientales positivas



Hongos pudrición blanca (HPB).

Capaces de degradar todos los componentes de la pared celular.

Preferencia por la lignina.



Hifas atravesando células



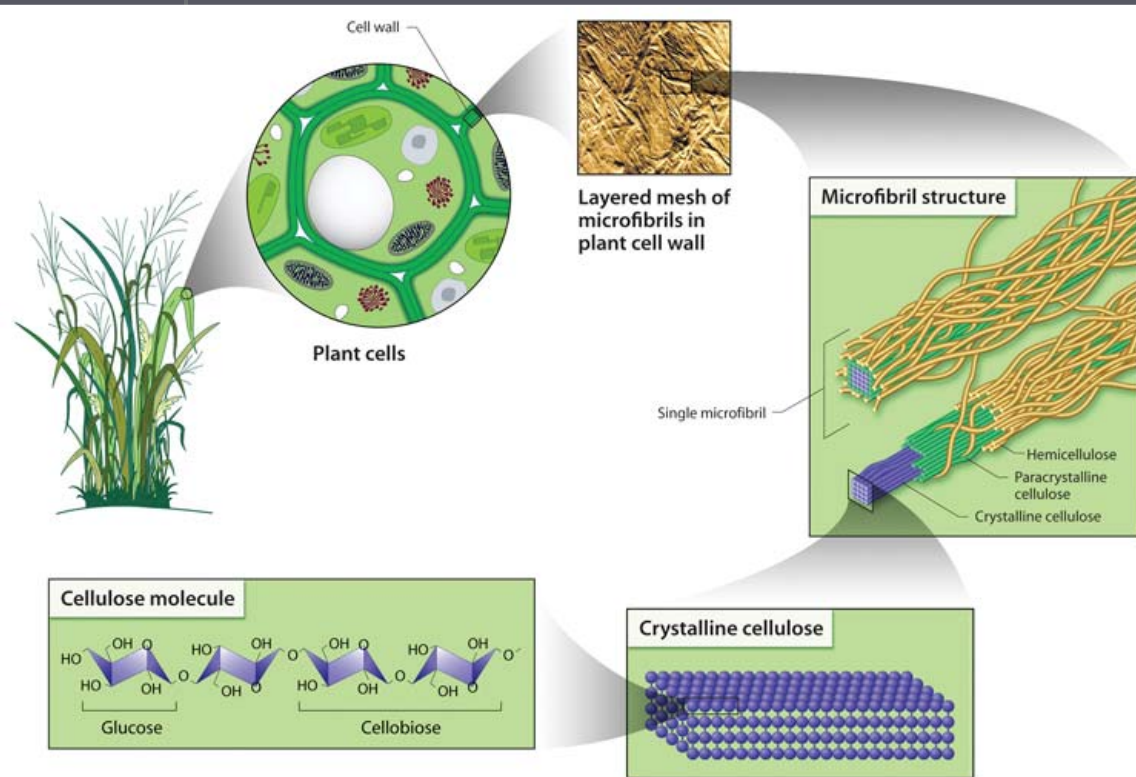
Pudrición alveolar.

2 patrones morfológicos de degradación:

Degradación simultánea.

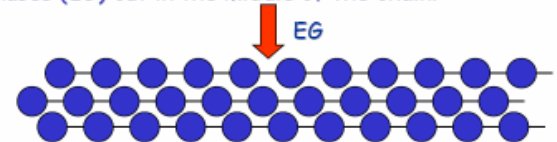
Degradación selectiva.

Hidrólisis enzimática celulosa.

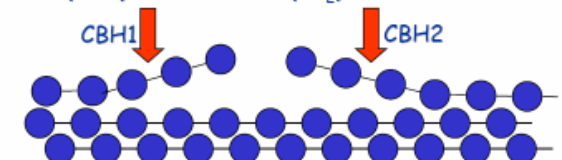


T. reesei Cellulase Components

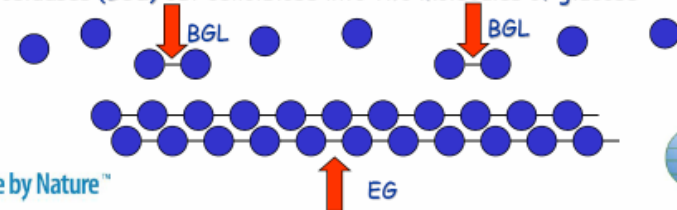
Endoglucanases (EG) cut in the middle of the chain.



Cellobiohydrolases (CBH) cut cellobiose (DP₂) from either end



β-glucosidases (BGL) cut cellobiose into two molecules of glucose



Objetivo general.

- Evaluar el rendimiento de azúcares reductores obtenidos a partir de residuos de *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser previamente tratado con hongos de pudrición blanca, para la producción de bioetanol.

Objetivos específicos.

- Analizar el rendimiento de azúcares reductores luego de una sacarificación enzimática, a partir de *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser tratado con tres hongos de pudrición blanca y sometido a tres tiempos de ataque, 30, 45 y 60 días.
- Estimar la cantidad de alcohol producido con aquel tratamiento que presente el mejor rendimiento de azúcares reductores.

Materiales.

Madera:

Residuos aserradero de lenga (especie latifoliada), con granulometría adecuada mediante molino de martillo.

Hongos HPB:

Stereum hirsutum, *Ganoderma applanatum* y *Aurantioporus albidus*.

Materiales.

Celulasas

Endo- β -glucanasas
Exo- β –glucanasas
 β - glucosidasa

} Complejo enzimático, sinergismo

Celluclast® 1,5L (C2730), celulasas de *Trichoderma reesei* (ATCC 26921)

Novozyme® 188 (C6105), celobiasa obtenida de *Aspergillus niger*

Reactivos

Ácido dinitrosalicílico (DNS)

Kit de glucosa

MÉTODO



Preparación sustrato.



Astillas lenga.



Molino de martillo



Residuos lenga granulometría
aprox 1 mm, 1-3 mm, 5 mm.

Preparación hongos.



Reproducción en medio de cultivo agar-malta.

Esterilización (15 psi, 20 min)

Inoculación

Incubación

Semillas trigo, 3% p/p

Esterilización (15 psi, 20 min)

Inoculación

Incubación

MÉTODO



Pretratamiento biológico.



3 hongos.

3 tiempos estudio:
30, 45 y 60 días.

CH = 75%

Temperatura: 25 °C.



Determinación pérdida de peso:

$$P/P = (P_i - P_f) / P_i \times 100$$

Análisis estadístico bifactorial, $\alpha = 1\%$

MÉTODO



Hidrólisis enzimática.

Enzima-sustrato: 10% p/v.

Carga enzimática: 25 FPIU/g seco.

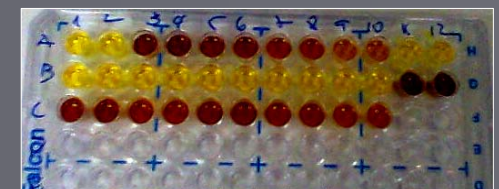
1 g seco residuos lenga, celulasas y
buffer acetato 0,05 M pH 5.

Agitador orbital durante 48 hr a 50 °C
y 250 rpm.

**Medición azúcares reductores mediante
método DNS.**

Medición glucosa a través de kit comercial.

Análisis estadístico bifactorial, $\alpha = 1\%$



MÉTODO



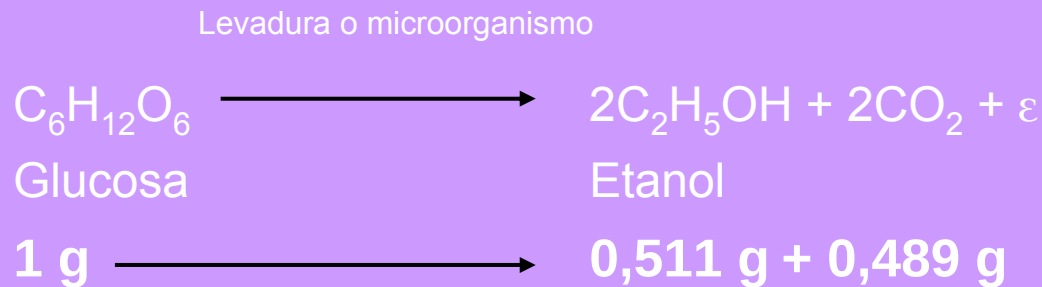
Estimaciones.

Disponibilidad residuos lenga.

↳ Recopilación estudios en Chile.

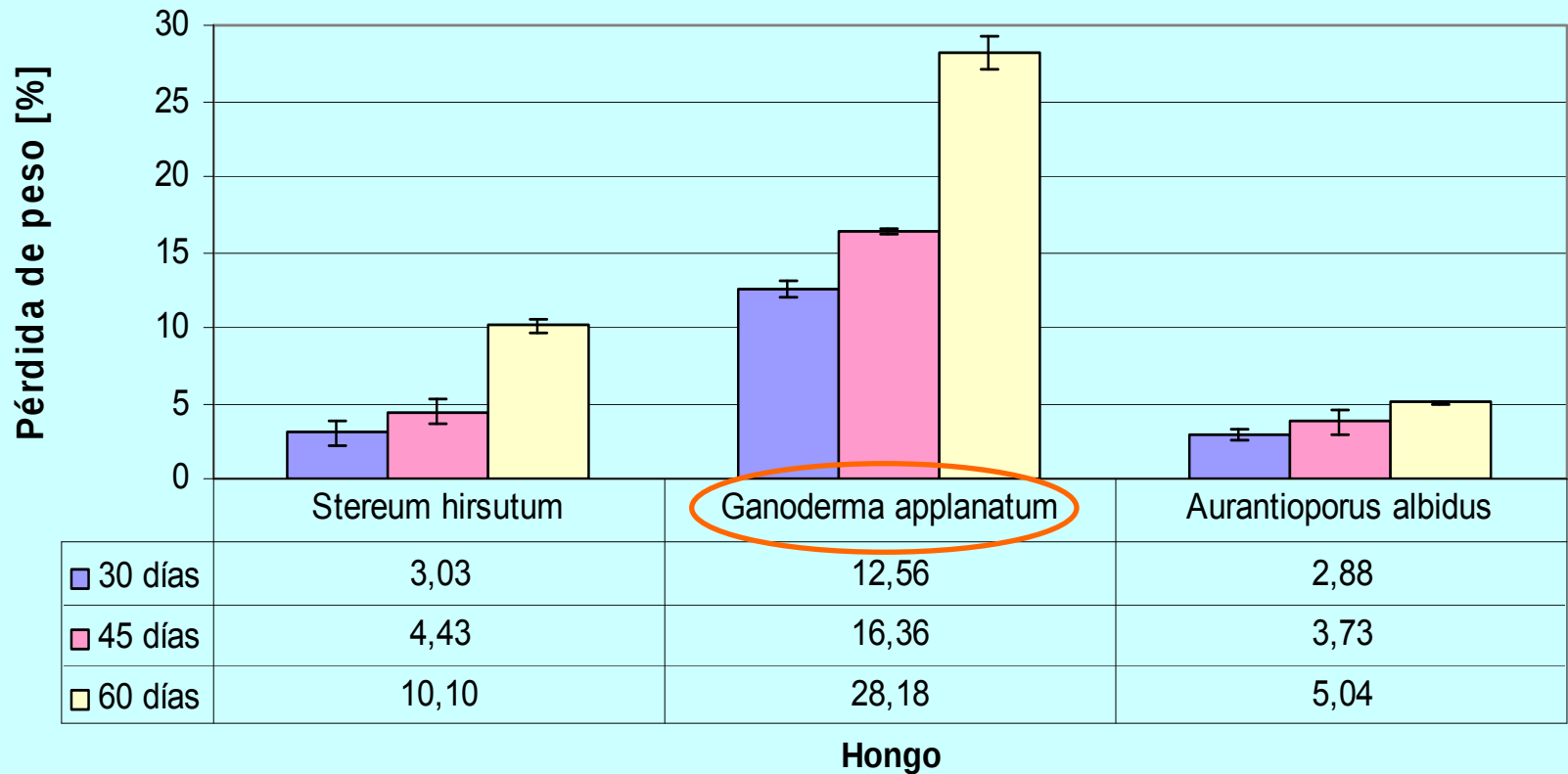
Obtención teórica bioetanol.

↳ Rendimiento teórico:



Resultados

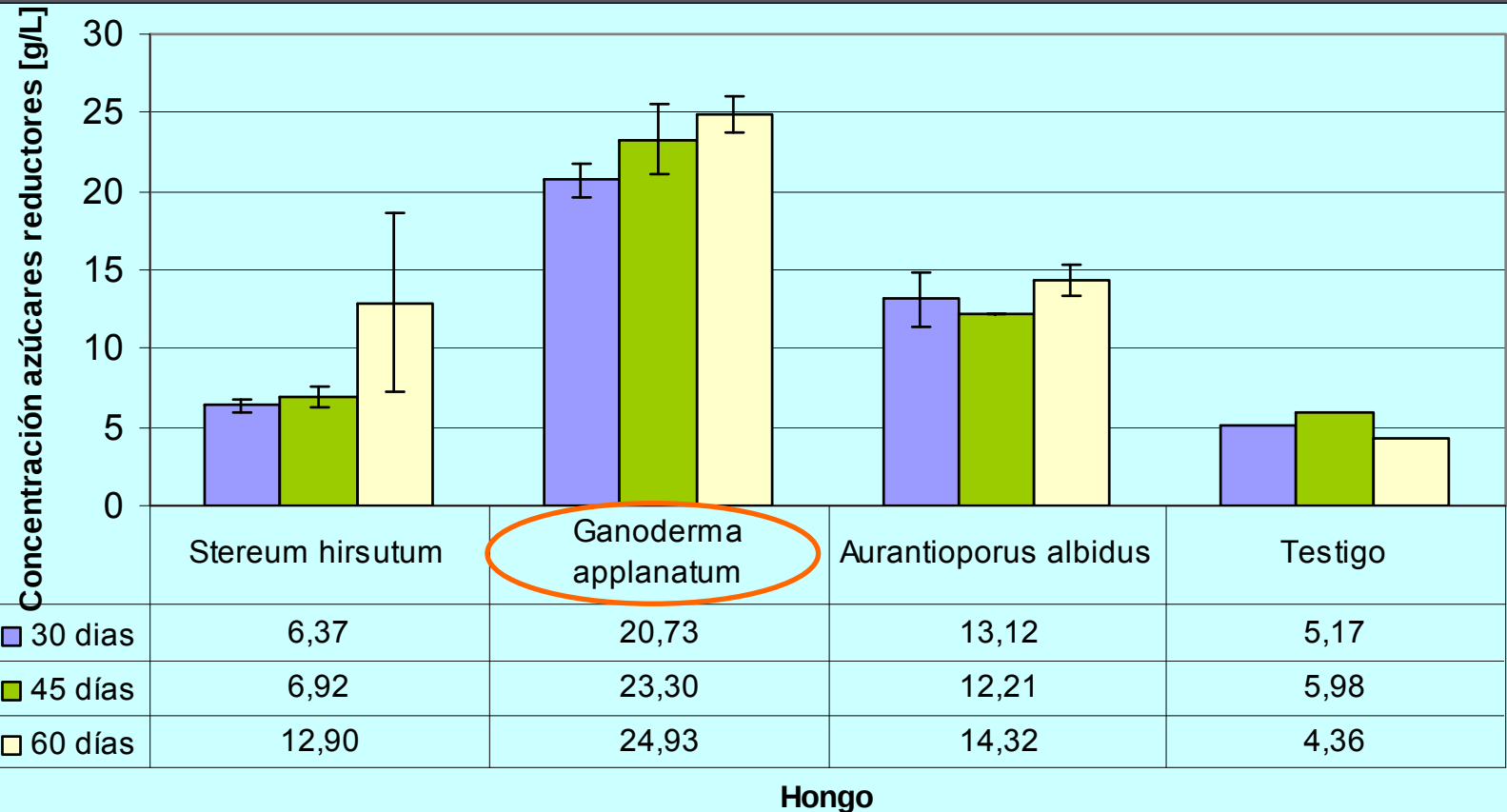
Pérdida de peso (%).



Valores corresponde a un promedio de 3 repeticiones

Influencia del hongo y tiempo.

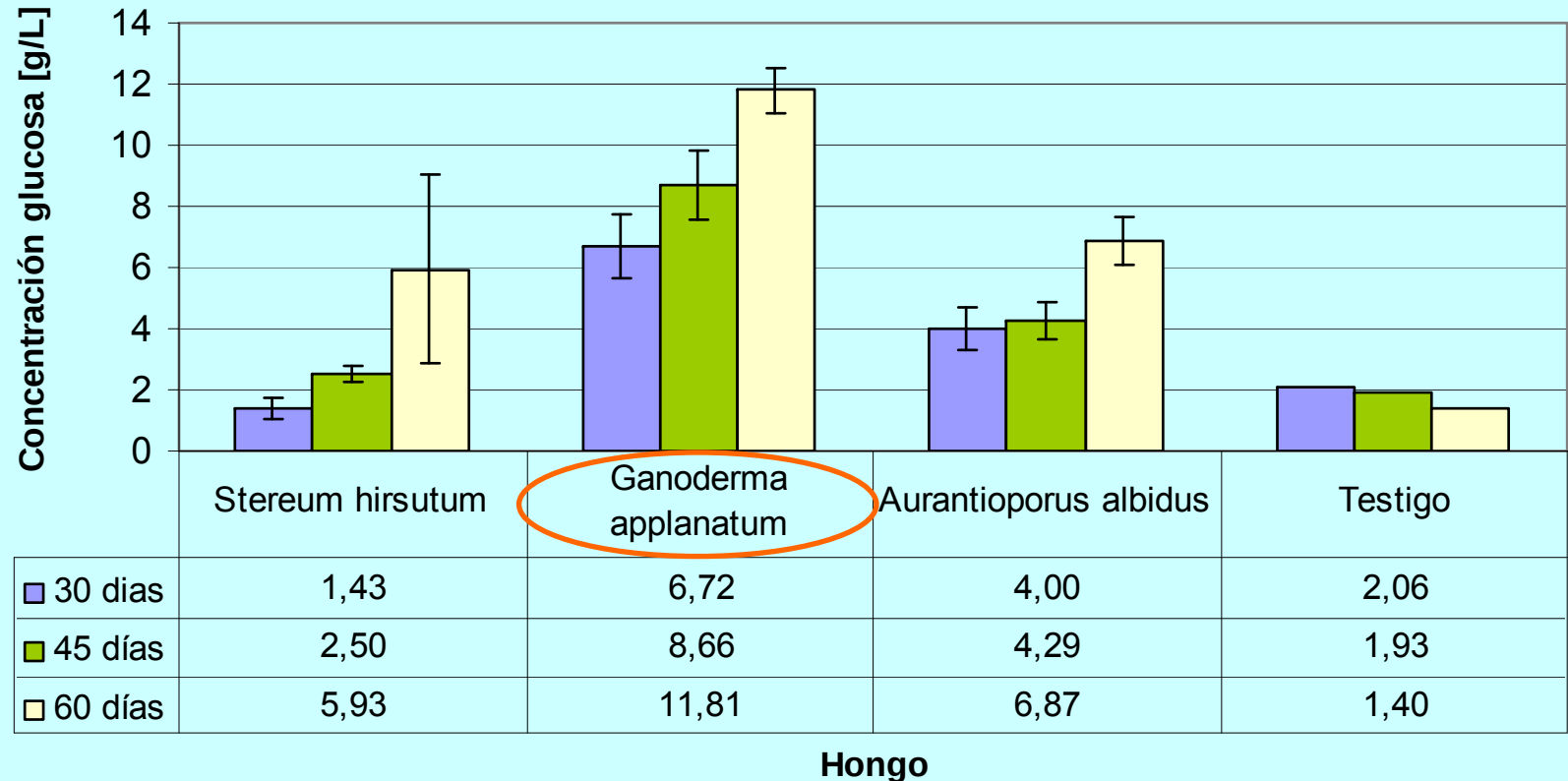
Azúcares reductores.



Valores corresponde a un promedio de 3 repeticiones

Influencia del hongo

Glucosa.

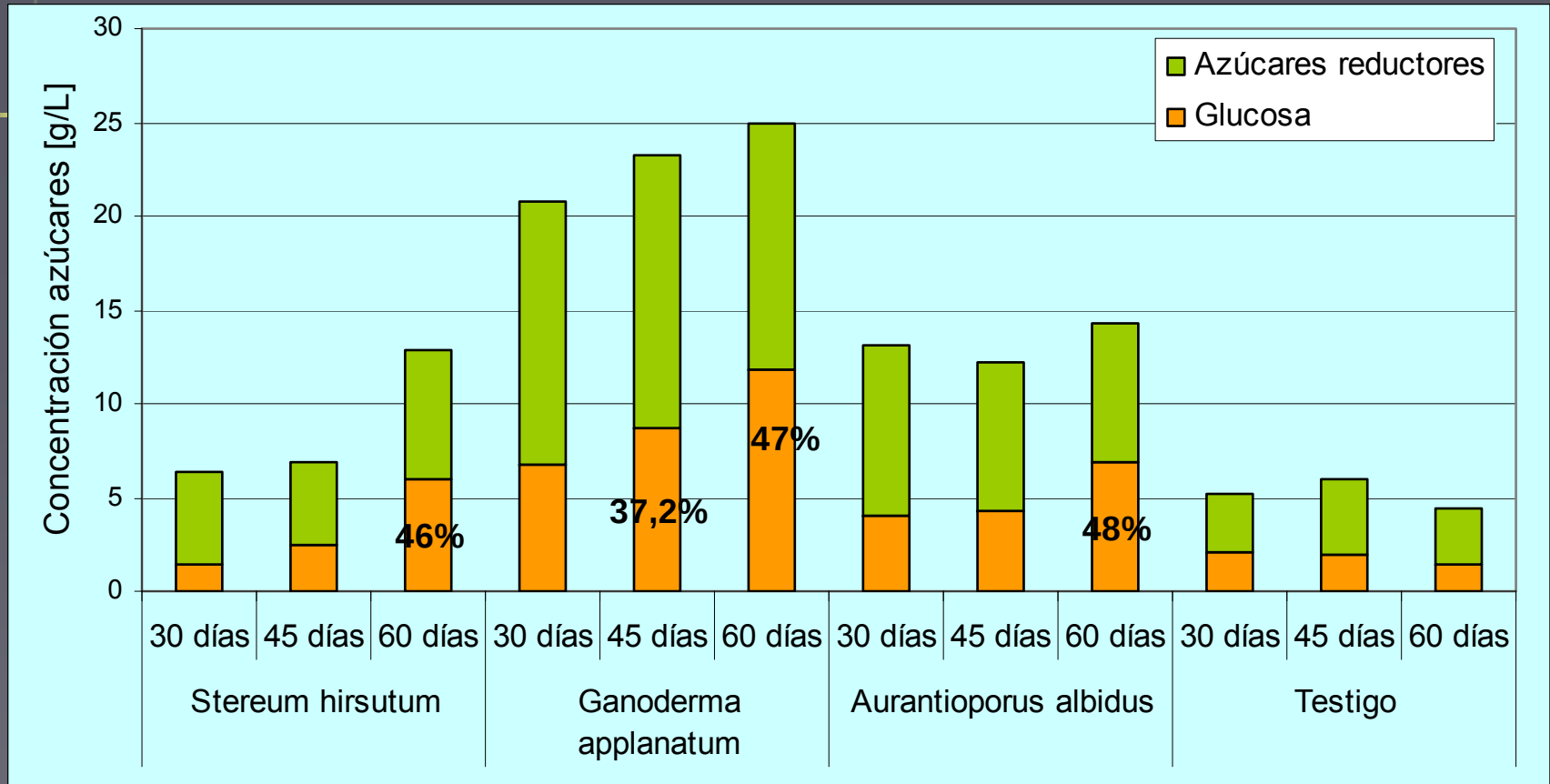


Valores corresponde a un promedio de 3 repeticiones

***Ganoderma applanatum*: > pérdida de peso, > azúcares reductores y > glucosa**

Degradación selectiva

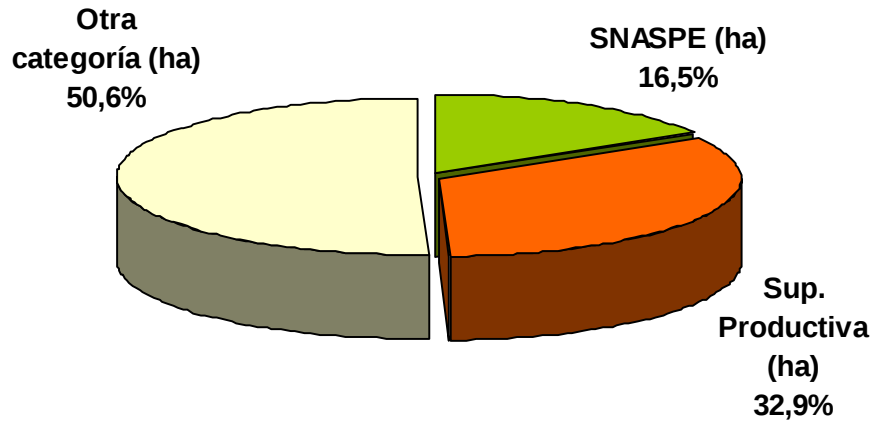
Participación glucosa en el total de azúcares.



Mas del 50% de los azúcares no están siendo cuantificados

Xilosa es el segundo más abundante.

Estimación residuos potenciales de lenga.



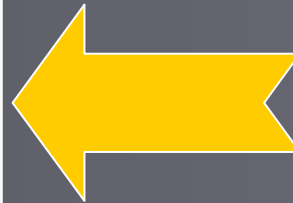
Fuente: elaborado a partir de INFOR (2008), Schmidt (2008).



Disponibilidad total = 6.075.006 m³/año

Si sólo un 30% es aserrable, entonces:

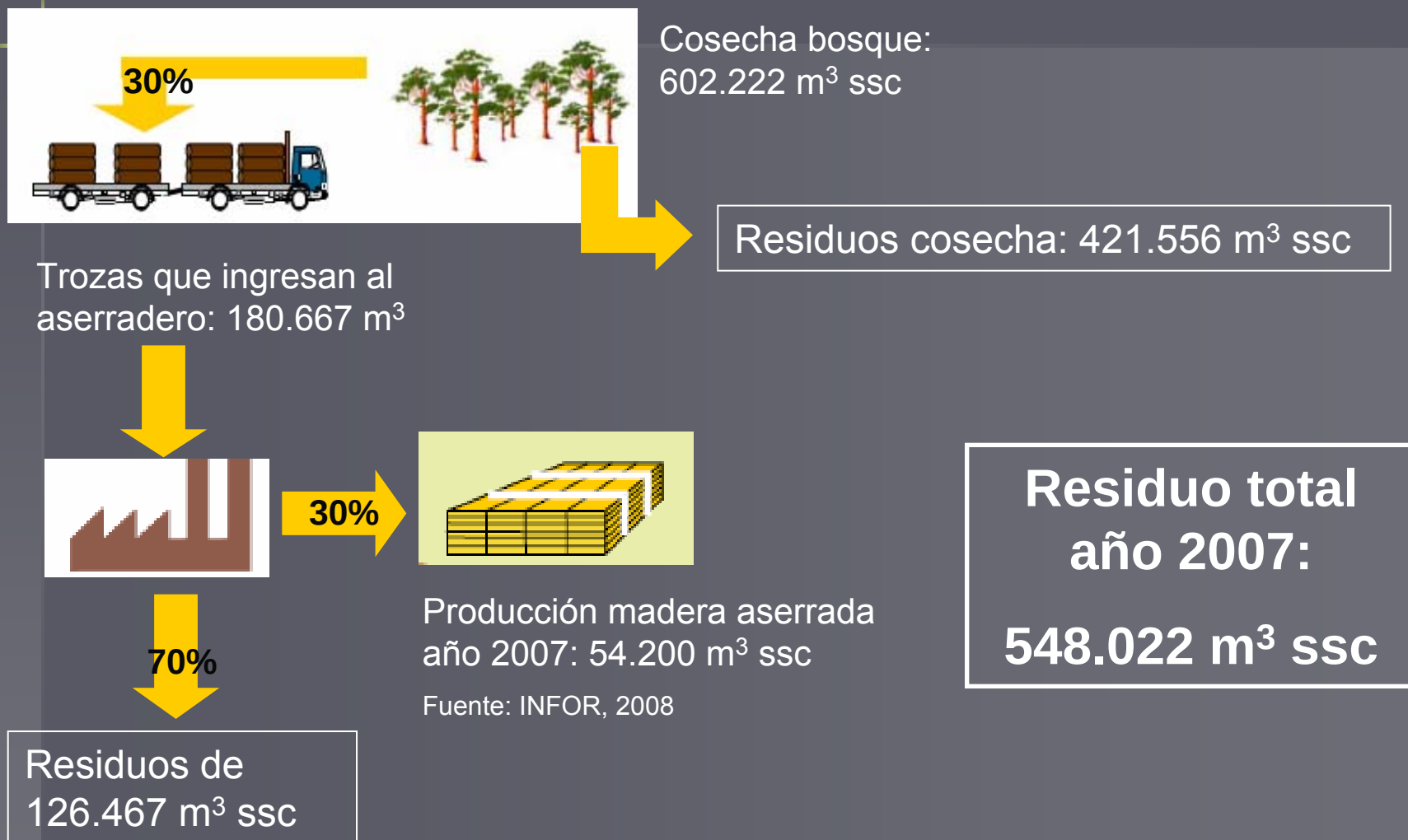
Residuo potencial = 4.252.504 m³/año



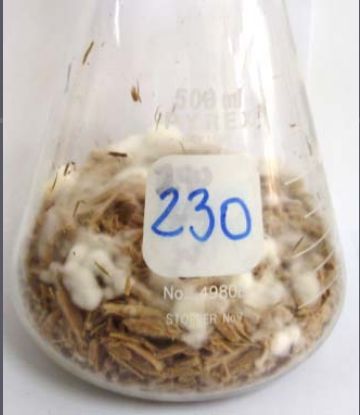
Productividad bosques:
5,14 m³/ha/año

Superficie productiva:
1.181.908 ha (32,9%)

Estimación residuos industria primaria de lenga año 2007.



Estimación teórica bioetanol.



- Con *Ganoderma applanatum* (60 días):
120 g glucosa/kg residuos secos.
- Etanol teórico = 78 L/ton.



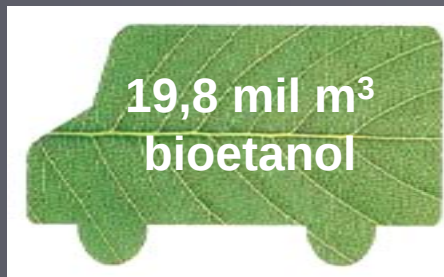
Sup. Potencial



Equivalentes al 100% de sustitución máxima de la gasolina en Chile (5%).



Mad. aserrada



33% de la gasolina mínima que debe ser sustituida en Chile (2%).

CONCLUSIONES

- El **pretratamiento fúngico mejora** la obtención de azúcares reductores y de glucosa a partir de residuos de lenga, en comparación con las muestras sin pretratar.
- La **mayor cantidad de azúcares reductores y de glucosa** se obtiene al pretratar los residuos de lenga con el hongo ***Ganoderma applanatum*** durante **60 días**, obteniéndose un rendimiento en glucosa del **12 %**.

CONCLUSIONES

- La **cepa fúngica** utilizada **influye** estadísticamente en la pérdida de peso, concentración de azúcares reductores y concentración de glucosa.
- Los **tiempos** estudiados **influyen** estadísticamente en la pérdida de peso y en la concentración de glucosa.
- La pérdida de peso se correlaciona positivamente con la concentración de azúcares reductores y glucosa.

CONCLUSIONES

- De acuerdo a las variables y condiciones utilizadas en este estudio, la estimación de la producción de bioetanol a partir de residuos de lenga, indica que podrían obtenerse casi **78 litros de etanol puro por cada tonelada de material seco pretratado con *Ganoderma applanatum*.**
- Al considerar como residuos disponibles para la producción de bioetanol de segunda generación los residuos generados durante los procesos productivos de lenga del año 2007, sería posible producir **19,8 millones de litros de etanol de segunda generación,** equivalentes a un 33% de la gasolina reemplazable en Chile (2%).

MUCHAS GRACIAS ...