



PRODUCCIÓN DE BIOETANOL 2G A PARTIR DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES DE BASE CELULÓSICA

Delaloye, Guido

Grupo de Procesos Biológicos en Ingeniería Ambiental. Depto. de Medio Ambiente de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Hídricas (FICH-UNL).

Director/a: Comelli, Raul N. (Dr.)

Codirector/a: Seluy, Lisandro G. (Dr.)

Área: Ciencias Biológicas

Palabras claves: Bioetanol, Lignocelulosa, Inhibidores

INTRODUCCIÓN

Los combustibles de origen biológico o “biocombustibles” representan una de las alternativas más prometedoras frente a la utilización de combustibles fósiles tradicionales (petróleo y carbón) ya que constituyen una fuente de energía renovable, poseen bajo impacto ambiental y son económicamente competitivos.

En la actualidad, el bioetanol que se comercializa es denominado de primera generación, el cual se produce a partir de la fermentación de los azúcares de la caña de azúcar y maíz principalmente. Esto genera un conflicto ya que el uso de estas materias primas origina competencia por la tierra fértil, que es utilizada para la producción de alimentos, ocasionando inconvenientes económicos como aumento de precios y también daños ecológicos. Por lo tanto, las investigaciones recientes se basan en explotar sustratos alternativos como la biomasa lignocelulósica para su producción (bioetanol de segunda generación), la cual puede provenir de residuos agrícolas, forestales, de la industria papelera y subproductos de la industria alimentaria.

OBJETIVOS

Evaluación de la factibilidad técnica y ambiental de emplear diferentes residuos agroindustriales de base celulósica para la producción de bioetanol 2G.

Caracterización de diferentes residuos agroindustriales, a fin de conocer su composición y potencialidad como materia prima.

Título del proyecto: “Producción de compuestos con valor agregado empleando efluentes y subproductos agroindustriales como materia prima renovable”.

Instrumento: PICT - Temas estratégicos

Año convocatoria: 2017

Organismo financiador: Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica – ANPCyT

Director/a: Comelli, Raúl Nicolás

METODOLOGÍA

El presente proyecto apunta al desarrollo y optimización de un proceso de base biotecnológica para la producción de bioetanol empleando residuos agroindustriales de base celulósica como materias primas renovables y de bajo costo.

En varias industrias manufactureras y explotaciones agropecuarias se generan enormes cantidades de residuos y efluentes de base celulósica. La mayoría de estos residuos se destinan a alimento para el ganado, generando problemas frecuentes de almacenamiento y disposición. Sin embargo, podrían ser aprovechados para la producción de bioetanol, uno de los biocombustibles de mayor demanda en la actualidad.

Se evaluó primariamente la composición de varias materias primas, a saber: cáscaras de los principales cítricos de nuestro país (naranja, pomelo, limón y mandarina), bagazo de la industria cervecera, cascarilla de soja, caña común (*Arundo donax*), cáscara de papa, cascarilla de girasol, pasto varilla (*Panicum virgatum*) y yerba mate. Para dicha evaluación se aplicó un método termoquímico (hidrólisis química) recomendado por el National Renewable Energy Laboratory (NREL) de Estados Unidos. Su tratamiento con ácido sulfúrico al 1% m/v y alta temperatura durante 1 hora tuvo como objetivo romper los enlaces intra e intermoleculares de la estructura de la celulosa. Se analizó la fracción líquida del hidrolizado cuantificando glucosa (kit enzimático), pentosas, (espectrofotometría) y polifenoles (espectrofotometría), mientras que el hidroximetilfurfural (HMF) y el furfural se determinaron mediante cromatografía (HPLC).

Seguidamente se sometieron las siguientes materias primas hidrolizadas a una sacarificación enzimática: cáscara de naranja, cáscara de pomelo, cáscara de mandarina, bagazo de cervecera y cascarillas de soja. Se elevó el pH de cada hidrolizado hasta 5 con una solución de NaOH (10 N) y se agregó directamente a cada reactor un complejo enzimático comercial con actividad celulasa (Novozyme, Cellic CTec2®) siguiendo las recomendaciones del proveedor en cuanto a la relación de masa de enzimas/masa de sólidos y se mantuvieron en agitación a 50°C durante 48 horas, tomando muestras en intervalos de 4 horas. Nuevamente se cuantificaron los parámetros anteriormente mencionados.

Al término de la hidrólisis enzimática, los reactores fueron inoculados con dos cepas diferentes de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (cepa Windsor y cepa TMB3500) a una concentración inicial de 1 g/l suplementadas con nutrientes específicos (fosfato de amonio). Se mantuvieron en agitación a 30°C durante 24 horas, tomando muestras en intervalos de 2 horas, cuantificando sus concentraciones de glucosa, pentosas, y etanol. La producción de etanol se estimó mediante un equipo estático desarrollado por el Grupo de Trabajo en base a un sensor de SnO₂, a partir de una curva de calibrado construida con concentraciones conocidas de etanol absoluto.

RESULTADOS

En primer lugar se obtuvieron los siguientes resultados sobre glucosa enzimática de las caracterizaciones elaboradas mediante protocolo NREL luego de la hidrólisis enzimática: 0.37 gGlucosa/gCáscaraNaranja, 0.12 gGlucosa/gCáscaraPomelo, 0.07 gGlucosa/gPulpaLimon, 0.23 gGlucosa/gCáscaraMandarina, 0.20 gGlucosa/gBagazoCerveza, 0.34 gGlucosa/gCascarillaSoja, 0.15 gGlucosa/gCañaComún, 0.24 gGlucosa/gCáscaraPapa, 0.12 gGlucosa/gCáscarillaGirasol, 0.22 gGlucosa/gPastoVarilla, y 0.11 gGlucosa/gYerbaMate para los reactores ensayados.

Seguidamente se obtuvieron los siguientes resultados sobre pentosas de las caracterizaciones elaboradas mediante protocolo NREL luego de la hidrólisis enzimática: 0.11 gPentosas/gCáscaraNaranja, 0.12 gPentosas/gCáscaraPomelo, 0.03 gPentosas/gPulpaLimon, 0.13 gPentosas/gCáscaraMandarina, 0.32 gPentosas/gBagazoCerveza, 0.15 gPentosas/gCascarillaSoja, 0.21 gPentosas/gCañaComún, 0.03 gPentosas/gCáscaraPapa, 0.17 gPentosas/gCáscarillaGirasol, 0.25 gPentosas/gPastoVarilla, y 0.14 gPentosas/gYerbaMate para para los reactores ensayados.

Asimismo, los resultados obtenidos sobre etanol para los ensayos tratados con 1% de H₂SO₄, concentración de 10% de sólidos y fermentados con *Sc. cerevisiae* fueron de 0.07 gEtanol/gCáscaraNaranja, 0.13 gEtanol/gCáscaraPomelo, 0.02 gEtanol/gPulpaLimon, 0.12 gEtanol/gCáscaraMandarina, 0.04 gEtanol/gBagazoCerveza, 0.13 gEtanol/gCascarillaSoja, 0.04 gEtanol/gCañaComún, 0.03 gEtanol/gCáscarillaGirasol, 0.04 gEtanol/gPastoVarilla, y 0.04 gEtanol/gYerbaMate para para los reactores ensayados.

Finalmente se determinó el porcentaje de consumo de glucosa en cada reactor, los cuales fueron de 30% para el de cáscara de naranja, 100% para el de cáscara de pomelo, 100% para el de pulpa de limón, 100% para el de cáscara de mandarina, 95.32% para el de bagazo de cerveza, 100% para el de cascarilla de soja, 97.67% para el de caña verde (*Arundo donax*), 100% para el de cascarilla de girasol, 97.51% para el de pasto varilla (*Panicum virgatum*), y 29.63% para el de yerba mate.

CONCLUSIONES

Se concluye que es técnicamente factible aplicar la fermentación alcohólica para la producción de bioetanol de segunda generación empleando residuos agroindustriales lignocelulósicos como materia prima renovable.

Se confirma consecuentemente la producción de etanol a partir de cáscara de naranja, cáscara de pomelo, pulpa de limón, cáscara de mandarina, bagazo de cervecería, cascarilla de soja, caña verde (*Arundo donax*), cascarilla de girasol, pasto varilla (*Panicum virgatum*), y yerba mate mediante las técnicas antes mencionadas. Lo anteriormente mencionado representa un primer aporte para el desarrollo y optimización de un proceso robusto y sostenible de producción.

Además, queda pendientes los estudios correspondientes a las diferencias de rendimiento entre biomásas (atribuido a la presencia de inhibidores en el medio), y de procesos que involucre inóculos mixtos, capaces de producir in situ las enzimas requeridas por el proceso.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

Comelli et al.(2016b). *Performance of several Saccharomyces strains for the alcoholic fermentation of sugar-sweetened high-strength wastewaters: comparative analysis and kinetic modeling*. New Biotechnology 33:6, 874-882.

Comelli et al. (2016a) *Optimization of a low-cost defined medium for alcoholic fermentation - A case study for potential application in bioethanol production from industrial wastewaters*. New Biotechnology 33:1, 107–15.

Comelli et al. (2015). *Treatment of high-strength wastewater from the sugar-sweetened beverage industry by an alcoholic fermentation process*. Industrial & Engineering Chemistry Research 54:31,

7687-93.

Dubois et al. (1956). *Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances*. Anal. Chem. 28(3): 350-356.

Eaton et al. (2005). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 20th ed. American Public Health Association, USA.

Edwards y Doran-Peterson (2012). *Pectin-rich biomass as feedstock for fuel ethanol production*. Appl. Micro-biol. Biotechnol 95: 565–75. /

Isla et al. (2013). *Wastewater from the soft drinks industry as a source for bioethanol production*. Bioresource Technology 136, 140-147.

Menon y Rao (2012). *Trends in bioconversion of lignocellulose: Biofuels, platform chemicals & biorefinery concept*. Prog Energy Combust., 38, 522-50.

Miller (1959). *Use of Dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar*. Anal. Chem. 31: 426-428.

Mood et al. (2013). *Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment*. Renew sustenerg rev. 27: 77–93.

Seluy e Isla (2014). *A Process To Treat High-Strength Brewery Wastewater via Ethanol Recovery and Vinasse Fermentation*. Industrial & Engineering Chemistry Research 53:44, 17043-50.

Stelte (2014). *Steam explosion for biomass pretreatment*. ResultatKontrakt (RK) Report . Danish Technological Institute.

Wheals et al. (1999). *Fuel ethanol after 25 years*. Trends Biotechnol. 17: 482-7.

Zhao et al. (2012). *Bioethanol from Lignocellulosic Biomass*. Adv. Biochem En-gin/Biotechnol 128: 25-51