

Producción de ácido levulínico: una revisión bibliográfica

Jessica Rodríguez-Aguilera¹, Adolfo Brown-Gómez², Amaury Álvarez.Delgado², Georgina Michelena-Álvarez^{2*}

1. Facultad de Ingeniería Química, Universidad Tecnológica de La Habana José Antonio Echeverría.
Calle 114 No. 11901 e/ Ciclovía y Rotonda, Marianao, La Habana, Cuba.
2. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA).
Vía Blanca No. 804 esq. a Carretera Central, San Miguel del Padrón, La Habana, Cuba.
* georgina.michelena@icidca.azcuba.cu

RESUMEN

En el presente trabajo se realizó una revisión bibliográfica sobre la utilización de la biomasa vegetal, específicamente el bagazo de caña de azúcar, en la producción de ácido levulínico. Esta molécula ha sido reconocida como una de las principales “plataformas” para la diversificación y obtención de moléculas amigables con el ambiente y sustituta de los productos derivados del petróleo.

Para convertir el bagazo en ácido levulínico es necesario realizar la hidrólisis, química o enzimática de la celulosa. La degradación controlada de azúcares C6 mediante ácidos es el proceso más usado para producir ácido levulínico a partir de biomasa lignocelulósica. La tecnología industrial Biofine obtiene un rendimiento del 70 %. Se han estudiado otros métodos que requieren materias primas con precios elevados.

A pesar de que la hidrólisis enzimática es la tecnología más promisoría, está limitada industrialmente por la multiplicidad de sus etapas y el costo de las enzimas. Los rendimientos de variantes de este proceso se encuentran entre 58 y 80 %.

La estimación económica solo por el costo de materias primas y considerando las opciones de producir ácido levulínico a partir de bagazo de caña o importando furfural, determinó ser ventajosa económicamente a partir de bagazo en comparación con la opción de importar furfural. Sin embargo, los costos de reactivación de la planta de furfural existente o de construcción de una nueva planta pudieran variar el resultado.

Palabras clave: ácido levulínico, caña de azúcar, bagazo, furfural, diversificación.

ABSTRACT

At the present work, a review was carried out to use vegetable biomass, specifically sugar cane bagasse, in the production of levulinic acid. This molecule has been recognized as one of the main “platforms” for the diversification and obtaining of molecules friendly to the environment and substitute for oil products.

In order to convert the bagasse into levulinic acid is necessary to carry out the hydrolysis, chemical or enzymatic of cellulose. The controlled degradation of C6 sugars by acids is the most used process to prepare levulinic acid from lignocellulosic biomass. The Biofine industrial technology obtains a 70 % yield. Other methods with high prices raw materials have been studied.

Although enzymatic hydrolysis is the most promising technology, it is industrially limited due to the multiplicity of its stages and the cost of enzymes. The yields of variants of this process are between 58 and 80 %.

The economic estimate only for the cost of raw materials and considering the options of producing levulinic acid from cane bagasse or imported furfural, determined to be economically advantageous from bagasse vs. imported furfural. However, the costs of reactivating the existing furfural plant or the construction of a new plant could vary the result.

Key words: levulinic acid, sugarcane, bagasse, furfural, diversification.

INTRODUCCIÓN

Algunos países desarrollados están encaminando sus investigaciones hacia el desarrollo de derivados de la biomasa para la obtención de moléculas “plataformas”, que son aquellas a partir de las cuales, se logran introducir nuevos y sostenibles productos industriales. Uno de los productos identificados por su impacto como molécula “plataforma” para el desarrollo de bioplásticos sostenibles y biodegradables es el ácido levulínico.

La reserva de biomasa cañera que tiene el Grupo Azucarero Azcuba puede aportar nuevas tecnologías para lograr sustituir el uso excesivo de poliolefinas derivadas del petróleo por bioplásticos sostenibles derivados de la agroindustria azucarera, optimizando sus propiedades físico-químicas y mecánicas.

El ácido levulínico derivado de biomasa ha sido identificado como una de las doce moléculas que podrían ayudar a desarrollar un mundo más amigable ambientalmente. La conversión biológica para la producción de ácido levulínico afronta el reto de los microorganismos que puedan realizar la conversión de azúcares.

Debido al alto contenido de carbohidratos y al bajo contenido de lignina, así como su disponibilidad, el bagazo puede ser considerado como un coproducto agroindustrial con un alto potencial para obtener azúcares fermentables. Para poder convertir el bagazo en ácido levulínico es necesario realizar la hidrólisis, química o enzimática, de la celulosa. Sin embargo, la celulosa nativa es muy poco reactiva debido a que su superestructura cristalina y su entrecruzamiento con la lignina y las hemicelulosas dificultan el acceso de las enzimas y de los agentes químicos. Se han propuesto diferentes métodos de pretratamiento para facilitar la hidrólisis enzimática de la celulosa, y conjuntamente con procesos de deslignificación adecuados, fraccionar los materiales lignocelulósicos de acuerdo a una filosofía de biorrefinerías.

Ácido levulínico

El ácido levulínico (AL), también conocido como ácido 4-oxopentanoico o ácido y cetovalérico es un compuesto orgánico con fórmula química $C_5H_8O_3$. Presenta estructura sólida cristalina, es soluble en agua y en disolventes orgánicos polares. Al contener un grupo cetona y un grupo carboxilo, posibilita múltiples opciones posibles de reacción (1). Fue reconocido como una de las principales moléculas plataforma del futuro y puede cubrir de manera eficaz muchas de las atribuciones de productos químicos y materiales procedentes del petróleo.

Tecnologías del proceso

La degradación controlada de azúcares C6 mediante ácidos es el proceso más usado para preparar ácido levulínico a partir de biomasa lignocelulósica.

Se han estudiado otros métodos, por ejemplo, la hidrólisis de ésteres de acetilsuccinato, hidrólisis ácida de alcohol furfúrico o la oxidación de cetonas. Sin embargo, dichos métodos requieren materias primas con precios elevados y dan lugar a cantidades relativamente altas de subproductos (2).

También los tratamientos biológicos utilizan diferentes tipos de hongos y bacterias para reducir la cristalinidad de la biomasa lignocelulósica y facilitar los procesos de conversión a productos finales. El tratamiento de la biomasa con microorganismos se muestra como una técnica prometedora, ya que cuenta con varias ventajas: no necesita de reactivos químicos que comprometan el medio ambiente, bajo costo energético, y en general sus mecanismos así como sus condiciones de trabajo son amigables al medio ambiente. Los microorganismos más utilizados son los hongos, que según su mecanismo de degradación de la biomasa leñosa se pueden identificar como, hongos de pudrición blanca, parda o blanda. Los dos últimos tienen comprobada acción en la celulosa; sin embargo, solo los hongos de pudrición blanca tienen capacidad de degradar la lignina (2).

Dos tipos de procesos para degradar la celulosa son utilizados: ácido y enzimático. La compañía BlueFire de Estados Unidos utiliza la hidrólisis ácida de acuerdo al proceso tecnológico de ARKENOL basado en el pretratamiento e hidrólisis con ácido concentrado en una sola etapa, propiciando la desorganización de la estructura lignocelulósica y la hidrólisis de la celulosa y hemicelulosa, obteniéndose un licor rico en azúcares de C5 y C6. La tecnología BlueFire es única en el mundo con amplia disponibilidad de materia prima: desechos urbanos, residuos agrícolas, residuos de madera, residuos verdes y bagazo de caña. Es un proceso económicamente viable por el eficiente recobrado y reconcentración del ácido y la concentración de azúcares de alta pureza además de que todos los subproductos son utilizables y comercializables (2).

Obtención de ácido levulínico por hidrólisis ácida

Para obtener ácido levulínico (AL), a partir de biomasa celulósica, hay que tener en cuenta que esta presenta una mayor ordenación de su estructura cristalina que la hemicelulosa, por lo tanto se requieren condiciones de alta acidez, calor y temperatura. Así pues, el método más común para la obtención de AL es la hidrólisis ácida de la biomasa lignocelulósica, que provoca la conversión de los polisacáridos en azúcares C5 y C6 (3).

El producto de la deshidratación de los azúcares C6 es el hidroximetilfurfural (HMF), un compuesto furánico que puede ser transformado fácilmente, mediante hidratación, en ácido levulínico y ácido fórmico, en cantidades equimolares.

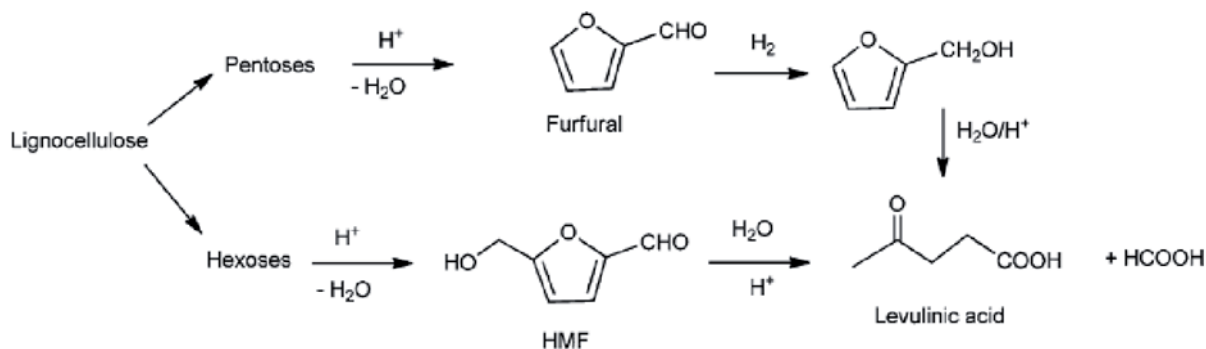


Figura 1. Obtención de ácido levulínico a partir de la hidrólisis ácida de azúcares.

Por otro lado, la deshidratación de los azúcares C5 (fracción hemicelulósica) permite obtener furfural, que a su vez puede ser utilizado directamente como producto o convertido en ácido levulínico (3), tal como se observa en la figura 1.

Ejemplos de producción industrial de ácido levulínico

El ácido levulínico todavía no se ha producido a gran escala y por lo tanto tiene la condición de producto químico con un mercado caro. Sin embargo, se han desarrollado o se están desarrollando procesos a escala piloto empleando la tecnología más común; la hidrólisis ácida de la biomasa lignocelulósica. Las siguientes empresas han desarrollado su tecnología basándose en este modelo: Biofine, DSM, GFBiochemical, Segetis (adquirida por la anterior) y la española Técnicas Reunidas, mediante el proceso LIFE + WALEVA - "From Whatever Residue into Levulinic Acid – an innovative way to turn waste into resource" (1).

El proceso Biofine es ejemplo donde la lignocelulosa se somete a un pretratamiento y posteriormente se procesa directamente, convirtiendo la celulosa y la hemicelulosa en ácido levulínico, ácido fórmico y furfural (1), tal como muestra la figura 2.

Se emplea el ácido sulfúrico como catalizador ácido de una reacción de dos etapas, con temperaturas que varían entre 120 y 220 °C, y con tiempos de reacción cambiantes en función de la naturaleza de la biomasa alimentada. Bajo estas condiciones, la celulosa se convierte en hidroximetilfurfural (HMF) y este a su vez se convierte en ácido levulínico, con un rendimiento aproximado del 70 %. Asimismo se obtienen ácido fórmico, ácido acético y furfural como subproductos. El furfural producido es el resultado de la deshidratación de las unidades de xilosa de la hemicelulosa. El ácido levulínico, ácido fórmico y furfural son todas moléculas plataforma útiles, con una amplia gama de derivados químicos y materiales posibles a partir de cada uno. La lignina degradada residual junto con el material húmico se quema para la recuperación de energía (1).

PROCESO BIOFINE

El proceso Biofine es un proceso de hidrólisis ácida para la conversión de celulosa en ácido levulínico, una molécula plataforma con usos potenciales conocidos.

Química del proceso

El proceso consiste en la "ruptura" de cualquier materia lignocelulósica de partida, en presencia de un catalizador ácido mineral (p.ej. ácido sulfúrico) diluido en agua, y empleando una temperatura moderada con un diseño de reacción basado en un reactor dual que permite una elevada producción con un alto rendimiento. La fracción de celulosa es transformada en ácido levulínico y ácido fórmico, mientras que la

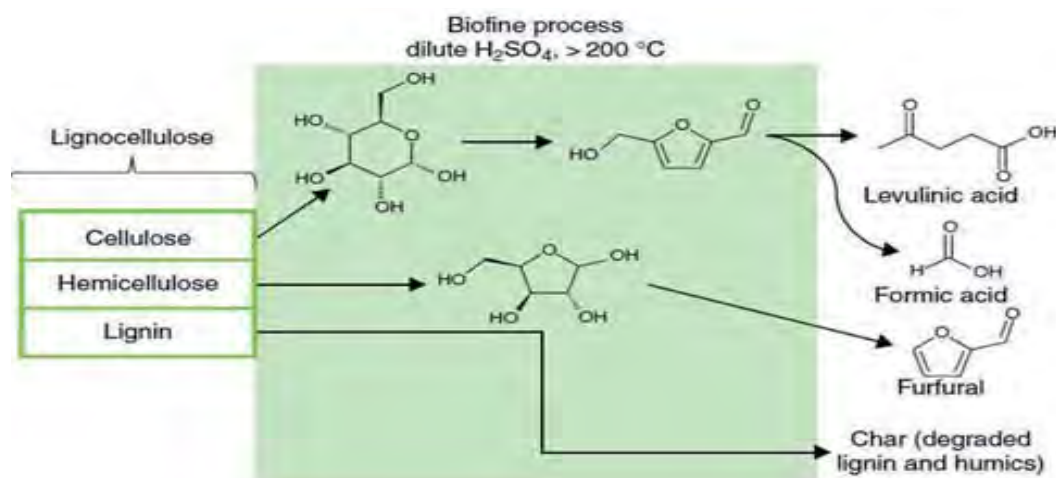


Figura 2. Proceso Biofine para la conversión de lignocelulosa en ácido levulínico.

fracción de hemicelulosa se descompone en furfural, que se puede aprovechar como tal o que puede convertirse a su vez en ácido levulínico. Cada uno de estos productos primarios presenta potencial como “plataforma” para la producción de otros productos de valor añadido. La lignina, junto con otros componentes inertes de la biomasa, se extrae en forma de alquitrán de alto contenido en carbono, que puede valorizarse energéticamente o transformarse en otros productos (negro de humo, carbón activado, fibra de carbono, etc.). La tecnología se basa en un sistema de reacción continua de dos etapas que opera a las condiciones de temperatura, concentración de catalizador ácido y tiempo de residencia adecuados para obtener elevados rendimientos de ácido levulínico, ácido fórmico y furfural. Las condiciones de operación típicas son: temperatura de 190 a 220 °C, concentración de ácido de 1 a 5 % en peso, tiempo de residencia 15 minutos (total de las dos etapas de reacción).

Estrategia de desarrollo

Las experiencias catalíticas se llevaron a cabo en un reactor agitado a 78 °C. En un experimento típico, el reactor fue cargado con 50 mmol de etanol absoluto, 100 mg de catalizador y 5 mmol de ácido levulínico. La reacción fue seguida por cromatografía gaseosa. El producto fue identificado a través de la comparación con una auténtica muestra de levulinato de etilo y mediante el análisis de espectrometría de masas. El rendimiento de la reacción fue expresado como la relación de moles % de producto a moles de sustrato inicial (2). Los ensayos se realizaron a diferentes tiempos de reacción, obteniéndose un rendimiento máximo de 61 % en 24 horas a 78 °C. No se observaron productos secundarios (selectividad del 100 %). Se estudió el reuso del catalizador en condiciones similares no observándose pérdida de la actividad catalítica.

El procedimiento descrito que se observa en la figura 3, permite reemplazar los catalizadores ácidos solubles usuales, contribuyendo a una reducción de la generación de residuos (2).

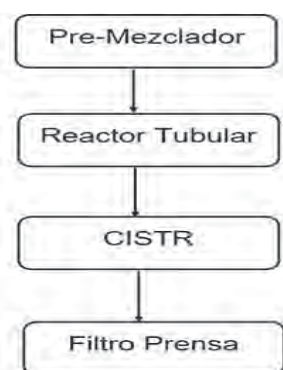


Figura 3. Diagrama de bloques del proceso por hidrólisis ácida.

OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO LEVULÍNICO A PARTIR DE *Gelidium amansii*

Avances recientes en el campo de la biotecnología para biocombustibles y la producción bioquímica, ha facilitado el uso de macroalgas como biomasa, debido a sus aspectos superiores como tercera biomasa de generación: sin lignina, alto contenido de carbohidratos y muy rápida tasa de crecimiento con la fijación de una gran cantidad de CO₂ (4).

Las algas son plantas marinas que se dividen en tres categorías en función de sus colores: rojo (4500 especies), verde (900 especies) y marrón (1000 especies). Las algas se han utilizado durante mucho tiempo como alimento, fertilizante y para fines medicinales. Un alga roja, *Gelidium amansii*, es ampliamente utilizada en la producción de agar, que se aplica en los alimentos e industrias químicas. Además, su contenido de carbohidratos (glucano, galactano, etc.) es más alto que el de proteínas y lípidos. En estas, los carbohidratos se pueden convertir fácilmente en biocombustibles y productos químicos a través de procesos bioquímicos (4).

Análisis de materiales y composición

De las algas rojas, puede obtenerse agarosa, agarpectin y celulosa. La agarosa y agarpectin son convertidos a 1,3-ligado-D-galactosa y 1,4-ligado 3,6-anhidro-L-galactosa (4). Los resultados de estos análisis revelaron que la biomasa estaba compuesta de 28.41 % de galactano, 18.46 % de glucano, 7.91 % de manano, 42.01 % de otros y 3.21 % lignina en peso seco. Se molió para pasar a través de una malla de 2 mm antes de su uso.

Primera etapa de hidrólisis (remojo ácido)

Se hidrolizan 15 g de algas rojas en una solución de ácido sulfúrico con concentración de 1.5 y 9 % (w/w), temperaturas de 60, 70 y 80 °C, tiempos de reacción de 24, 48 y 72 h, en botellas de 250 mL con tapón de rosca bajo diversas condiciones. Después de ser empapado en la solución de ácido sulfúrico, los sólidos de la suspensión se separan usando una centrífuga y luego se lavan con aproximadamente 2 L de agua destilada hasta que el pH del líquido de lavado sea aproximadamente 6.5-7.0. Luego las algas rojas lavadas se secan en un horno de secado al vacío a 45 °C, hasta que queden completamente secas. El contenido total de sólidos de las algas rojas secadas al vacío se determina secando las muestras en un horno de secado a 105 °C (4).

Segunda etapa de hidrólisis (reactor discontinuo)

La segunda etapa de hidrólisis se realiza usando el licor diluido de la primera etapa de hidrólisis y reactores tubulares sellados (9.04 cm³ de volumen interno) construido en acero inoxidable (SAE 316)

de 1 cm debido a su resistencia a temperaturas elevadas y resistencia a la corrosión. Los reactores se empaquetan con 5 mL de solución hidrolizada en el primer paso. Se toman muestras a intervalos de 20 minutos (4).

Análisis de rendimiento de ácido galactosa y levulínico

Se toman muestras del ácido en remojo y del reactor y se neutralizan con CaCO_3 a un pH entre 5-6 y luego se centrifuga el líquido filtrado a 18 000 rpm por 15 min, para eliminar residuos de partículas de las muestras filtradas (4).

Se utiliza un sistema de HPLC para determinar el rendimiento de galactosa y ácido levulínico. El sistema de HPLC consistió en un binario Waters 1525 Bomba HPLC, inyector de muestras Waters 717 plus, Waters 2487 dual I detector de absorbanza y refractómetro diferencial Waters 410. La columna analítica utilizada fue una Aminex HPX-87H para análisis de ácidos orgánicos. La temperatura de operación de la columna se mantuvo a 65 °C. La fase móvil de la solución acuosa de H_2SO_4 fue de 0.018 M con una velocidad de flujo de 0.7 mL/min. El volumen de inyección de muestra fue 20 mL. El rendimiento de ácido levulínico basado en el peso de la materia prima se calculó como:

$$\text{Rendimiento del AL(\%)} = \frac{\text{contenido del AL después de la reacción}}{\text{contenido de alga roja antes de la reacción}} \times 100\%$$

Balance total de masa

El diagrama de balance de masa general que describe las etapas de hidrólisis desde el rendimiento de galactosa en la primera y el rendimiento de ácido levulínico en la segunda, se muestra en la figura 4.

Resultados

El rendimiento de ácido levulínico aumentó con el aumento de la temperatura de reacción en la segunda etapa de hidrólisis. Mayor tiempo de reacción también aumentó el rendimiento de ácido levulínico significativamente. Sin embargo, la concentración de ácido tuvo un efecto adverso sobre el rendimiento de ácido levulínico. Un rendimiento máximo de 42.88 % de ácido levulínico se logró a 180 °C, 3 % de ácido y 48.22 min. Esto se puede comparar con el rendimiento máximo práctico de 45.88 %. Un modelo de regresión lineal fue capaz de predecir el rendimiento de ácido levulínico con respecto a los efectos de la temperatura de reacción, concentración de ácido y tiempo reacción ($R^2 = 0.9407$) (4).

PRODUCCIÓN DE ÁCIDO LEVULÍNICO A PARTIR DE LA BIOMASA DE RESIDUOS

La conversión hidrotérmica de biomasa residual en ácido levulínico fue investigada en presencia de catalizadores ácidos homogéneos. Diferentes materias primas baratas (aserrín de álamo, lodo de fábrica de papel, residuos de tabaco, paja de trigo, poda de olivo) se emplearon como sustratos. Los rendimientos de ácido levulínico se mejoraron mediante la optimización en la reacción principal de parámetros, tales como tipo y cantidad de catalizador ácido, temperatura, duración, concentración de biomasa y adición de electrolitos. El efecto del catalizador también mejoró con la adopción de la irradiación de microondas como un método de calentamiento eficiente, que permite una gran cantidad de energía y ahorro de tiempo (5).

El rendimiento de ácido levulínico basado en el peso de la materia prima se calculó como:

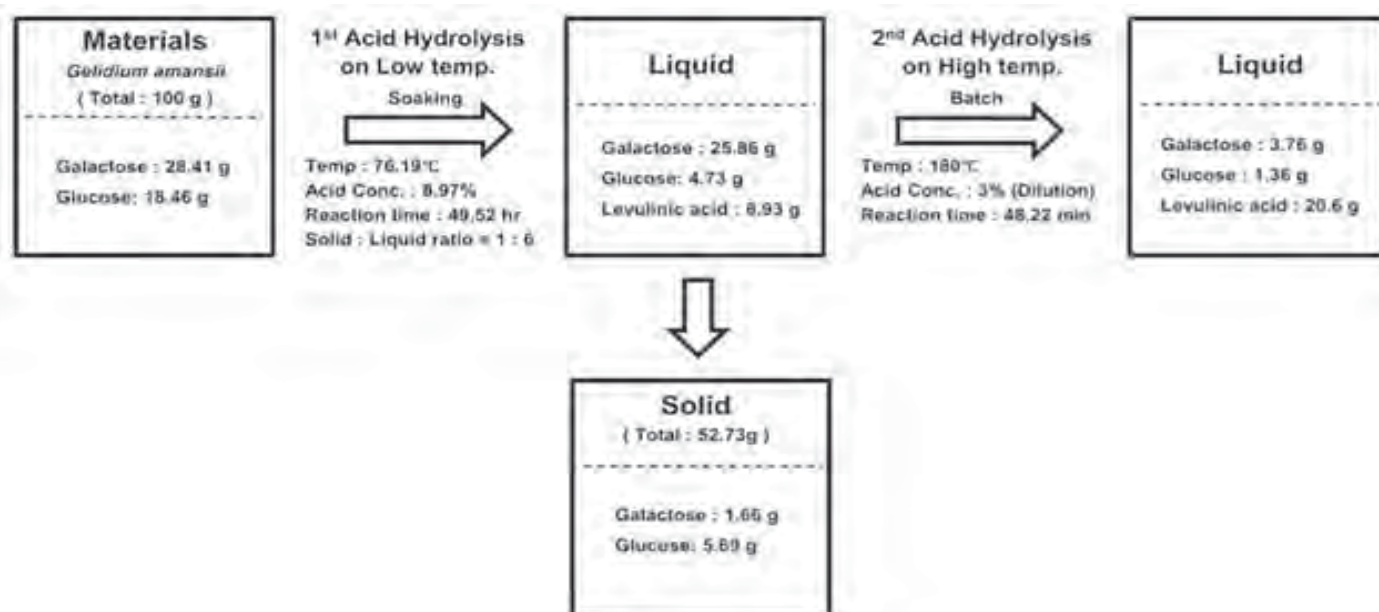


Figura 4. Balance de masa de todo el proceso, incluyendo la primera y la segunda hidrólisis.

$$\text{Rendimiento del AL}(\%) = \frac{\text{AL recuperado después de la reacción (g)}}{\text{sustrato (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendimiento teórico del AL}(\%) = \frac{0,715}{\text{sustrato (g)}} \times \text{contenido de celulosa (g)}$$

Los espectros FTIR de los residuos sólidos secos se obtuvieron con Perkin-Elmer Espectrofotómetro Spectrum One, equipado con un aparato de reflectancia total atenuado.

Resultados

Diferentes precursores como fructosa, glucosa, sacarosa, almidón, celulosa y también biomasa barata, como madera, paja de trigo, linters de algodón, granos de sorgo y los residuos agrícolas; se han utilizado para producir ácido levulínico. Estos diferentes sustratos han reaccionado bajo diferentes condiciones de reacción, por lo que es difícil comparar sus actuaciones y así evaluar la viabilidad de su conversión catalítica a ácido levulínico. Cuando se procesa biomasa insoluble en agua homogénea, los catalizadores ácidos generalmente parecen más adecuados en comparación con los heterogéneos, teniendo en cuenta su capacidad para entregar las especies activas en la biomasa sólida o hinchada. El H_2SO_4 es el ácido mineral más comúnmente utilizado, pero HCl, HBr y H_3PO_4 también se pueden utilizar (5).

Solo pequeñas cantidades de hidroximetilfurfural y de furfural (derivado de azúcares C5 hemicelulósicos) se determinaron en las condiciones de reacción adoptadas. Por el contrario, el rendimiento molar de ácido fórmico, coproducido en igual cantidad molar con ácido levulínico resultó siempre ligeramente más bajo que el de ácido levulínico probablemente debido a sus reacciones secundarias.

Cuando la biomasa de olivo, obtenida de la poda, se empleó usando HCl como catalizador, produjo hasta 66 % del rendimiento teórico con calentamiento tradicional a 200 °C. Este resultado es interesante porque la biomasa de olivo es un tipo de residuo lignocelulósico renovable y barato, sin usos alternativos, cuya eliminación es necesaria.

En particular, la combinación de agua sobrecalentada como solvente con el uso de la irradiación de microondas (MW) como método de calentamiento eficiente, representa una perspectiva real para una sustancia química de procesos verdaderamente sostenibles. De hecho, los procesos asistidos por microondas implican una energía significativa y ahorro de tiempo. En efecto, esta técnica redujo significativamente el tiempo de reacción y aumentó el rendimiento de ácido levulínico hasta el 71 % del rendimiento teórico, comparado con la del reactor por calentamiento en baño de aceite (5).

Cuando se utilizó aserrín de álamo como sustrato, el experimento pudo mejorarse no solo adoptan-

do la radiación microonda sino también mediante la realización del calentamiento tradicional en dos pasos: una prehidrólisis a temperatura más baja y un paso de conversión sucesivo a 200 °C.

La etapa de prehidrólisis solubiliza una fracción del componente hemicelulósico, haciendo que la celulosa no disuelta sea más accesible en el tratamiento sucesivo a alta temperatura. Una caracterización muy reciente de la madera de álamo tratada con ácido sulfúrico diluido, durante tiempos que van hasta 20 minutos y a temperaturas que oscilan entre 120-150 °C, permitió detectar la modificación de la estructura de la biomasa a nivel molecular, implicando no solo la hidrólisis/despolimerización dominante de la hemicelulosa, sino también de holocelulosa y lignina. En comparación con la irradiación de microonda, que necesita la disponibilidad del reactor, la adopción del paso de prehidrólisis aparece como un enfoque más inmediato para mejorar los rendimientos de ácido levulínico desde biomasa, en una selección preliminar.

El HCl diluido siempre actuó como un mejor catalizador en comparación con H_2SO_4 . De hecho, en presencia de H_2SO_4 se observó una deposición significativa de subproductos sólidos de humina en las paredes del reactor. Además, cuando la biomasa cruda tenía un contenido significativo de sales de calcio, como en el caso de los residuos de celulosa de la fábrica de papel o de residuos de tabaco (concentración de calcio > 4 % en peso), se observó una deposición significativa de sulfato de calcio, incluso cuando se trabaja a menor concentración de H_2SO_4 . Cuando se adoptaron concentraciones más altas de H_2SO_4 , el reactor se obstruyó. Por el contrario, bajo condiciones de reacción optimizadas que implican el uso de HCl y tiempos limitados, se observó la ausencia de precipitaciones de sales y deposición de huminas.

Es notable que los rendimientos de ácido levulínico hasta el 77 % del rendimiento teórico máximo se obtuvieron trabajando en lodo de fábrica de papel. Para algunos sustratos, como paja de trigo y residuos de tabaco, la adición de un electrolito barato para el medio de reacción, como NaCl, aumentó el rendimiento. Cuando la suspensión acuosa de tabaco en polvo, que contiene 25 % w/w de celulosa, fue empleado como material de partida, el rendimiento real de ácido levulínico fue aproximadamente el 83 % del rendimiento teórico, debido al efecto combinado de la adición del electrolito y la etapa de prehidrólisis a 120 °C. Este rendimiento es el más alto reportado al utilizar una biomasa residual en un proceso por lotes.

En condiciones óptimas (209 °C; 37.6 min de tiempo de reacción, concentración del 3.5 % en peso

del ácido y 15.6 de relación líquido/sólido) el rendimiento alcanzado en base al peso de la materia prima del material fue 19.86 %, comparable con el valor de 19.3 % obtenido en presencia de HCl al 1.6 % en peso adoptando 1 h de tiempo de reacción. El uso de este catalizador ácido volátil permite la recuperación del ácido levulínico producido mediante destilación atmosférica/al vacío y eliminación de vapor, que puede permitir que aproximadamente el 95 % del catalizador ácido y el agua sean reciclado.

Obtención de ácido levulínico por hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática es la tecnología más promisoría, utiliza la enzima celulasa para fragmentar la cadena de celulosa. Varias compañías productoras de la enzima han contribuido a incrementar su eficiencia catalítica, a precios competitivos. La corporación logen de Canadá, ha desarrollado nuevas enzimas "modificadas por ingeniería de proteínas" para incrementar el rendimiento de etanol celulósico a partir de paja de trigo. En particular Novozyme, líder mundial en la producción de enzimas comerciales y microorganismos ha realizado avances prometedores en el desarrollo celulasas mejoradas en cuanto a suplementación de los componentes del complejo celulasa para hacer más efectivo el sistema así como en sus propiedades catalíticas (2). Las condiciones de uso de la hidrólisis enzimática son suaves (pH 4.8 y temperatura entre 45-50 °C) y no posee el problema de la corrosión.

Bacterias y hongos son capaces de producir celulasas para la hidrólisis de materiales lignocelulósicos y otros. Las celulasas comerciales están centradas en hongos como *Sclerotium rolfsii* y especies de *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Schizophyllum* y *Penicilli*.

El proceso se puede representar como se muestra en la figura 5:

Recientemente, la isomerización y extracción reactiva (SIRE) están simultaneadas y se ha introducido el proceso de retro-extracción (BE). La SIRE-BE utiliza glucosa/xilosa a partir de hidrolizados de biomasa como corriente de entrada y convierte este sustrato fructosa/xilosa con altos rendimientos de conversión para producir furanos (ej, furfural y el 5-hidroximetilfurfural (HMF)).

Preparación del hidrolizado de biomasa sacarificada

La biomasa prehidrolizada conteniendo celulosa y lignina fundamentalmente fue lavada dos veces con agua desionizada y los sólidos fueron separados por filtración. Para la sacarificación, a 160 g de biomasa húmeda se le adiciona 500 mL de acetato de sodio a 50 mM y se ajusta el pH a 4.8 con HCl. Dos enzimas fueron adicionadas, 15 FPU g⁻¹ glucano de Spezyme CP y 30 CBU g⁻¹ glucano de Novozyme 188, mezcladas a 200 RPM en una zaranda/incubadora a 50 °C durante 72 h. El hidrolizado de la biomasa fue separado de los sólidos remanentes por centrifugación a 5000 r.p.m. durante 10 min seguido por filtración. La solución de azúcares fue caracterizada para identificar los tipos de azúcares y sus concentraciones. La glucosa fue el azúcar mayoritario y la presencia y concentración de otros azúcares fueron despreciables. El rendimiento de la sacarificación fue de 90 %.

Proceso SIRE y BE

La carga de glucosa al comienzo del proceso de sacarificación enzimática fue de 30 g/L. Se preparó una solución de 165 mM (30 g/L) de solución de glucosa por dilución de un hidrolizado de biomasa sacarificado en 50 mM de tampon de fosfato de sodio (pH 85). La solución de glucosa fue isomerizada con 4,5 g de enzima L-GXI para lograr una conversión de glucosa a fructosa. La solución acuosa de glucosa y fructosa fueron adicionadas a octanol conteniendo N2B y 412.5 mM Aliquat® 336 durante 2 h para extraer fructosa a pH de 8,5. Después que el proceso SIRE fue completado, la fase orgánica y acuosa fueron separadas por centrifugación. En el paso BE, para recuperar glucosa y concentrar el extracto de fructosa, se ponen en contacto dos veces con un pequeño volumen de agua desionizada a pH 6; luego, para completar la extracción de azúcares, la fase orgánica se puso en contacto con [BMIM-SO₃H] HSO₄ y agua desionizada durante 10 min a temperatura ambiente.

La solución de fructosa de 2-15 %, fue utilizada como el medio de reacción para obtener el ácido levulínico. Este es un novedoso método multipaso a partir de biomasa hidrolizada para convertir la glucosa a ácido levulínico.

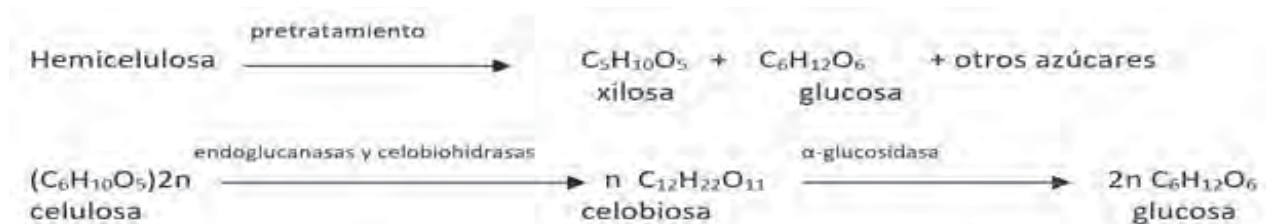


Figura 5. Proceso de hidrólisis de la celulosa y la hemicelulosa.

La glucosa fue isomerizada a fructosa hasta lograr un equilibrio con fructosa. Luego la fructosa fue extraída de forma reactiva y selectiva, con un solvente orgánico inmiscible (octanol), simultáneamente. En el paso BE, el octanol contiene azúcares en contacto con un volumen reducido de la fase acuosa (pH 6) para recuperar parcialmente la glucosa. Luego la fase orgánica contactó con la mezcla [BMIM-SO₃H] H₂SO₄ con agua desionizada (75 % líquido iónico) para completar la extracción de la fructosa. Finalmente, la fructosa fue deshidratada a HMF y el HMF fue convertido a ácido levulínico.

Las condiciones óptimas de reacción fueron establecidas, 100 % de conversión de fructosa a HMF y un alto rendimiento a ácido levulínico se obtiene a partir de 2.5 wt % fructosa inicial, 95 °C durante 1 h. El rendimiento total del proceso comienza con la sacarificación para la síntesis de ácido levulínico (> 58 %).

OTRO MÉTODO DE OBTENCIÓN DE ÁCIDO LEVULÍNICO POR HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

Este método comprende múltiples etapas enzimáticas integradas en una sola ruta metabólica, en un huésped de fermentación eucariótico, procariótico o de arqueas, que incluye, a: *Saccharomyces sp.*, *Pichia sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, *Chrysosporium sp.* y *Escherichia coli*. El método implica una o más etapas enzimáticas llevadas a cabo en un sistema libre de células, o etapas de catálisis química, o una combinación de las mismas, estando los diversos compuestos intermedios en la ruta opcionalmente separados y/o purificados del caldo de fermentación según sea necesario para completar el proceso (6). De forma general el proceso se evidencia en la figura 6.

Paso 1: conversión de azúcares en piruvato

La conversión de azúcares en piruvato es parte de la glucólisis. En la glucólisis, la acción de múltiples enzimas da como resultado la conversión de cada molécula de azúcar C6, como la glucosa, en dos moléculas de piruvato, dos moléculas de ATP y dos equivalentes reductores en forma de dos moléculas.

Primero se obtiene el piruvato a partir de la glucólisis en un organismo de fermentación y posteriormente se usa en la ruta corriente abajo en el hospedador de fermentación. Luego el piruvato se separa del caldo de fermentación y se procesa posteriormente de acuerdo con la ruta corriente abajo.

Paso 2: conversión de piruvato en ácido 4-hidroxi-2-oxo-pentanoico.

El ácido 4-hidroxi-2-oxo-pentanoico se puede producir mediante la adición aldólica de acetaldehído (un aldehído) a piruvato (un cetoácido). Preferiblemente, el acetaldehído se produce a partir de piruvato con la enzima piruvato descarboxilasa.

Paso 2': ciclación del ácido 4-hidroxi-2-oxo-pentanoico a 2-oxo-4-valerolactona

El ácido 4-hidroxi-2-oxo-pentanoico se cicla en 2-hidroxi-4-valerolactona. En soluciones ácidas a neutras, el equilibrio termodinámico se encuentra hacia la ciclación hacia la lactona. La ciclación a la lactona puede mejorarse cinéticamente mediante el uso de catálisis química o bioquímica. Los catalizadores homogéneos y heterogéneos para la lactonización incluyen condiciones ácidas fuertes (por ejemplo, ácido sulfúrico), catalizadores metálicos (por ejemplo, paladio, rubidio).

La catálisis bioquímica puede obtenerse por acción de lipasas, esterasas, proteasas y lactonasas en condiciones que favorezcan la reacción de lactonización directa (pH bajo a neutro/alto de disolvente orgánico).

Luego se produce 2-oxo-4-valerolactona a partir de ácido 4-hidroxi-2-oxo-pentanoico, en presencia de un catalizador, después de la separación del ácido 4-hidroxi-2-oxo-pentanoico del caldo de fermentación o solución libre de células.



Figura 6. Diagrama de bloques del proceso por hidrólisis enzimática.

Paso 3: reducción del ácido 4-hidroxi-2-oxo-pentanoico a ácido 2,4-dihidroxi-pentanoico

Entre la amplia variedad de deshidrogenasas naturales, se puede seleccionar deshidrogenasas con especificidad de sustrato que tolera el ácido 4-hidroxi-2-oxo-pentanoico y el ácido 2,4-dihidroxi-pentanoico.

El ácido 4-hidroxi-2-oxo-pentanoico se reduce selectivamente a ácido 2,4-dihidroxi-pentanoico usando catálisis química homogénea o heterogénea. El ácido 2,4-dihidroxi-pentanoico puede o no separarse/purificarse de la fermentación o solución libre de células para completar este paso.

Preferiblemente, el ácido 2,4-dihidroxi-pentanoico se separa de la solución o caldo de fermentación antes de someterse posteriormente a dicha reducción. Se usa una deshidrogenasa dependiente de NAD (P) H para catalizar la reducción de la cetona en la posición dos en ácido 4-hidroxi-2-oxopentanoico. Dicha deshidrogenasa reduce la cetona con un alto grado de especificidad de sustrato para ácido 4-hidroxi-2-oxo pentanoico y alta regioselectividad para la cetona en la segunda posición.

Paso 3': ciclación del ácido 2,4-dihidroxi-pentanoico a 2-hidroxi 4-valerolactona

El ácido 2,4-dihidroxi-pentanoico se cicla en 2-hidroxi-4-valerolactona. En soluciones ácidas a neutras, el equilibrio termodinámico se encuentra hacia la ciclación a 4-valerolactona.

La 2-hidroxi-4-valerolactona se produce a partir del ácido 2,4-dihidroxi-pentanoico, en presencia de un catalizador, después de la separación del ácido 2,4-dihidroxi-pentanoico del caldo de fermentación o solución libre de células. La lactonización del ácido 2,4-dihidroxi-pentanoico a 2-hidroxi-4-valerolactona es catalizada directamente por una lipasa o esterasa o proteasa o lactonasa, o mutantes de la misma.

Paso 4: oxidación del ácido 2,4-dihidroxi-pentanoico a ácido 4-oxo-2-hidroxi-pentanoico

El ácido 2,4-dihidroxi-pentanoico se oxida selectivamente a ácido 4-oxo-2-hidroxi-pentanoico usando catálisis química homogénea o heterogénea. Dicho ácido puede o no separarse/purificarse de la fermentación o solución libre de células para completar este paso. Preferiblemente, el ácido 4-oxo-2-hidroxi-pentanoico se separa de la solución o caldo de fermentación antes de someterse posteriormente a dicha oxidación.

Paso 5: deshidratación del ácido 4-oxo-2-hidroxi-pentanoico a ácido 4-oxo-2-pentenoico

Clásicamente, la deshidratación química se logra con catálisis homogénea o heterogénea, con temperatura mayor de 100 °C, ácido concentrado (ácido sulfúrico) y/o catalizador de óxido metálico (óxidos de zinc o aluminio). El ácido 4-oxo-2-hidroxi-penta-

noico obtenido después de las etapas de reducción y oxidación se deshidrata químicamente en ácido 4-oxo-2-pentenoico mediante catálisis homogénea o heterogénea. Preferiblemente, el ácido 4-oxo-2-hidroxi-pentanoico se separa de la solución o caldo de fermentación antes de someterse a dicha deshidratación.

Alternativa a los pasos 4 y 5

Alternativamente a una conversión en dos etapas de ácido 2,4-dihidroxi-pentanoico a ácido 4-oxo-2-pentenoico, se puede lograr una conversión de una etapa usando una deshidratación oxidativa. Las llamadas enzimas 4,6 deshidratasa, tales como UDP-GlcNAc-4,6-deshidratasa inversora, se usan para catalizar la deshidratación oxidativa del ácido 2,4-dihidroxipentanoico a ácido 4-oxo-2-pentanoico.

Paso 6: reducción de ácido 4-oxo-2-pentenoico a ácido 4-oxo-pentanoico (ácido levulínico)

Los dobles enlaces en alquenos sustituidos se pueden reducir (hidrogenar) para obtener los alcanos saturados correspondientes. Los alquenos sustituidos pueden reducirse usando catálisis química o, por lo general asimétricamente, utilizando biocatalizadores tales como enoatoredutasa asimétrica de enlaces C=C activados con enoatoredutasa de la familia de enzimas amarillas antiguas. Se usa una enzima enoatoredutasa para reducir el ácido 4-hidroxi-2-oxo-pentanoico en ácido levulínico.

En el caso de azúcares C6, el rendimiento de carbono puede ser de hasta 80 %. En el caso de los azúcares C5, el rendimiento de carbono puede ser teóricamente hasta 100 %. Si el método emplea una cepa microbiana capaz de lograr la fermentación simultánea de C5 y C6 tal como, *Saccharomyces cerevisiae* y *Pichia stipitis*, se obtiene la fermentación directa de azúcares a ácido levulínico, 4-valerolactona o cualquiera de los compuestos. Este alto rendimiento alcanzable presenta una ventaja industrial decisiva en comparación con métodos termoquímicos alternativos para la obtención de ácido levulínico o gamma-valerolactona.

Aplicaciones industriales del ácido levulínico (AL)

El ácido levulínico es una plataforma muy versátil para la obtención de productos químicos y materiales derivados directamente de biomasa (1). Se usa como precursor para:

- Aditivos de combustibles. Los ésteres de levulínato son aditivos empleados en diésel y gasolina. Por ejemplo, pueden reemplazar los actuales potenciadores del índice de cetano y a productos empleados como lubricantes. El 2-metiltetrahydrofurano (MeTHF), derivado del ácido levulínico, puede ser mezclado hasta con un 50 % de gasolina para mejorar el rendimiento del vehículo y re-

Tabla 1. Obtención del ácido levulínico por vía química y enzimática

	Hidrólisis química	Hidrólisis enzimática
Tecnología	Hidrólisis con ácido concentrado y diluido a altas temperaturas y presión	Varios pasos de conversión enzimática
Complejidad	Más sencillo	Más complejo
Rendimientos	• Biofine 70 % • Hidrólisis química de algas rojas 42,8 %	• SIRE y BE > 58 % • Multietapa enzimática < 80 %
Compatibilidad con el medio ambiente	Residuales altamente contaminantes	Residuales con menor índice de contaminación
Costos	Asociados al equipamiento que necesita altas temperaturas y altas presiones	Asociados al costo de las enzimas

- ducir así las emisiones de gases contaminantes.
- Polímeros y plastificantes. Los ésteres de cetales derivados del ácido levulínico pueden reemplazar a la mayor parte de los plastificantes basados en ftalatos. El metilbutanodiol (MeBDO) tiene potencial para ser empleado como monómero en la fabricación de poliuretanos. La γ -valerolactona (GVL) puede utilizarse como monómero en la síntesis de poliésteres así como precursor de los isómeros de la pirrolidona.
 - Disolventes. Los ésteres del ácido levulínico, la GVL y el MeTHF son disolventes óptimos en muchas aplicaciones. La GVL puede reemplazar al acetato de etilo, y el MeTHF puede ser utilizado como sustituto del tetrahidrofurano (THF) en la química fina y en la industria farmacéutica.
 - Resinas y recubrimientos. El ácido levulínico se puede adicionar a resinas de poliéster y polioles de poliéster, incrementando así la resistencia al rayado de los recubrimientos obtenidos.
 - Productos farmacéuticos. El ácido levulínico se usa en medicamentos antiinflamatorios, en anti-lergénicos, así como en suplementos minerales.
 - Productos agroquímicos. El ácido deltaaminolevulínico (DALA) se usa como herbicida en pastos y cultivos.
 - Industria alimentaria. Los ésteres del ácido levulínico se suelen emplear como aditivos alimenticios y como potenciadores de sabor.
 - Cuidado personal. El ácido levulínico y sus derivados se usan en cosméticos naturales, en perfumes y reguladores del pH para la piel.

Análisis de la revisión bibliográfica

Existen diferentes métodos para la obtención del ácido levulínico ya sea por la vía química o en-

zimática. Sin embargo, la tecnología más común es la hidrólisis ácida de la biomasa lignocelulósica. Bajo estas condiciones, la celulosa se convierte en azúcares de 5 y 6 carbonos: los C6 se convierten a hidroximetilfurfural (HMF) y este a su vez se convierte en ácido levulínico y ácido fórmico; los C5 se descomponen en furfural que puede ser utilizado tal cual o convertido a ácido levulínico. Este proceso tiene la ventaja, de contar en Cuba con experiencia de producción de la hidrólisis del bagazo para la obtención del furfural y existir tecnologías que pudieran evaluarse con este objetivo. Este proceso demostrado en la tecnología Biofine obtiene un rendimiento aproximado del 70 % en la producción de ácido levulínico. Un resumen del análisis de esta información se muestra en la tabla 1.

CONCLUSIONES

1. El método de producción de ácido levulínico que mayormente se utiliza en la actualidad es la hidrólisis química del bagazo. Este proceso tiene la ventaja en Cuba de contar con una planta industrial para la producción de furfural que pudiera evaluarse técnica y económicamente para la producción de ácido levulínico.
2. La producción de ácido levulínico por hidrólisis ácida del bagazo según la tecnología Biofine obtiene un rendimiento aproximado del 70 %, el mayor comparado con 42.88 % de ácido levulínico que se logra por la hidrólisis ácida a partir de las algas rojas *Gelidium amansii*. La hidrólisis enzimática por el método SIRE y BE obtiene rendimientos que superan el 58 %, pero no se informa el máximo obtenido en la producción de ácido levulínico.

El método de obtención por vía enzimática implica una o más etapas enzimáticas llevadas a cabo en un sistema libre de células, estando los diversos compuestos intermedios en la ruta opcionalmente separados y/o purificados del caldo de fermentación según sea necesario para completar el proceso. En el caso de azúcares C6, el rendimiento de carbono puede ser de hasta 80 %.

3. Estas consideraciones permiten concluir que la producción de ácido levulínico por la vía bioquímica requiere de recursos de investigación especializados en cuanto a equipamiento y reactivos, de poca disponibilidad en las condiciones actuales

de investigación del ICIDCA, sin embargo, se reconoce que el trabajo en esta línea de proyecto es de interés para los objetivos de diversificación y obtención de nuevas moléculas que permitan procesos y productos más amigables con el medio ambiente.

4. No existen antecedentes de procesos industriales con tecnologías bioquímicas para la producción de ácido levulínico. Este proceso requiere de múltiples etapas enzimáticas que conviertan azúcares en ácido levulínico vía piruvato.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sanz, F. H. (2016). Tipos de catalizadores y procesos catalíticos en la conversión de ácido levulínico a productos con aplicación industrial. Máster universitario en ciencia y tecnología química Trabajo de Fin de Máster, Facultad de Ciencias. UNED.
 2. Morales, G. (2013). "Aprovechamiento de biomasa lignocelulósica: proceso BIOFINE." Energía y Sostenibilidad Retrieved 6/7/2018, 2018, from <http://www.madrimasd.org/blogs/energiasalternativas/2013/05/17/132031>
 3. Area, M. C. y Vallejos, M.E. (2016). Bio-productos y bio-materiales a partir de la biorrefinería de residuos agro y forestoindustriales. Panorama de la industria de celulosa y papel y materiales lignocelulósicos. S. W. P. María Cristina Area. Posadas, Argentina, Universidad Nacional de Misiones.
 4. Minsu, K., K.; Wook, S.; Jin-Woo, K.; Hyun, K. T. y Seok, K. J. (2013). Optimization of levulinic acid production from *Gelidium amansii*. Renewable Energy. Seoul, Republic of Korea: 173-179.
 5. Galletti, A. M. R.; Antonetti, C.; Luise, V. D.; Licursi, D. y Nasso, N. N. (2012). Levulinic acid production from waste biomass. Bioresources. Pisa, Italy: 1824-1835.
 6. Zanghellini, A. L. (2012). Fermentation route for the production of levulinic acid, levulinate esters, valerolactone, and derivatives thereof. I. Bureau. Canada. WO 2012/030860 A1.
-