



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE INGENIERÍA

TESIS DE MAESTRÍA EN INGENIERÍA QUÍMICA

BIOBUTANOL PRODUCTION FROM
EUCALYPTUS CELLULOSE FRACTION BY
HYDROLYSIS AND FERMENTATION WITHIN
A BIOREFINERY APPROACH

Autor:

Florencia Cebreiros

Tutores:

Dra. Claudia Lareo

MSc. Mario Daniel Ferrari

Montevideo, Uruguay

Abril, 2018

Resumen

En los últimos años, el interés en el uso de materiales lignocelulósicos ha ido incrementado y, en algunos países, la producción de biocombustibles avanzados y productos químicos de este tipo de materiales ya es una realidad. El butanol ha demostrado presentar propiedades superiores como combustible a las del etanol, además de tener varias aplicaciones en distintos sectores de la industria química. Su producción a partir de biomasa lignocelulósica renovable mediante el proceso de fermentación ha sido investigada en las últimas décadas. La madera de eucalipto representa una materia prima atractiva para la producción de biobutanol debido a su alto contenido de carbohidratos, así como también su disponibilidad y suministro sostenible. Sin embargo, para lograr alcanzar una eficiente utilización de la misma y desarrollar procesos económicos, robustos y confiables para una biorefinería, se requiere el desarrollo de tecnologías de pretratamiento necesarias para lograr fraccionar la biomasa en sus componentes principales.

En el presente trabajo, se evaluó el potencial de la madera de eucalipto para la producción de biobutanol mediante hidrólisis y fermentación de su fracción celulósica utilizando un concepto de biorrefinería. Se evaluaron los pretratamientos de autohidrólisis, organosolv y explosión por vapor bajo diferentes condiciones operativas (temperatura, tiempo de reacción, concentración de solvente). Mediante los pretratamientos de autohidrólisis y explosión por vapor se logró obtener una buena solubilización de la fracción hemicelulosa, permitiendo recuperar azúcares (mayoritariamente xilosa) en una corriente líquida que puede ser utilizada para la producción de biocombustibles u otros productos de relativo valor agregado, al mismo tiempo que mejoró la hidrólisis enzimática posterior del sólido pretratado. Sin embargo, mediante el pretratamiento de organosolv se alcanzó una solubilización parcial de las hemicelulosas, pero resultó ser efectivo para la deslignificación de la biomasa, permitiendo obtener sólidos pretratados con un bajo contenido de lignina, mejorando así su posterior hidrólisis enzimática. Un aumento en la severidad del pretratamiento mejoró la solubilización de la hemicelulosa y posterior hidrólisis de la celulosa, pero las reacciones de descomposición comenzaron a ser inevitables, afectando los rendimientos de recuperación de carbohidratos. Para disminuir las pérdidas por descomposición, se evaluó el agregado de lignosulfonatos y un catalizador ácido durante el pretratamiento con el objetivo de aumentar la solubilización de la hemicelulosa y lograr trabajar a bajas severidades de pretratamiento. El agregado de ácido sulfúrico en combinación con lignosulfonato durante el pretratamiento con vapor mejoró eficientemente la solubilización de las hemicelulosas, permitiendo trabajar bajo condiciones suaves de pretratamiento y obtener una mayor recuperación de azúcares, mejorando al mismo tiempo la hidrólisis de la celulosa de los sólidos pretratados resultantes. Además, se evaluó el agregado de surfactante durante la hidrólisis enzimática de forma tal de mejorar la hidrólisis de celulosa en los sólidos pretratados bajo condiciones de pretratamiento más suaves. Todos los sólidos pretratados fueron fácilmente hidrolizados a glucosa mediante los complejos enzimáticos comerciales utilizados. Sin embargo, se obtuvo una hidrólisis de celulosa casi completa en presencia de PEG 6000.

La madera de eucalipto pretratada mediante autohidrólisis logró ser fermentada para producir butanol usando las bacterias anaerobias *C. beijerinckii* DSM 6423 y *C. acetobutylicum* DSM 792 bajo las diferentes configuraciones de proceso estudiadas (SHF, SSF, PSSF). Sin embargo, mejores rendimientos y productividades de butanol fueron obtenidas con las etapas de hidrólisis enzimática y fermentación llevadas a cabo separadamente (SHF). Los resultados obtenidos en este trabajo demostraron que la madera de eucalipto representa una materia prima promisoría para la producción de biobutanol.

Abstract

There is growing interest in the production of chemicals and fuels in a way that is more sustainable and beneficial to the environment. Butanol has been shown to have superior fuel properties when compared to ethanol, and has many applications in chemical industries. Its production from renewable lignocellulosic biomass by means of fermentation was investigated in the past decades. Eucalyptus wood has gained attention as an alternative biobutanol feedstock because of its high carbohydrate content, as well as its availability and sustainable supply. However, its utilization requires the development of pretreatment technologies necessary to break up lignin structures, to separate the three biopolymers (lignin, cellulose and hemicellulose) and to enhance further enzymatic hydrolysis of cellulose. Although several pretreatments have been proposed and investigated, the selection of an effective one still remains a goal.

In this work, eucalyptus wood was evaluated as a raw material for the production of biobutanol using a biorefinery approach. Autohydrolysis, organosolv and steam explosion pretreatments were studied under different operational conditions (temperature, reaction time, solvent concentration) for eucalyptus pretreatment prior to fermentation, attending hemicellulose solubilization and recovery and further cellulose enzymatic hydrolysis. Both autohydrolysis and steam explosion pretreatments resulted good in solubilizing hemicellulose, allowing to recover hemicellulose-derived sugars in a separate stream which can be used for the production of biofuels or other value-added products, while enhancing further enzymatic hydrolysis of the pretreated substrate. However, organosolv pretreatment achieved a partial hemicellulose solubilization but resulted effective for eucalyptus delignification, allowing to achieve pretreated substrates with a lower lignin content which improved cellulose enzymatic hydrolysis. Increasing pretreatment severity enhanced hemicellulose solubilization and further cellulose hydrolysis of the pretreated substrate, but decomposition reactions occurring at harsher conditions became unavoidable and decreased overall carbohydrates recovery. To overcome this, strategies such as the addition of lignosulfonates and acid catalyst during pretreatment were investigated in order to increase hemicellulose solubilization, while allowing to work at lower pretreatment severities. The supplementation of sulfuric acid and lignosulfonates during steam pretreatment effectively enhanced hemicellulose solubilization, which allowed to work at the lowest pretreatment severity and obtain higher overall carbohydrates recoveries, while achieving a high cellulose enzymatic hydrolysis of the resulting pretreated substrate. Moreover, the addition of surfactant during enzymatic hydrolysis was also assessed in order to carry out the pretreatment step at milder conditions and enhance the subsequent enzymatic hydrolysis of the pretreated substrates. In fact, the highest cellulose hydrolysis was obtained in presence of PEG 6000. All the pretreated eucalyptus substrates were effectively hydrolyzed by the commercial cellulase enzymes used in this study.

Autohydrolysis-pretreated eucalyptus substrates were effectively fermented by anaerobic bacteria *C. beijerinckii* DSM 6423 and *C. acetobutylicum* DSM 792 under the different process configurations studied (SHF, SSF, PSSF). However, better butanol yields and productivities were obtained when the enzymatic hydrolysis and fermentation steps were done separately (SHF). The results obtained in this study demonstrates that eucalyptus wood represents a potential feedstock for biobutanol production.