

OBTENCION EXPERIMENTAL DE BIOETANOL POR APLICACIÓN DE TECNOLOGIA DE COCCION FRIA CON ALTA CONCENTRACIÓN DE SÓLIDOS.

L. A. Toselli ⁽¹⁾, R. A. Beltrán ⁽¹⁾, A. Gallardo ⁽²⁾, D. M. Bosco ⁽²⁾, M. V. Monesterolo ⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Grupo de Inv. en Simulación para Ing. Química, GISIQ, FRVM de la UTN, Av. Universidad 450, Villa María, Argentina

⁽²⁾ Ingeniería de proyectos. Área de investigación y desarrollo, Porta Hnos. S.A., Camino a San Antonio km 4,5, Cba, Argentina
e-mail de contacto: gisiqu@frvm.utn.edu.ar

Introducción

El proceso de molienda seca, empleando enzimas hidrolizantes del almidón cocido –HACC– es el principal método de producción de bioetanol en Argentina y requiere un consumo intensivo de agua y energía. Otros factores que influyen en el rendimiento son: tipo de sustrato, temperatura y pH, porcentaje de sólidos en suspensión, tiempo de fermentación, tipos de enzima, levaduras y nutrientes añadidos (Lin et al., 2012). La molienda seca con enzimas hidrolizantes de almidón crudo –HACF– es similar al anterior, pero difiere en las enzimas y condiciones de pretratamiento. En ambos el material amiláceo es molido y suspendido en agua en una mezcla con 30% o más de sólidos. Wang et al, 2007, han analizado que la aplicación de las enzimas hidrolizantes del almidón crudo impactan en reducciones de la demanda de energía. Otras investigaciones evaluaron opciones que reducen las dosis de enzimas requeridas manteniendo el rendimiento de etanol (Cinelli et al, 2015) (Robertson et al, 2006). El pretratamiento de gránulos de almidón crudo se lleva a cabo a temperaturas inferiores a 50 °C, sin gelatinización a alta temperatura que actúa como esterilización. Esto, haría que el proceso HACF sea potencialmente más vulnerable para la contaminación bacteriana, demandando el uso de agentes específicos y/o condiciones de bajo pH (Lam et al, 2014).

Ensayos experimentales con HACF: análisis de resultados

Se realizaron ensayos seriales a efectos de evaluar esta tecnología que abarcaron las distintas etapas, desde molienda hasta fermentación analizando diferentes variables (granulometría y concentración de sólidos, tipos y dosis de enzimas, temperaturas y pH de pretratamiento y fermentación) utilizando cereales de interés regional. Las experiencias fueron realizadas en forma conjunta con el área de ingeniería de la empresa, en el contexto de convenios existentes para la realización de actividades de I+D.

Se emplearon bioreactores de laboratorio (3 l) y planta piloto (150 l), con sistemas de calefacción/refrigeración con control de temperatura y agitación con regulación de RPM, múltiples bocas para alimentación, dosificación, sensado de variables y/o toma de muestras. En los pretratamientos se utilizó la enzima GC626 Acid Alpha Amylase™ que contiene α -amilasa, operando 60 minutos a 48 °C y pH 4,2. Seguido de sacarificación y fermentación simultánea (SFS) durante 60 horas a 33 °C y pH 4,2. Se utilizó STARGENT™ 002, coctel de α -amilasa y glucoamilasa para la hidrólisis del almidón crudo y levaduras Ethanol Red™ aptas para fermentaciones con altos contenido de sólidos (Uthumporn et al, 2010) (Puligundla et al, 2011) (Niu et al, 2017). Para el seguimiento de la evolución composicional de la hidrólisis y fermentación se

utilizó un equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC Agilent-1260 Infinity Manual. Columna Rezex ROA-Organic Acid H+ 8%- Fase Móvil H₂SO₄ 0,005N). Como principales resultados se menciona: determinación de una relación directa entre granulometría de molienda y dosis de enzima que impacta en la concentración final del producto. Los sólidos totales se incrementaron de manera creciente hasta el 32 %, observándose un aumento progresivo de viscosidad que genera ciertos inconvenientes de mezclado (sedimentación). Un límite superior podría establecerse analizando conjuntamente los parámetros: concentración y granulometría de sólidos, viscosidad y proporción de enzima requerida. La conversión a glucosa fue eficiente, con alta producción de etanol en las primeras 6 a 30 horas de fermentación, admitiendo una reducción de tiempo respecto del proceso tradicional que permitiría un mayor rendimiento de las instalaciones, beneficios de costos y volúmenes de producción. Los niveles de ácidos orgánicos en las distintas experiencias no presentaron una concentración atípica, manteniendo las condiciones de esterilización.

Conclusiones

La tecnología HACF alcanzó resultados comprobables a los del proceso HACC y se demostró una buena eficiencia de las enzimas y levaduras utilizadas. Se generaron conocimientos propios operando con alta densidad de sólidos (Very High Gravity-VHG-) que permitieron cuantificar la reducción de la demanda de energía, del consumo de agua de proceso, costos de destilación y volumen de vinazas. El análisis de los mostos de fermentación no mostró mayores diferencias en los perfiles de concentración de etanol (≥ 13 °GL) y congéneres, con rendimientos entre $\geq 85 \leq 90$ %. La reducción global de energía para esta tecnología resultó de 5.5 % para los ensayos de mayor eficiencia.

Referencias

- Cinelli, B.A., L.R. Castilho, D.M. Freire, and A.M. Castro, A Brief Review on the Emerging Technology of Ethanol Production by Cold Hydrolysis of Raw Starch. *Fuel*, 150, 721-729, (2015).
- Lam F., A. Ghaderi, G. Fink, and G. Stephanopoulos. Engineering alcohol tolerance in yeast. *Science*. 3; 346, 71-75, (2014).
- Lin, Y., W. Zhanga, C. Lia, K. Sakakibarab, S. Tanakab, H. Konga. Factors Affecting Ethanol Fermentation Using *Saccharomyces Cerevisiae* BY4742. *Biomass and Bioenergy*, 47, 395-401, (2012).
- Niu D., J. Qiao, P. Li, K. Tian, X. Liu, S. Singh and F. Lu. Highly Efficient Enzymatic Preparation of Isomalto-oligosaccharides from Starch Using an Enzyme Cocktail. *Electronic Journal of Biotechnology* 26, 46-51, (2017).
- Puligundla, P., D. Smogrovicova, V. S. Obulam, and S. Ko, Very High Gravity (VHG) Ethanol Production and Fermentation: a Research Update. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 38, 1133-1134, (2011).
- Robertson, G.H., D.W.S. Wong, C.C. Lee, K. Wagschal, M.R. Smith, and W.J. Orts. Native or Raw Digestion: A Key Step in Energy Efficient Biorefining of Grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 353-356, (2006).
- Uthumporn, U., I.S. Zaidul and A.A. Karim. Hydrolysis of Granular Starch at Sub-gelatinization Temperature Using a Mixture of Amyolytic Enzymes. *Food and Bioprocess Processing*, 88, 47-54, (2010).
- Wang, P., V. Singh, Hua Xue, D.B. Johnston, K.D. Rausch, and M.E. Tumbleson. Comparison of Raw Starch Hydrolyzing Enzyme with Conventional Liquefaction and Saccharification Enzymes in Dry-Grind Corn Processing. *Cereal Chemistry*, 84, 1, 10-14, (2007).