

ANÁLISIS DE LA VELOCIDAD DE AGITACIÓN EN UN REACTOR DE TANQUE AGITADO PARA PROCESOS DE PRODUCCIÓN DE BIOETANOL-2G

Bautista Ortega Rubi Yesenia (1), Hernández Escoto Héctor (2)

¹ [Ingeniería Química, Universidad Veracruzana] | Dirección de correo electrónico: [iq96rubi@gmail.com]

² [Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [hhee@ugto.mx]

Resumen

En la actualidad hay una creciente necesidad mundial por procesos industriales llamados “limpios” que minimicen el impacto ambiental y la dependencia de los combustibles fósiles; bajo este contexto los procesos bioquímicos son considerados alternativas para la producción de biocombustibles. En el marco de la producción de bioetanol a partir de residuos agroindustriales, en este trabajo se evalúa la deslignificación de la biomasa utilizando un medio alcalino – oxidativo, y (ii) la hidrólisis enzimática del contenido celulósico de la biomasa. Además, se estudian aspectos fundamentales como lo es el efecto que tiene la velocidad de agitación, sobre dos de las etapas más importantes dentro de la producción de bioetanol 2G. Los resultados muestran que ambos procesos obtienen un mejor desempeño a velocidades de agitación moderadas; es decir una alta velocidad de agitación no genera un buen desempeño al proceso.

Abstract

Nowadays, there is a growing global need for industrial processes called "clean" that minimize the environmental impact and dependence on fossil fuels; In this context, biochemical processes are considered alternatives to produce biofuels. In the framework of the production of bioethanol from agroindustrial waste, this paper evaluates the delignification of biomass using an alkaline-oxidative medium, and (ii) the enzymatic hydrolysis of the cellulose content of biomass. In addition, fundamental aspects are studied, such as the effect of agitation velocity, on two of the most important stages in the production of 2G bioethanol. The results show that both processes obtain a better performance at moderate agitation speeds; that is to say a high speed of agitation does not generate a good performance to the process.

Palabras Clave

Hidrólisis; pretratamiento; agitación; deslignificación; microhidrólisis

INTRODUCCIÓN

Biocombustibles

La contaminación ambiental derivada de la utilización de los combustibles fósiles y la preocupación generada por la falta de suministros de petróleo han estimulado la búsqueda de biocombustibles renovables provenientes de distintas biomásas como los desechos agrícolas, forestales, domésticos e industriales. Este tipo de biomásas son la fuente principal de energía renovable que puede proporcionar materia prima útil a corto plazo para producir combustibles alternativos como bioetanol y biodiesel. [1]

En la actualidad la producción de bioetanol está basada en almidón y azúcares, sin embargo, existe un debate considerable acerca de su sostenibilidad. En este contexto el bioetanol producido a partir de biomasa lignocelulósica representa una interesante alternativa ya que estos materiales lignocelulósicos no compiten con el sector alimentario y están disponibles como desechos, siendo un recurso renovable abundante, se estima una producción anual de 1×10^{10} toneladas en el mundo [2], por lo que la materia prima es de fácil acceso.

La biomasa lignocelulósica es aquel producto derivado de la materia orgánica, ya sea directamente de las plantas o indirectamente de industrias, residuos comerciales o urbanos, o residuos agrícolas y forestales, debido a su amplia gama de materias primas se le puede dar un manejo para procesar y producir etanol, sin embargo, uno de los factores que influye en la eficiencia de producción son las condiciones en el que se le dé tratamiento a la biomasa. [3]

El bioetanol de segunda generación (BioEtOH-2G), se produce a través de 3 etapas principales: 1. Deslignificación, en la que a través del cual se modifica la composición química y estructural con el fin de facilitar la etapa de hidrólisis de los hidratos de carbono en azúcares fermentables. 2. La hidrólisis enzimática, en la que, a través de un proceso a base de enzimas, se logra acceder a la celulosa mediante la partición en unidades de glucosa y la fracción hemicelulósica en sus azúcares constituyentes. 3. Fermentación en donde a través de diversos microorganismos como lo son las levaduras se lleva a cabo dicho proceso para obtener el bioetanol y posteriormente pasar a la cuarta y última etapa, es decir, la destilación para recuperar el bioetanol proveniente de las etapas anteriores. Tanto la hidrólisis enzimática como el pretratamiento son de las etapas más importantes dentro de la producción de bioetanol ya que estas determinarán en gran parte el éxito de la parte fermentativa [4]. Ambas etapas se efectúan en un biorreactor de tanque agitado, en el que el mezclado juega un papel importante y cuyo indicativo es la velocidad de agitación. Bajo esta perspectiva y debido a la importancia que representa las etapas de pretratamiento e hidrólisis enzimática, presente trabajo tiene como propósito evaluar el efecto que tienen diversas velocidades de agitación en dos etapas importantes en la producción de bioetanol de segunda generación (2G), promoviendo la liberación de azúcares fermentables durante el pretratamiento y la hidrólisis enzimática para favorecer la cantidad de bioetanol recuperado al final del proceso.

Materiales

La materia prima utilizada fue paja de sorgo, la cual se sometió a tratamiento mecánico donde se utilizó un molino para granos y especias y tamices de mallas 20, 40 y 60 mesh. Para la etapa de pretratamiento se utilizaron vasos de precipitado de 2 L, parrillas de calentamiento, termopares y motores de agitación mecánica.

La etapa de hidrólisis enzimática se llevó a cabo en dos sistemas: Micro-reacción y en Reactor por lotes de 0.5L; en ambos casos se utilizó el complejo enzimático Cellic® CTec 2 de Novozymes. En el sistema de micro-reacción se utilizaron tubos cónicos de 50mL, microtubos de 1.5mL y el equipo Termomixer Eppendorf Comfort. En el sistema de 0.5L se utilizó un reactor Corning de 0.5 L, parrilla de calentamiento termopar y motor de agitación mecánica.

Métodos

Pretratamiento

Se prepararon soluciones al 6 y 8% p/v con paja de trigo de tamaño de partícula <60, en un vaso de precipitado de 2L, se agregaron 35 ml de NaOH al 50 % y 40 ml de H₂O₂ al 50%, el pH se ajustó a 11.5 y se llevó a una temperatura de 60°C con agitación a 100, 150 y 200 rpm durante 5h. Estos experimentos se llevaron a cabo por duplicado. Al terminar el tiempo de reacción se separó la fracción sólida de la líquida mediante filtración. La fracción líquida se llevó a evaporación hasta obtener un volumen menor o igual a 100 mL, y de se agregó tres veces su volumen de etanol al 96 %, posteriormente se filtró a vacío y durante el proceso se lavó con etanol al 70 %. La muestra filtrada se colocó en papel filtro y aluminio previamente pesados, llevándose a secar durante 12 horas a temperatura de 55 °C. Se procedió a pesar y medir humedad para obtener el peso seco de la muestra, [5] esta parte del proceso corresponde a la obtención de hemicelulosa.

Mientras que al líquido resultante de la filtración se llevó a evaporación para reducir su volumen aproximadamente a 100 mL, continuando con ello se ajustó a pH 2 y se repitió el procedimiento ya antes mencionado para conseguir el peso seco, esta parte corresponde a la obtención de lignina, el residuo se llevó a pH 7 para darle un manejo adecuado. El proceso mencionado se realizó para el 8 % y 6% de biomasa con sus respectivas revoluciones.

Hidrólisis Enzimática en sistema de Micro-reacción

Se prepararon soluciones al 1% de paja de trigo con solución amortiguadora a un pH de 4.5 en los tubos cónicos de 50mL, posteriormente se tomó 1.5 mL de estas muestras en microtubos de 1.5mL, seguido a ello se colocaron dentro del equipo termomixer durante 1h a 57 °C, pasado este tiempo se colocaron en el refrigerador para desactivar la enzima y posteriormente centrifugarlos y guardarlos para su posterior análisis [6].

Hidrolisis enzimática en reactor por lotes de 0.5 L

Para esta etapa se utilizaron las biomásas ya antes pretratadas y de estas se hizo una mezcla y se colocó una carga de 10% acompañada de solución amortiguadora; las condiciones a usar son temperatura de 57°C y pH de 4.5. Los ensayos para la hidrolisis enzimática se realizan por triplicado y probando tres velocidades de agitación: 75, 150 y 300 rpm.

Medición de Azúcares reductores

La determinación de azúcares reductores se realizó en las tres etapas, es decir pretratamiento, hidrólisis enzimática en micro-reacción hidrolisis enzimática en 0.5 L, se prepararon las diluciones respectivas para cada ensayo y se tomaron 50 µL de muestra diluida y previamente centrifugada y se procedió a medir azúcares reductores usando el método de DNS-Miller [7].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

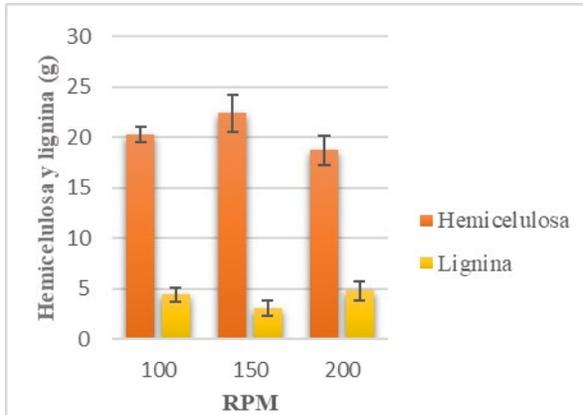


Figura 1. Hemicelulosa y lignina después del pretratamiento diferentes velocidades de agitación para una carga de 6% p/v.

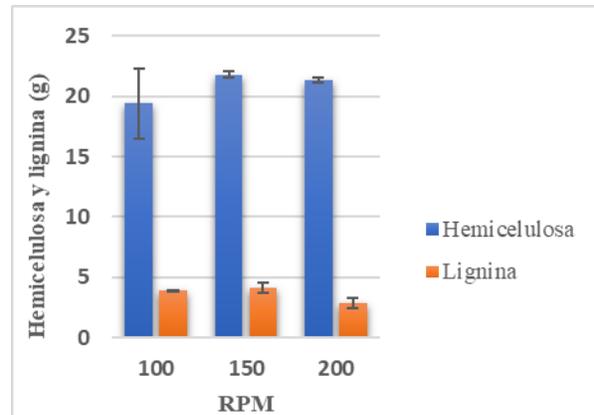


Figura 2. Hemicelulosa y lignina después del pretratamiento a diferentes velocidades de agitación para

De acuerdo con la figura 1, observemos que en la etapa de pretratamiento el efecto de diferentes velocidades de agitación para una carga de 8% p/v, no presenta un efecto considerable en la remoción de lignina, a media que se incrementa la agitación la remoción es menor, lo cual podría presentar un inconveniente en la obtención de azúcares en la etapa de hidrolisis enzimática.

Por su parte para los ensayos al 6% p/v a las diferentes velocidades de agitación se observó un mejor resultado a las velocidades de 100 y 200 rpm en cuanto a la remoción de lignina se refiere, ya que para 150 la cantidad removida fue menor, como se puede observar en la figura 2.

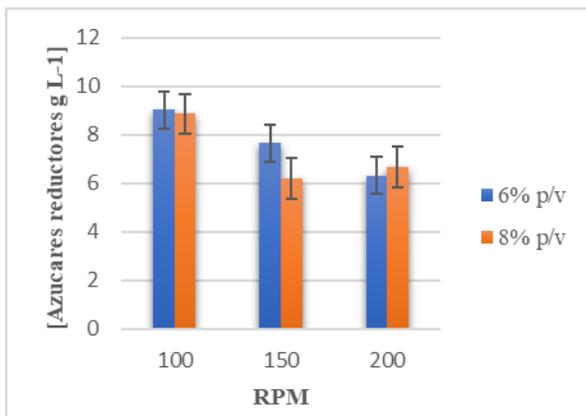


Figura 3. Azúcares reductores al final del pretratamiento

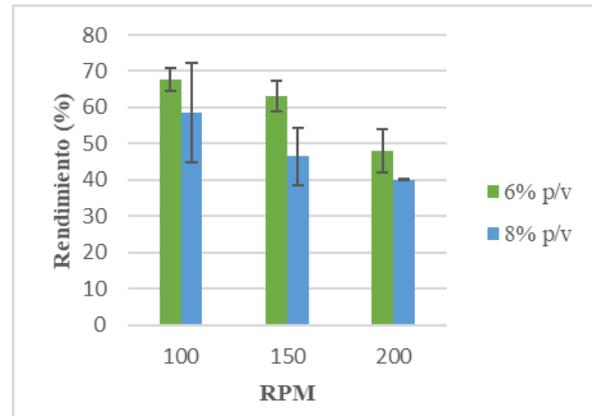


Figura 4. Rendimiento azúcares reductores en el pretratamiento

Con respecto a los azúcares reductores y sus respectivos rendimientos se logra observar que la biomasa proveniente del pretratamiento a 100 rpm presento el mejor escenario para la obtención de estos hidratos de carbono, ya que se encontró que a 100 rpm y una carga de 6%, (ver figuras 3 y 4). La disponibilidad de estos es mayor lo cual favorecía la siguiente fase, es decir el proceso de hidrolisis enzimática

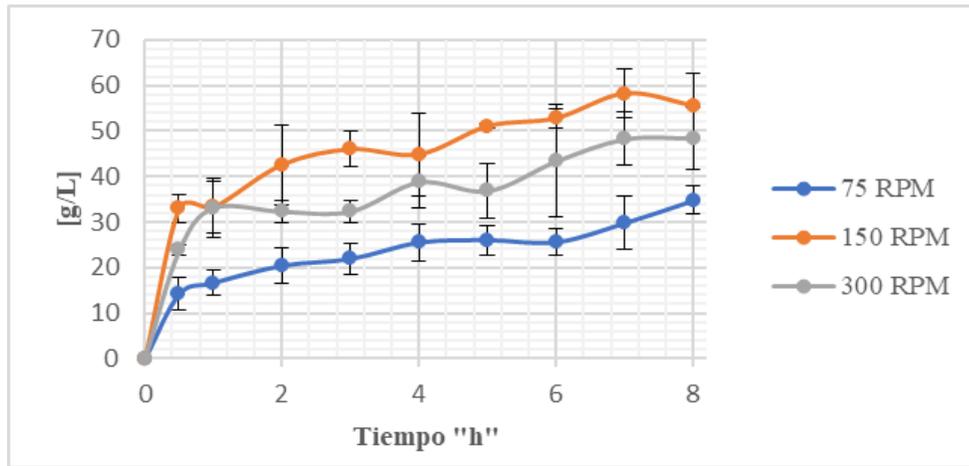


Figura 5. Trayectoria de la cantidad de azúcares reductores totales a lo largo del tiempo

Ahora bien, evaluando el efecto de la agitación en el proceso de hidrólisis enzimática, que se aprecia en la figura 5, se puede observar que las muestras que se sometieron a agitación de 150 rpm tienen un mejor resultado en la obtención de azúcares totales en comparación con las pruebas reportadas a velocidades de agitación de 75 y 300 rpm y en ambos casos la inversión para el aumento o disminución de energía por el incremento de la agitación no beneficio el proceso global de hidrólisis.

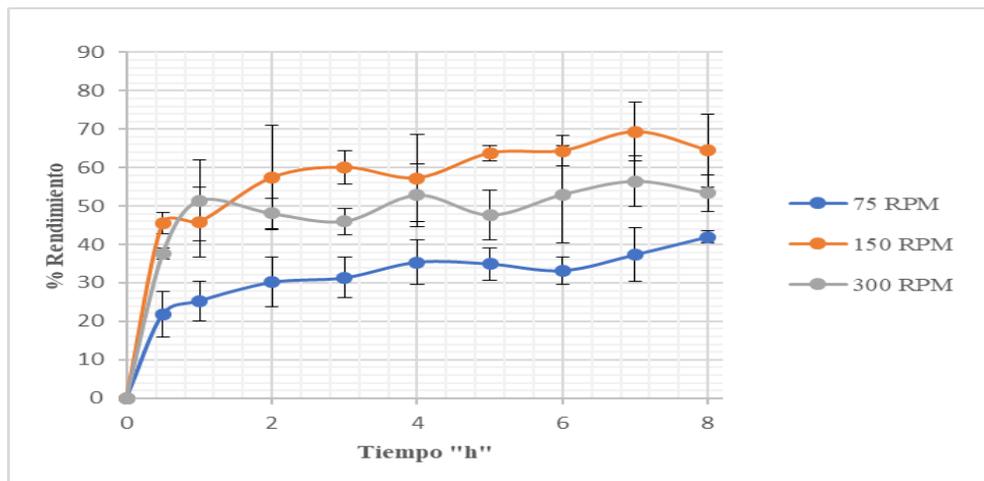


Figura 6. Trayectorias del rendimiento con respecto a holocelulosa de los experimentos llevados a cabo a distintas revoluciones

En cuanto a los resultados reportados en la figura 6, ocurre lo mismo con los rendimientos con respecto a los gramos de holocelulosa presente después del pretratamiento el mejor resultado se encuentra operando a 150 rpm, donde alcanzamos hasta un 69% de rendimiento, es decir contábamos con más del 50% de celulosa y hemicelulosa disponible para obtener hidratos de carbono.

Con respecto a las dos velocidades restantes, la de 300 rpm mostró un mejor rendimiento que la de 75 rpm, sin embargo, el aumento de energía durante la etapa de hidrólisis es notorio que repercutirá en el costo energético al final de la producción del bioetanol, al igual que con 75 rpm

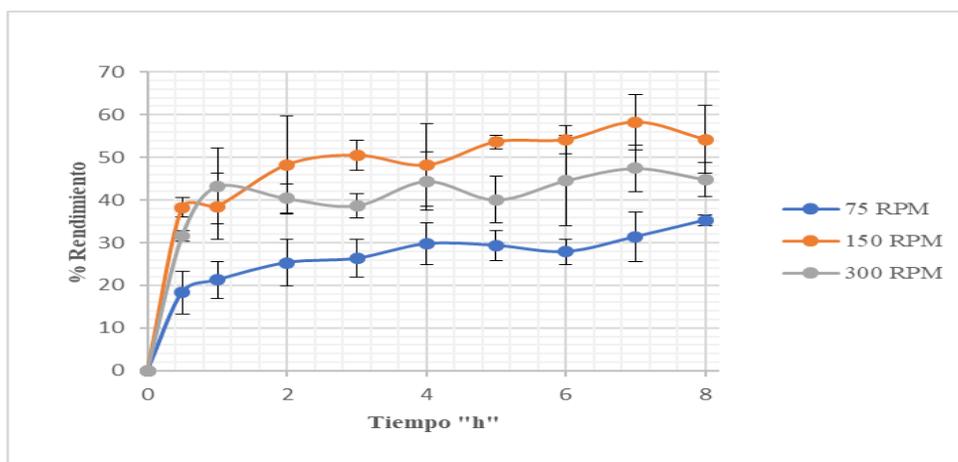


Figura 7. Trayectorias del rendimiento con respecto a la biomasa cargada inicialmente a distintas revoluciones

En la figura 7 se muestran los rendimientos con respecto a la cantidad de biomasa cargada inicialmente, como antes ya se mencionó con carga de 10% p/v, los rendimientos más altos se obtuvieron a 150 rpm, presentando un valor de 58%, con respecto a la carga inicial, cabe destacar que también se logra apreciar que al término de las 8 horas de ensayo realizado a 75 rpm apenas comienza a tener mejores rendimientos sin embargo el tiempo de reacción sería mayor lo cual conllevaría mayores gastos

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se llevó a cabo un estudio fenomenológico sobre dos de las etapas importantes en el proceso de obtención de bioetanol en un reactor tanque agitado, esto con el fin de mejorar la liberación de azúcares capaces de participar en el proceso de fermentación. De acuerdo con los resultados presentados las condiciones a las cuales es más conveniente operar fueron para el pretratamiento a 100 rpm, es decir a bajas velocidades de agitación ya que el incremento de ellas no beneficio de manera significativa el proceso de deslignificación y si repercutiría en el gasto de energía, sin embargo, en la hidrólisis enzimática, los más altos rendimientos se obtuvieron a 150 rpm, con valores de hasta 68% con respecto a la holocelulosa disponible, y 58% con respecto a la biomasa, es decir por encima del 50% con una concentración de azúcares fermentables de 58.22 g/L.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, a la Universidad de Guanajuato, por brindarme la oportunidad de realizar este Verano de Investigación científica 2018, a mi asesor el Dr. Héctor Hernández Escoto por todos los conocimientos compartidos, así como también a Perla Araceli Meléndez Hernández y Alicia Hernández Guzmán por su apoyo en la planeación y desarrollo de los experimentos. También a mis padres Isabel Ortega Ortega y Noe Hernández Sánchez al igual que a mis hermanos por la motivación que día a día me dan, así también a la Universidad Veracruzana por ser mi alma mater.

REFERENCIAS

[1] Sun, Y., & Cheng, J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, 83(1), 1–11. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00212-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00212-7)

- [2] Sánchez, O. & Cardona, C. "Producción biotecnológica de alcohol carburante I: obtención a partir de diferentes materias primas". *Interciencia*. Vol. 30. 2008. Pp. 671 - 678
- [3] Kurchania, A. (2012). Biomass Energy. In *Biomass Conversion* (Vol. 9783642284, pp. 91–122). Berlin: Springer. Verlag. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-28418-2>
- [4] Huang, R., Su, R., Qi, W., & He, Z. (2011). Bioconversion of Lignocellulose into Bioethanol: Process Intensification and Mechanism Research, 225–245. <https://doi.org/10.1007/s12155-011-9125-7>
- [5] Sun, R. (2000). Polymer degradation and stability. *Polymer Degradation and Stability*, 68(1), 101–109. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(99\)00182-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0141-3910(99)00182-2)
- [6] Hernández-Beltrán, J. U., Cervantes-Quintero, K., & Hernández-Escoto, H. (2018). A quick and effective method for evaluating substrate-enzyme systems in the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13399-017-0297-z>
- [7] Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426–428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>