



EVALUACIÓN DE LA SACARIFICACIÓN EN BIOMASA PRETRATADA CON LÍQUIDOS IÓNICOS EN FUNCIÓN DE LA CARGA ENZIMÁTICA

Juan Carlos López Rico¹, Alondra Margarita Sanabria Carrillo¹, Yessenia Nacahuelt Medina López², José Antonio Pérez Pimienta¹. Departamento de Ingeniería Química¹, Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas y Farmacéuticas², Universidad Autónoma de Nayarit. Tepic, Nayarit, 63155, México. Email: c_3_17@hotmail.com.
Palabras clave: Pretratamiento, sacarificación, líquido iónico, biomasa.

La conversión de la lignocelulosa a etanol implica la liberación de azúcar pretratando a la biomasa modificando su estructura. La biomasa está compuesta por tres partes principalmente: la celulosa, hemicelulosa y lignina. La función de la lignina es proteger a las dos primeras de ataques microbianos y enzimáticos, razón por la que se dificulta el acceso al azúcar que contienen estas. Existen varios pretratamientos y procesos de sacarificación con diferentes mezclas de cocteles enzimáticos como los desarrollados por Novozymes o Genencor. El objetivo de este trabajo es analizar algunas dos cocteles multienzimáticos desarrollados por Novozymes (Celluclast 1.5L-Novozyme 188 y CTec2-HTec2), variando su carga para sacarificar bagazo de agave pretratado con líquidos iónicos.

Metodología.

El bagazo de Agave *tequilana* Weber variedad azul (BAG), fue donado por Destilería Rubio, (Tequila, Jalisco, México). Se lavó con abundante agua destilada, para después secarse y tamizarse.

Pretratamiento con líquidos iónicos (LI)

Se realizó empleando una carga de sólidos del 10% (p/p) con BAG y el LI [Emim]OAc a 120 °C y 3h. La biomasa pretratada se recuperó por filtración y se lavó con agua destilada para remover el exceso de LI que podría inhibir a las enzimas en la hidrólisis subsecuente. Todos los experimentos se realizaron en triplicado.

Sacarificación enzimática

Se utilizó solución amortiguadora citrato 50 mM (pH 4.8) a 55 °C, 150 rpm durante 72h para llevar a cabo la sacarificación enzimática por lotes empleando las mezclas multienzimáticas Celluclast 1.5L-Novozyme 188 y CTec2 y HTec, utilizando al BAG pretratado y BAG sin tratar (control). Todos los experimentos se realizaron en triplicado.

Se evaluaron cuatro cargas enzimáticas en términos de unidades de filtro de papel (FPU) para Celluclast 1.5L y CTec2 y como β-glucosidasa (CBU) para Novozyme 188 y HTec2, como se describe a continuación:

- 10 FPU/g celulosa y 30 CBU/g celulosa.
- 30 FPU/g celulosa y 60 CBU/g celulosa.
- 60 FPU/g celulosa y 90 CBU/g celulosa.
- 90 FPU/g celulosa y 120 CBU/g celulosa.

Caracterización química

Se analizó el contenido de celulosa, hemicelulosa, lignina y cenizas de las muestras sin tratar y pretratadas de acuerdo al procedimiento analítico del Laboratorio Nacional de Energía Renovable (NREL) de los Estados Unidos. Se determinaron azúcares reductores por el ensayo DNS, además de glucosa y xilosa por HPLC.

Resultados esperados. Se obtendrán los porcentajes de conversión de la porción de celulosa y hemicelulosa en glucosa y xilosa, respectivamente, calculándose como se describe a continuación:

Conversión de celulosa (%)

$$= \frac{\text{Conc glucosa (g/mL)} \times \text{vol reacción (mL)}}{\text{biomasa (g)} \times \% \text{ peso de celulosa en biomasa}}$$

$$\times \frac{162 \text{ (PM unidad celulosa)}}{180 \text{ (PM unidad de glucosa)}} \times 100$$

Conversión de hemicelulosa (%)

$$= \frac{\text{Conc xilosa (g/mL)} \times \text{vol reacción (mL)}}{\text{biomasa (g)} \times \% \text{ peso de hemicelulosa en biomasa}}$$

$$\times \frac{132 \text{ (PM unidad hemicelulosa)}}{150 \text{ (PM unidad de xilosa)}} \times 100$$

basados en la diferencia del peso molecular entre la celulosa y hemicelulosa del bagazo de agave, respectivamente.

Agradecimiento. Se agradecen los apoyos brindados por la Universidad Autónoma de Nayarit.

Bibliografía.

- Iñiguez-Covarrubias, G. Lange, S.E. and Rowell, R.M. (2001). Utilization of byproducts from the tequila industry: part 1: agave bagasse as a raw material for animal feeding and fiberboard production, *Bioresource Technology*, 77, 25- 32.
- Li, C., Cheng, G., Balan, V., Kent, M.S., Ong, M., Chundawat, S.P., Sousa, L.D., Melnichenko, Y.B., Dale, B.E., Simmons, B.A., Singh, S., 2011. Influence of physic-chemical changes on enzymatic digestibility of ionic liquid and AFEX pretreated corn stover. *Bioresource Technology* 102:6928-6936.
- Verde, M., García, A., Álvarez G., Mesa, M. 2012. Obtención de etanol a partir de biomasa lignocelulósica. *Redalyc*. Vol. 46: 7-16.
- Pérez-Pimienta, J.A., López-Ortega, M.G., Varanasi, P., Stavila, V., Cheng, G., Singh, S., Simmons, B.A., 2013. Comparison of the impact of ionic liquid pretreatment on recalcitrance of agave bagasse and switchgrass. *Bioresource Technology* 127:18-24.