

Producción de bioetanol por fermentación de hidrolizados hemicelulósicos de residuos de palma africana usando una cepa *Scheffersomyces Stipitis* adaptada

Paula Giraldo - pagiraldop@unal.edu.co

Karen Rivera - wkriverat@unal.edu.co

Facultad de ciencias

Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín

Resumen

Se evaluó la producción de etanol usando una cepa de *Scheffersomyces stipitis* adaptada a inhibidores presentes en hidrolizados hemicelulósicos de palma africana. La adaptación se logró de 20 subcultivos en medios progresivamente concentrados en inhibidores. El análisis mostró que la agitación orbital y el volumen del medio influyen significativamente sobre la concentración máxima de etanol. La máxima concentración de etanol fue de 8.776 gl^{-1} , alcanzados con 110.871 ml del medio y 80 rpm , evidenciando que es posible producir etanol a partir de hemicelulosa de palma africana usando la adaptación de cepas.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente existe un marcado incremento en la demanda energética mundial, la cual se suple en un 87 % con combustibles fósiles. Se han desarrollado estudios enfocados a encontrar nuevas alternativas energéticas provenientes de fuentes renovables; dentro de estas están los combustibles provenientes de biomasa como el bioetanol y el biodiesel, los combustibles de segunda generación han ganado importancia frente a las formas tradicionales de producción de biocombustibles, ya que optimizan el uso de las materias primas. En ese sentido la utilización de residuos agrícolas procedentes del proceso de extracción de aceite de la palma Africana resulta atractiva, en este proceso se generan grandes cantidades de racimos vacíos conocidos como raquis cuyo contenido hemicelulósico alcanza un 24 % del peso seco, esta está compuesta principalmente por xilosa. Entre los microorganismos capaces de transformar la xilosa a etanol y que muestran buen potencial fermentativo está *Scheffersomyces stipitis* que viene de un grupo de levaduras aisladas de la madera y con la capacidad de utilizar muchos de los azúcares presentes allí. Este estudio explora la producción de etanol a partir de hidrolizados hemicelulósicos de residuos de raquis de palma africana, determinando la efectividad de un proceso de adaptación de una cepa de la levadura *S. stipitis* a los inhibidores, así como el efecto de la concentración celular y las variables que intervienen en la transferencia de oxígeno al medio de cultivo, como la agitación orbital y el volumen de medio.

2. DATOS

Nº	Agitación (rpm)	Volumen de medio (ml)	Volumen de inóculo (%)	Etanol máximo (gl^{-1})
1	167	90	7.5	5.74
2	150	60	10.0	1.33
3	150	120	10.0	6.37
4	150	120	5.0	5.85
5	150	60	5.0	0.29
6	125	39	7.5	0.88
7	125	90	7.5	6.81
8	125	140	7.5	8.48
9	125	90	7.5	6.94
10	125	90	3.3	6.80
11	125	90	11.7	7.44
12	100	60	5.0	4.12
13	100	120	5.0	7.31
14	100	120	10.0	8.28
15	100	60	10.0	4.84
16	82	90	7.5	8.14

Cuadro 1: para el diseño central compuesto en la producción de etanol a escala matraz a partir de hidrolizado hemicelulósico de raquis de palma africana usando *S. stipitis*

3. ANÁLISIS

La concentración de etanol en función de las condiciones de transferencia de oxígeno determinadas por la agitación orbital y volumen del medio del cultivo. A continuación se presentan tres modelos propuestos para la variable respuesta.

	MODELO 1 $E = A + V$	MODELO 2 $E = A + V + V^2 + A^2$	MODELO 3 $E = A + V + V^2 + AV$
R^2	0.781	0.8868	0.9008
R^2_{aj}	0.7473	0.8456	0.8648
σ	1.331	1.04	0.9734
ρ	0.8837431	0.9416975	0.9491151

Cuadro 2: En el modelo 1 se quiso partir de la ecuación más sencilla; en el modelo 2 se optó por agregar cada una de sus covariables al cuadrado y para el modelo 3 principalmente se planteó el mismo modelo anterior con la diferencia de que se adicionó la interacción entre sus covariables y a partir de este se realizó un análisis de selección de variables, en el cual se obtuvo que la covariable agitación al cuadrado no era significativa

Dado el cuadro 2 y los datos allí presentados, se escogió el modelo cuyos regresores lograron explicar en un 86 % la variabilidad de la variable respuesta etanol, en este caso se seleccionó el modelo 3.

Se hizo un test de multicolinealidad con el fin de comprobar que el coeficiente de determinación fue grande a consecuencia de un buen ajuste del modelo, no por caso contrario a que el coeficiente de determinación se viera afectado por la existencia de dependencias lineales entre las covariables, ya que R^2 se ve perjudicado por regresores que comparten sus variaciones.

4. MODELOS GAMLSS

Los modelos Gamlss (*Generalized Additive Model for Location Scale and Shape*) propuestos por Rigby Stasinopoulos (2005), son de gran utilidad ya que permiten modelar todos los parámetros de la variable de interés en función de covariables. En la práctica muy pocas veces la variable respuesta cumple con el supuesto de normalidad requerido para el ajuste de modelos lineales, los modelos Gamlss son útiles porque permiten elegir la distribución de la variable respuesta entre más de 80 distribuciones diferentes. Para el modelo anteriormente escogido se le encontrará una familia que mejor se logre ajustar a la variable respuesta etanol.

En este caso para la comparación de los modelos se usará *Akaike Information Criterion (AIC)*, propuesto por Akaike (1974), que sirve para medir la calidad relativa de los modelos estadísticos, la expresión para calcular el indicador es: $AIC = -2\hat{l} + 2df$ donde \hat{l} corresponde al valor de Log-verosimilitud estimada para el modelo y df corresponde al número de parámetros estimados del modelo, siempre el mejor modelo escogido es aquel con el menor AIC.

Modelo	Distribución	AIC
1	GG (Generalized Gamma) $(0, \infty), (\mu, \sigma, \nu)$	42.94146
2	BCCGo (Box-Cox Cole-Green orig.) $(0, \infty), (\mu, \sigma, \nu)$	50.69468
3	WEI3 (Weibull (μ the mean)) $(0, \infty), (\mu, \sigma, \tau)$	50.74759

Cuadro 3: Se presentan los valores AIC para los tres mejores modelos, teniendo en cuenta que se hizo un análisis discriminatorio por familias cuyo dominio fuera positivo.

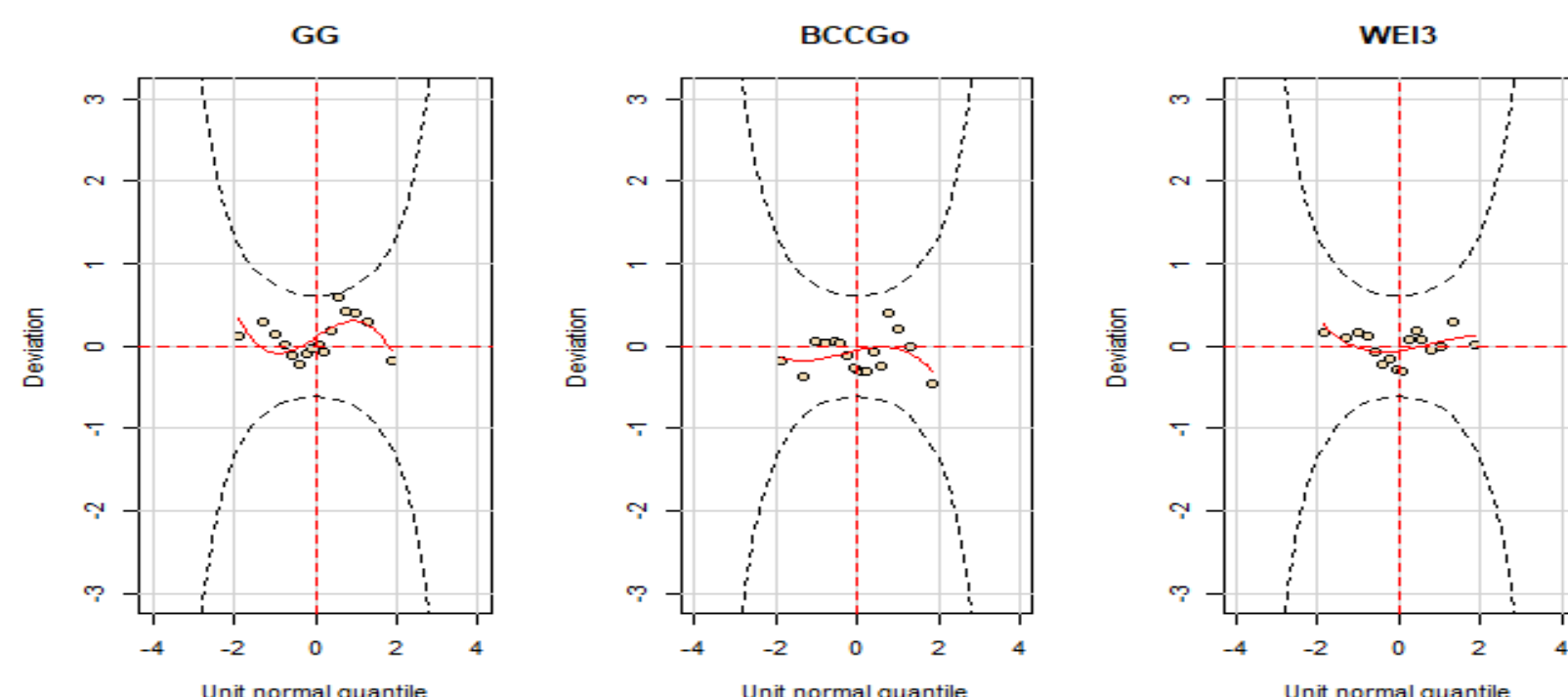


Figura 1: Se presenta el Worm plot para cada uno de los modelos presentados en el cuadro 3. En esta figura se observan los residuales, en los tres gráficos se puede notar un buen ajuste de estas familias a la variable respuesta, ya que están ubicados en la parte central y además no invaden las hipérbolas, estos gráficos son los indicados para un análisis de residuales cuando se tiene una distribución diferente a la Normal.

Por el buen comportamiento de los residuales y por tener el AIC más pequeño se considera que la distribución que me-

jor se ajusta a la variable respuesta es la GG *Generalized Gamma* la cual tiene tres parámetros, la función de enlace usada para la modelación de μ , y σ fue log, como se muestra a continuación.

$$\text{Log}(\hat{\mu}) = -1,35 - 0,00352A + 0,07398V - 0,0003541V^2 - 0,00000677AV$$

$$\text{Log}(\hat{\sigma}) = -4,25 + 0,100A - 0,184V + 0,00142V^2 - 0,00072AV$$

En la parametrización de la distribución GG con parámetros μ y σ usada en los modelos GAMLSS, el valor esperado y la varianza estimada para la producción de etanol esta dada por:

$$\hat{E}(\text{etanol}) = \hat{\mu}$$
$$\hat{V}(\text{etanol}) = \hat{\mu}^2 \hat{\sigma}^2$$

Para una agitación a 80rpm y un volumen de medio de 90 ml se espera que la concentración de etanol sea de 8.24 gl^{-1} (obtenido de $\exp(2.109646) = 8.24$), entonces se podría pensar que las concentraciones de etanol sean mayores a bajas velocidades de agitación y altos volúmenes de medio de cultivo.

5. SUPERFICIE DE RESPUESTA

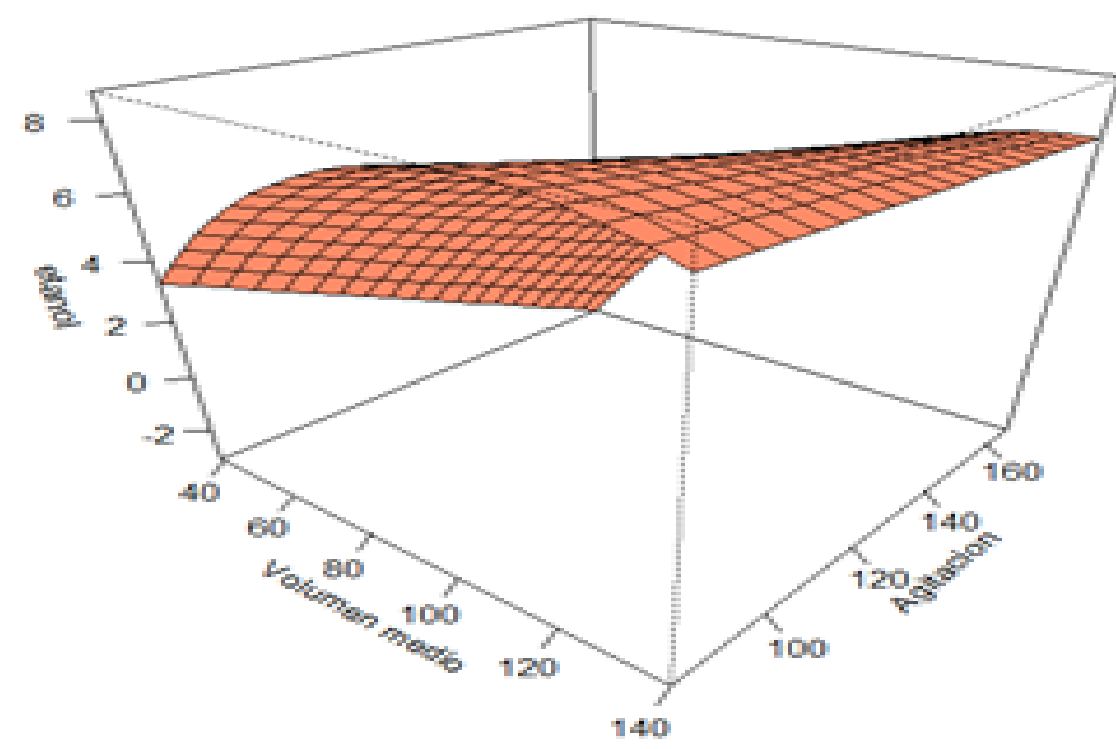


Figura 2: Superficie de respuesta para la producción de etanol máxima en función de la agitación y el volumen de medio.

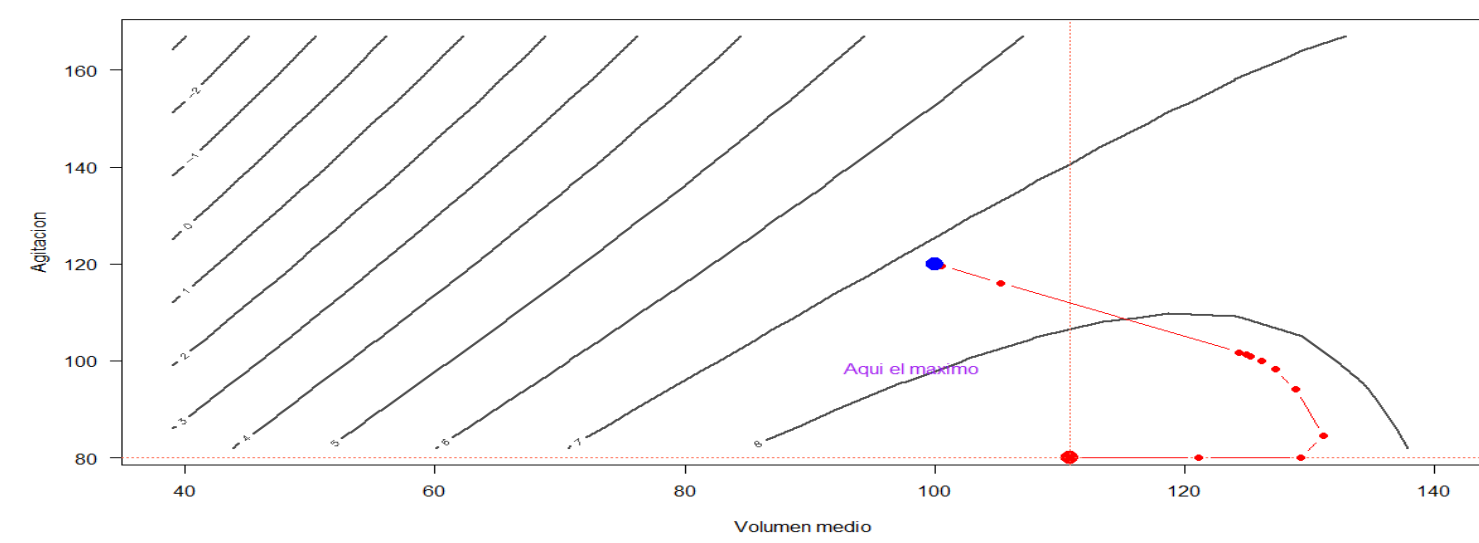


Figura 3: En el gráfico de contornos se puede observar la trayectoria en busca de los valores óptimos que maximicen la producción de etanol.

6. CONCLUSIONES

Se encontró que es factible adaptar una cepa de *S. stipitis* a los inhibidores de un hidrolizado hemicelulósico de raquis de palma africana, dando la posibilidad de explorar la producción de etanol, evitando los altos costos de los procesos de destoxificación. El análisis anterior nos muestra como se alcanza la máxima concentración de etanol, siendo esta de 8.776 gl^{-1} con valores óptimos de 110.871 ml y 80 rpm

REFERENCIAS

- Naranjo Dueñas G., Mosalve Lugo E., Hernández Barajas F. (2017). ESTIMATION OF ORELLANA YIELD THROUGH GAMLSS MODELS. *Revista de la facultad de ciencias Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín*, **6**, 67–82.
- Herrera Ruales F.C. and Arias Zabala M. (2014). Bioethanol production by fermentation of hemicellulosic hydrolysates of african palm residues using an adapted strain of *Scheffersomyces stipitis*. *Dyna*, **81**, 212–218.