

REFUERZO LÍQUIDO

El uso de una dosis única de compuestos naturales en los cultivos de caña de azúcar puede dar lugar a un aumento en la producción de etanol de segunda generación

Marcos Pivetta

PUBLICADO EN MARZO DE 2023





Un montículo de bagazo de caña de azúcar en una central del interior del estado de São Paulo: este residuo puede utilizarse en la elaboración del etanol de segunda generación

La aplicación de una dosis única de compuestos naturales puede provocar cambios sutiles en las paredes celulares de la caña de azúcar aumentando la eficiencia del proceso de obtención de etanol de segunda generación, que en Brasil se produce a partir del bagazo y la paja de este cultivo. Un artículo publicado en diciembre del año pasado en la revista científica *Biomass and Bioenergy* sugiere que este tipo de procedimiento puede dar lugar a un aumento de un 120 % del índice de sacarificación del bagazo de la caña de azúcar al cabo de 12 meses, al momento de la zafra. También denominada hidrólisis, la sacarificación es el proceso químico que, mediante el uso de enzimas, convierte a las moléculas complejas de hidratos de carbono como la celulosa y la hemicelulosa, que no fermentan, en azúcares simples como la sacarosa, capaces de transformarse en etanol.

“De aplicárselos en exceso, estos compuestos pueden matar a una planta, pero en los experimentos de campo utilizamos dosis muy bajas, que se eliminan rápidamente y, aun así, promueven los cambios que buscamos”, dice el bioquímico Wanderley Dantas dos Santos, de la Universidad Estadual de Maringá (UEM), autor principal del artículo. “No detectamos ningún efecto colateral indeseable: las plantas crecieron normalmente y no se registraron pérdidas de productividad”. Dantas dos Santos estudia esta estrategia desde 2008, cuando realizó una pasantía posdoctoral en el equipo del botánico Marcos Buckeridge en el Instituto de Biociencias de la Universidad de São Paulo (IB-USP).

Desde la óptica de los autores del trabajo, este enfoque, denominado ingeniería fisiológica, sería

una alternativa más sencilla que tratar de promover alteraciones en el ADN de la caña con el propósito de conseguir que su biomasa fermenta con mayor facilidad. El genoma de la caña de azúcar es extenso y complejo, contiene más de 100 cromosomas, varios de ellos repetidos, una característica que dificulta la creación de linajes transgénicos viables. La obtención del etanol de primera generación, que representa más del 98 % de la producción nacional de este biocombustible, no requiere de la etapa de hidrólisis o sacarificación. Los azúcares del jugo de la caña de azúcar o de la melaza fermentan naturalmente.

Más allá de los resultados positivos con el bagazo de la caña, el tratamiento con estas sustancias incrementó en un 36 % la sacarificación de la soja 90 días después de la aplicación de los compuestos. En el caso del pasto *Brachiaria*, utilizado como pastura para el ganado bovino, el aumento fue de un 21 % al cabo de 40 días de haber utilizado los compuestos. “El objetivo principal del experimento era la caña de azúcar, pero este procedimiento también puede producir un pasto aparentemente más fácil de digerir y una soja con una cáscara más resistente al impacto mecánico, algo deseable para la industria”, comenta Buckeridge, coordinador del equipo del estudio y del Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología del Bioetanol, financiado por la FAPESP y por el Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (CNPq) de Brasil. El trabajo también contó con el apoyo del Centro de Investigación e Innovación en Gases de Efecto Invernadero (RCGI), una iniciativa financiada por la Fundación y por la multinacional Shell, del área del petróleo y la energía.

Se probaron tres compuestos que funcionan como inhibidores de enzimas asociadas a la sín-

tesis de la lignina en la caña de azúcar y otras plantas: ácido metilendioxicinámico (MDCA), ácido piperónico (PIP) y daidzeína (DZN). Junto con la celulosa y la hemicelulosa, la lignina, una molécula aromática, está presente en las paredes celulares de las plantas terrestres, a las que les confiere resistencia mecánica y rigidez, además de oficiar como barrera al ingreso de patógenos. Si no existiera la lignina, las plantas, literalmente, no podrían mantenerse erguidas y no tendrían un sistema vascular impermeable capaz de transportar agua desde las raíces hasta su tronco.

Los compuestos se diluyeron en agua en diferentes dosis y se los roció sobre las hojas y las raíces de las plantas en distintas etapas de su crecimiento. Al final del experimento, los investigadores determinaron el mejor momento y la dosis más eficaz para la aplicación de las sustancias. El PIP fue el compuesto que ofreció un mejor rendimiento.

Grosso modo, la mitad del bagazo de la caña de azúcar está compuesto por celulosa, una cuarta parte por hemicelulosa y el cuarto restante por lignina. Aunque esencial para la planta, la lignina es un compuesto que dificulta la obtención de etanol de segunda generación. Al no ser un azúcar, no fermenta. Pero ese no es el problema. Su presencia en la biomasa de la caña hace más complejo y costoso el proceso de transformar los carbohidratos largos de la celulosa y la hemicelulosa, originalmente no fermentables, en azúcares simples, aptos para transformarse en etanol. Además de lo trabajoso que resulta separarla de la celulosa y la hemicelulosa presentes en la pared celular, la lignina produce sustancias que dificultan el proceso químico de sacarificación.

Hoy en día, para que se produzca la hidrólisis de la biomasa de la caña de azúcar, se le aplican tratamientos térmicos y un cóctel de enzimas al bagazo de la planta. Esta etapa es la que más encarece el proceso de producción del etanol de segunda generación y representa al menos un 30 % de su costo final. “Sencillamente, no es posible reducir la cantidad de lignina de una planta. Esto sería perjudicial para el organismo”, comenta Buckeridge. “Cuando examinamos en el microscopio las paredes celulares de la caña de azúcar sometida al tratamiento con los compuestos, no observamos ninguna diferencia. Las alteraciones serían muy sutiles”.

En el artículo, los investigadores dicen que el uso de los compuestos no redujo la cantidad total de lignina en el bagazo de la caña. Tampoco modificó su composición. Sin embargo, descubrieron que la concentración de este polímero orgánico presentaba cambios en los diferentes tejidos de la planta. Era levemente mayor en la parte fibrosa

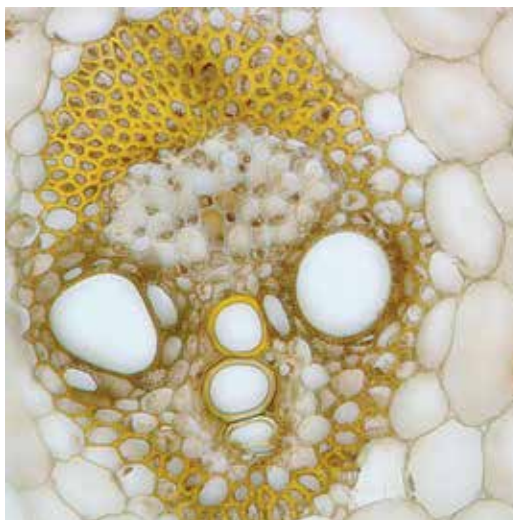


Imagen de microscopía electrónica que muestra la presencia de lignina (pintada de amarillo) en las paredes celulares del tallo de la caña de azúcar

y en los vasos conductores y disminuía en el parénquima, un tejido de relleno de los vegetales. Es probable que esta redistribución de la lignina en las diferentes partes de la caña de azúcar haya sido la responsable de la mayor eficiencia de sacarificación registrada en el estudio.

Para el bioquímico Mario Murakami, director científico del Laboratorio Nacional de Biorrenovables (LNBR), de Campinas, vinculado al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (MCTI), de Brasil, el empleo de compuestos que modulan la síntesis de la lignina es un enfoque interesante para tratar de aumentar la eficiencia del proceso de obtención de etanol de segunda generación. Él considera que los resultados presentados por sus colegas de la UEM y la USP son prometedores, pero necesitan ser validados en las condiciones que habitualmente emplea la industria. “Estos experimentos deben llevarse a cabo en condiciones similares a las que utilizan las empresas que producen etanol de segunda generación para comprobar si el aumento de la sacarificación

Las plantas de caña de azúcar que fueron tratadas con moduladores de lignina en la localidad de Maringá, Paraná



EN BUSCA DE UN CÓCTEL DE ENZIMAS MEJOR

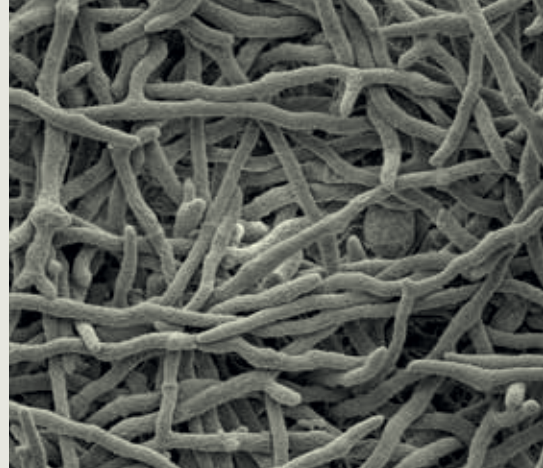
La degradación de las paredes celulares de la caña de azúcar en azúcares fermentables depende de la acción de este producto

El uso de un cóctel enzimático que promueva la hidrólisis de la celulosa y la hemicelulosa constituye un paso esencial para la producción de etanol de segunda generación. Mediante la acción de un conjunto de enzimas, los carbohidratos largos y complejos de esos dos componentes del bagazo de la caña de azúcar se descomponen en azúcares menores tales como glucosa y xilosa, que pueden fermentarse. El mercado de enzimas para esta finalidad está dominado por la empresa danesa Novozymes. “El empleo del cóctel enzimático representa entre un 30 % y un 50 % del costo de producción final del etanol de segunda generación”, dice el bioquímico Mario Murakami, director científico del Laboratorio Nacional de Biorrenovables (LNBR). Es por ello que grupos de investigación brasileños buscan alternativas más baratas e, idealmente, más eficientes que los productos actualmente disponibles.

Mediante el empleo de la técnica de edición genómica Crispr-Cas9, un equipo coordinado por Murakami modificó en 2019 seis genes del hongo *Trichoderma reesei* para maximizar su producción de enzimas de interés biotecnológico,

especialmente las que se emplean para la hidrólisis de biomasa vegetal. Los hongos de este género se utilizan para la elaboración del cóctel enzimático que se comercializa para promover la sacarificación del bagazo de la caña de azúcar y hacer posible la producción de etanol de segunda generación. En un trabajo publicado a finales de 2022 en la revista *Bioresource Technology*, los investigadores del LNBR informaron que consiguieron reducir el tiempo de producción de las enzimas de 14 a 9 días. “Nuestro cóctel enzimático es barato y estable. La caducidad del producto es de un año a temperatura ambiente”, dice Murakami. Ya ha sido probado en la planta piloto del laboratorio y consiguió degradar aproximadamente un 60 % de los hidratos de carbono largos de la biomasa de la caña de azúcar, un rendimiento similar al que presentan algunos de los productos comerciales.

Para el botánico Marcos Buckeridge, del Instituto de Biociencias de la Universidad de São Paulo (IB-USP), hay que utilizar diferentes microorganismos para tratar de producir cócteles enzimáticos que promuevan una hidrólisis más



Se modificaron seis genes del hongo *Trichoderma reesei* para mejorar su acción degradadora de las paredes celulares de la caña de azúcar

3

simple y más eficiente. Aparte del conocido *T. reesei*, se han estudiado como posibles fuentes de enzimas otros hongos de origen amazónico, insectos tales como las cucarachas y la propia caña de azúcar, que podrían ser útiles para mejorar este proceso. “El origen de las enzimas no es relevante”, comenta el investigador de la USP. “Lo que necesitamos es dominar la tecnología de producción de un cóctel enzimático eficiente. El alto costo del producto importado ahuyenta las inversiones en el segmento del etanol de segunda generación”.

se mantiene y no hay pérdida de eficiencia en el proceso”, comenta Murakami. “También se necesita saber cuál sería el impacto eventual del uso de estos compuestos en el costo de producción del etanol de segunda generación”.

Estos interrogantes pronto serán dilucidados. Dantas dos Santos y Buckeridge informan que Raízen, una de las empresas que producen etanol de segunda generación en Brasil (la otra es GranBio), comenzará a realizar ensayos con el empleo de los compuestos moduladores de la lignina en un área de producción piloto en este mismo semestre. “Es posible que de aquí a un año tengamos una noción más clara al respecto de si el aumento de la sacarificación se mantiene en una producción comercial”, estima el investigador de la UEM. El nuevo experimento que lleva a cabo la empresa, una *joint-venture* de Shell y el grupo empresarial brasileño Cosan, forma parte de las actividades de investigación del RCGI.

Los investigadores que participan en los estudios apuestan a que los moduladores de la lignina, que también pueden producirse en forma sintética en laboratorio, en el futuro podrían conver-

tirse en un producto comercial para el sector del azúcar y alcohol y, tal vez, para otros segmentos del agro. Ya han obtenido una patente del uso en cultivos agrícolas en Brasil, y Dantas dos Santos, junto a un grupo de alumnos del Departamento de Bioquímica de la UEM, crearon una *startup* –BioSolutions– para intentar comercializar los compuestos. La empresa creada en 2021 cuenta con el respaldo del Servicio Brasileño de Apoyo a las Micro y Pequeñas Empresas (Sebrae) del estado de Paraná y del Instituto Tim. ■

Proyectos

1. INCT 2014: Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología del Bioetanol (n° 14/50884-5); **Modalidad** Proyecto Temático; **Convenio** CNPq-INCT; **Investigador responsable** Marcos Buckeridge (USP); **Inversión** R\$ 5.261.561,47.
2. Centro de Investigación e Innovación en Gases de Efecto Invernadero –RCG2I (n° 20/15230-5) **Modalidad** Programa de Centros de Investigaciones en Ingeniería; **Convenio** BG E&P Brasil (Grupo Shell); **Investigador responsable** Julio Meneghini (USP); **Inversión** R\$ 13.604.936,28.

Artículo científico

SANTOS, W. D. *et al.* Natural lignin modulators improve lignocellulose saccharification of field-grown sugarcane, soybean, and brachiaria. **Biomass and Bioenergy**. 5 dic. 2022.