

# Un Primer Diseño Industrial de Producción de Etanol a Partir de Paja de Sorgo

Vázquez Cruz Patricia (1), Hernández Escoto Héctor. (2)

1 [Lic. Ingeniería Química, Universidad de Guanajuato] Dirección de correo electrónico: [patricia\_vazquez\_cruz@outlook.es]

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

## Resumen

En este trabajo se exploraron dos etapas en la producción de etanol a partir de paja de sorgo: (i) pretratamiento e (ii) hidrólisis enzimática. En estas se determinaron las mejores condiciones y se evaluó el potencial de obtención de azúcar reductor, con lo que se puede proyectar la producción de etanol. El pretratamiento consistió en hacer pasar vapor saturado a paja de sorgo previamente molida, determinándose la cantidad de agua con base en resultados obtenidos en posteriores hidrólisis enzimáticas, las cuales tenían una duración de una hora y se mantenían condiciones de pH, temperatura y carga enzimática (CE). Con base en los primeros resultados obtenidos, se continuó evaluando el rendimiento de la hidrólisis enzimática a diversas condiciones, es decir, tratando de hacer experimentos multifactoriales completos en microreacciones. Como resultado, se determinó que una relación de 72 litros de agua en forma de vapor saturado por cada kilogramo de paja en base seca es suficiente para llevar a cabo un pretratamiento efectivo, y que bajo un pH de 4.0, una temperatura de 55°C, un tiempo de una hora y con una carga enzimática de 0.0003 mL/g-paja se obtiene un rendimiento del 9.172% (g-azúcar/g-paja). Esto resulta atractivo ya que no se ha usado algún químico para el pretratamiento, y que se puede proyectar que en la hidrólisis enzimática llevada a cabo en un reactor de tanque agitado se podría obtener un rendimiento de hasta un 40% (g-azúcar/g-paja).

## Abstract

In this work two stages in the production of ethanol from sorghum straw were explored: (I) pre-treatment and (ii) hydrolysis enzymatic. In each step the best conditions were determined at the same time the potential of reducing sugar obtained was evaluated, which can be projected ethanol production. The pretreatment consisted of passing previously saturated steam to sorghum straw, so we determined the amount of water based on results obtained in subsequent hydrolysis enzymatic, this procedure was for an hour and conditions like pH, temperature and quantity of enzyme were kept. Based on initial results, it continued to evaluate the performance of hydrolysis enzymatic to various conditions, we tried to complete micro-reactions multifactorial experiments. As a result, it was determined that the ratio of 72 liters of water in the form of saturated steam per kg of straw on a dry basis is sufficient to carry out an effective pre-treatment, with a pH of 4.0, a temperature of 55 ° C and 0.0003 mL / g-straw quantity of enzyme for one hour, the yield of 9.172% (g-sugar / g-straw) was obtained. This is attractive because it has not been used chemical pretreatment, which can be projected that hydrolysis enzymatic carried out in a stirred tank reactor could get an efficiency around 40% (g-sugar / g -straw).

## Palabras Clave

Autohidrólisis, hidrólisis enzimática, masa lignocelulósica, paja de sorgo, bioetanol.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente existe una gran dependencia de los combustibles fósiles y debido a la fuerte demanda se ha venido afectando la disponibilidad del mismo, a su vez se ha incrementado la preocupación y el cuidado del ambiente, por lo que en consecuencia se han tratado de buscar alternativas sustentables [1].

Con base en lo anterior, se encontró que la materia orgánica ya sea de origen vegetal o animal, incluyendo los residuos y desechos orgánicos, puede ser aprovechada energéticamente, es decir la biomasa [2], la cual es barata, renovable, con una alta disponibilidad y sobre todo amigable con el ambiente.

Generalmente la biomasa está compuesta por lignina, hemicelulosa y celulosa; las cuales se encuentran en diferentes proporciones, dependiendo del desecho [3]; sin embargo para obtener un mejor aprovechamiento energético de la biomasa se han explorado diversos pretratamientos como son: el pretratamiento ácido, alcalino, de oxidación húmeda, con líquidos iónicos, deslignificación oxidativa [4], principalmente.

### Pretratamiento

El pretratamiento es considerado una parte fundamental en el proceso para la producción de bioetanol, pues consiste en remover parcialmente la lignina, hidrolizar la hemicelulosa para poder convertirla en azúcares fermentables, a su vez se busca el incremento de la porosidad y reducir la cristalinidad de la celulosa [5]. Cabe mencionar que han sido investigados diversos pretratamientos los cuales pueden ser físicos, químicos, biológicos, eléctrico o una combinación de estos; sin embargo un pretratamiento físico que destaca es la autohidrólisis.

### Autohidrólisis.

La autohidrólisis consiste en usar agua a temperaturas entre 160 – 240 °C, dicho pretratamiento resulta atractivo pues no se requiere el uso de sustancias químicas y tampoco se generan desechos tóxicos, tiene una alta eficiencia energética y un bajo impacto ambiental [6]; por estas

características es considerado el pretratamiento físico más adecuado.

Dado que el utilizar vapor es atractivo y que la paja de sorgo es abundante, este trabajo consiste en visualizar un proceso de producción de etanol a través de la determinación de las condiciones bajo las cuales se pueden realizar dos de las etapas básicas de producción (pretratamiento e hidrólisis enzimática) sin la utilización de reactivos químicos.

Cabe comentar que la paja de sorgo; pues tiene una producción nacional aproximada de 6.969 millones de toneladas al año, además destaca Guanajuato como segundo lugar a nivel nacional, aportando el 21.5% de la producción nacional [7]. Dicho esquileo actualmente se quema o se usa en la alimentación de ganado cuando hay una escasez de recursos, sin embargo no provee de los nutrientes necesarios por lo que se combinan con suplementos alimenticios [8].

## MATERIALES Y MÉTODOS

En la presente investigación se realizó una autohidrólisis con vapor saturado, el cual se generó con un equipo casero: una cafetera “KRUPS – XP1020 Stream Espresso Capuccino”.

Primeramente se molió y tamizó la paja de sorgo hasta obtener un tamaño de partícula correspondiente a “malla 40”. Después se pesó una porción conocida de paja que en nuestro caso fue de 10 g y se colocó en una canastilla propia del equipo generador de vapor.

Al dispositivo entonces se le añadía el agua, se encendía y entonces el vapor de agua pasaba de forma continua por la paja. Se usó volúmenes de agua de 240, 480, 720, 1200, 1920 y 2400; sin embargo, debido a que la capacidad de nuestro equipo es de 240 mL el agua se iba depositando secuencialmente de acuerdo a esta cantidad.

Después a la paja humedecida se le medía el porcentaje de humedad; luego con ayuda de este dato se hacen los cálculos correspondientes para preparar 100 mL de una suspensión de paja al 1 %w/v. Al contar con nuestra solución de paja y con ayuda de ácido clorhídrico ajustamos a un pH de

4.5. Tomamos 1.5 ml de la solución para muestras, controles de sustrato y controles de carga, estos últimos se colocan en la estufa para evaporarles el agua.

Llevamos entonces las muestras y controles de sustrato a un termomezclador a las condiciones previas de la hidrólisis enzimática que en nuestro caso fue de 500 RPM, 50 °C y 30 minutos. Se añade 0.006 ml de enzima Accellerase 1500® y en el termomixer se ajustan las condiciones a 900 RPM y 1 hora, a su vez se toman controles de enzima.

Luego se colocan las muestras y controles en un baño de hielo por 5 minutos, se centrifugan y se realiza la medición de glucosa a través de un analizador bioquímico (YSI, 2700). Para garantizar la medición adecuada del equipo se preparó una muestra control de glucosa con una concentración conocida.

También se realizó la medición de azúcares reductores: primeramente se debe preparar una curva de calibración de glucosa a concentraciones de 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 g/L después tomar 0.05 ml de cada muestra al igual que de las concentraciones de la curva de calibración; se les añade 0.05 ml del reactivo DNS (3, 5 dinitrosalicílico), se mezclan y se llevan a un baño maría durante 5 minutos; concluido el tiempo se dejan enfriar a temperatura ambiente, se centrifugan, se les agrega 0.5 ml de agua destilada, por último se colocan en las celdillas para leer en el espectrofotómetro a 540 nm.

Para el cálculo del rendimiento es importante tener en cuenta el promedio de los controles de carga pues estos ajustan para así conocer su

concentración real en g/L en una base de paja seca.

$$\text{Concentración de la suspensión} = \frac{\text{Promedio controles de carga (g)}}{1.5 \text{ (ml)}} \left( \frac{1000 \text{ (mL)}}{1 \text{ (L)}} \right) \text{ [Ec. 1]}$$

Después al saber la concentración real de la suspensión con la Ec. 1, se hizo una relación con la concentración de azúcares reductores para así obtener una referencia de rendimiento.

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{\text{Concentración azúcares reductores} \left( \frac{\text{g}}{\text{L}} \right)}{\text{Concentración de la suspensión} \left( \frac{\text{g}}{\text{L}} \right)} (100) \text{ [Ec. 2]}$$

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Primeramente se determinó la cantidad de lavados necesarios comparando las mediciones de glucosa y de concentración de azúcares reductoras.

En la Tabla 1 se muestra la concentración de glucosa, azúcares reductoras y posiblemente una de xilosa, al ser otro tipo de azúcar reductora que puede estar presente. Con un primer lavado observamos que el rendimiento comienza con un valor de 5.775% y con una cantidad mayor de glucosa que de xilosa. En el caso de la paja tratada con 480 mL, nos podemos dar cuenta que hay una concentración de glucosa de 0.354 g/L, pero posiblemente hubo un error en la medición de azúcares reductores ya que resulta ser menor que el de glucosa. Para el tercer lavado analizamos un notorio aumento tanto en la cantidad de glucosa como de xilosa, además el rendimiento se determinó en 10.75%.

Tabla 1: Rendimiento lavados.

| Ítem | Volumen agua (ml) | Glucosa (g/L) | Conc. azúcares reductores (g/L) | Conc. Xilosa (g/L) | % Rendimiento |
|------|-------------------|---------------|---------------------------------|--------------------|---------------|
| P1   | 240               | 0.256         | 0.462                           | 0.206              | 5.775         |
| P2   | 480               | 0.354         | 0.331                           | ---                | 4.138         |
| P3   | 720               | 0.675         | 1.076                           | 0.401              | 10.758        |
| P5   | 1 200             | 0.739         | 1.102                           | 0.363              | 5.070         |
| P8   | 1 920             | 0.766         | 0.981                           | 0.215              | 4.943         |
| P10  | 2 400             | 0.679         | 1.038                           | 0.359              | 6.459         |

En los volúmenes de agua posteriores a 720 mL examinamos que no se nota una tendencia clara, incluso en el lavado correspondiente a 1920 mL se notó una disminución en el rendimiento esto es a causa de la misma naturaleza del dispositivo en uso, pues se debía de enfriar un poco el mismo para así garantizar el volumen de agua, sin embargo en dicha espera, la paja perdía humedad y por lo tanto este hecho perjudica la tendencia del rendimiento. Cabe destacar que con los tres lavados se puede tener cierta continuidad en el pretratamiento al momento de depositar cada cantidad de 240 mL.

Con base en los resultados obtenidos, se llegó a que con tres lavados de 240 mL fueron mas que suficientes tanto para obtener un buen rendimiento como una concentración importante de glucosa y xilosa, además considerando las características propias del equipo usado en el pretratamiento. En lo que respecta al pH de la parte líquida que salía del dispositivo, se encontró en un valor entre 7 y 8.

Una vez determinada la cantidad de agua necesaria en el pretratamiento, se procedió a explorar la hidrólisis enzimática, modificando parámetros como pH, además de temperatura y carga enzimática (CE), esto con el fin de buscar las mejores condiciones de acuerdo al pretratamiento utilizado.

En lo que respecta al pH, para esta continuación del experimento, se ajustó en un valor de 4 aproximadamente y se procedió a hacer combinaciones junto con la temperatura, las cuales fueron 45, 50 y 55°C; a su vez la carga enzimática se modificó a 0.0035, 0.0045 y 0.006 mL respectivamente, el análisis igualmente se realizó en microreacciones.

En la Tabla 2 se muestran los resultados correspondientes a esta segunda parte, en donde notamos que para 45°C con una carga enzimática de 0.006 mL es donde se obtuvo un rendimiento de 7.944%, además de una disminución notoria de xilosa; en cambio a 50°C e igualmente con la carga enzimática de 0.006 mL el rendimiento fue de 8.730%, a su vez corroboramos una mayor presencia de glucosa que de xilosa; sin embargo para los 55°C y una carga enzimática de 0.003mL el rendimiento se aumentó, quedando en un valor de 9.172% y de igual manera la concentración de glucosa es mayor que de xilosa, sin embargo si comparamos las tres opciones antes mencionadas, tomando en cuenta la concentración de glucosa aunado con la concentración de xilosa la mejor opción sería a 55°C y con 0.003 mL de carga enzimática.

Tabla 2: Rendimientos a diferentes condiciones.

| Ítem | T °C | CE (mL) | Glucosa Real (g/L) | Concentración azúcares reductores (g/L) | Conc. Xilosa (g/L) | % Rendimiento |
|------|------|---------|--------------------|---|--------------------|---------------|
| CBN1 | 45   | 0.003   | 0.401              | 0.752                                   | 0.351              | 7.053         |
| CBN2 |      | 0.0045  | 0.413              | 0.791                                   | 0.378              | 6.979         |
| CBN3 |      | 0.006   | 0.448              | 0.689                                   | 0.241              | 7.944         |
| CBN4 | 50   | 0.003   | 0.455              | 0.837                                   | 0.382              | 7.298         |
| CBN5 |      | 0.0045  | 0.730              | 0.873                                   | 0.143              | 6.888         |
| CBN6 |      | 0.006   | 0.803              | 0.989                                   | 0.186              | 8.730         |
| CBN7 | 55   | 0.003   | 0.571              | 0.917                                   | 0.346              | 9.172         |
| CBN8 |      | 0.0045  | 0.594              | 0.820                                   | 0.226              | 6.147         |
| CBN9 |      | 0.006   | 0.681              | 0.797                                   | 0.116              | 5.795         |

Sin embargo para la mayor concentración posible de xilosa se encuentra cuando las condiciones son de temperatura 50°C y con una carga enzimática de 0.003 mL

## CONCLUSIONES

Tomando en cuenta la naturaleza del dispositivo así como rendimientos obtenidos, se determinó la cantidad de agua necesaria para este tipo de pretratamiento es de 720 mL; por lo cual la relación quedaría de 72L/kg-paja, si bien se usa una cantidad considerable de agua se tendría que explorar si se puede estar recirculando o aprovecharse para regar cultivos, puesto la parte líquida tenía aproximadamente un pH entre 7 y 8.

Cabe mencionar que bajo las condiciones de una temperatura de 55°C, un pH de 4.0 y una carga enzimática de 0.006 ml se obtuvo el mayor rendimiento que fue de un valor de 9.172%, de la misma manera la mayor concentración de glucosa se dio bajo este esquema.

Es importante destacar se usaron microreacciones durante este trabajo, ya que se tiene el conocimiento de que al aumentar la cantidad de materia pretratada y con un mayor tiempo de reacción de la enzima (es decir, en reactor de tanque agitado), el rendimiento se puede triplicar o cuatriplicar, es decir, se podría obtener entre un 30 y 40 % de rendimiento, si es que la condición encontrada resulta ser la más adecuada.

Para continuar con la investigación habría que explorar otras combinaciones del pH, temperatura y carga enzimática en un sistema de microreacción, para conocer si hay una mejor condición para la paja pretratada; igualmente explorar con la misma enzima un mayor tiempo de reacción. Además sería conveniente comenzar a cuantificar la concentración xilosa, debido a que con esta azúcar se puede obtener xilitol el cual es otro producto de valor agregado.

## AGRADECIMIENTOS

Primeramente a la Universidad de Guanajuato, por brindarme el espacio para poder ser parte del Verano de Investigación 2015 y a mi asesor el Dr.

Héctor Hernández por haberme aceptado dentro del proyecto. También a Ulises Hernández y Karla Cervantes por enseñarme con paciencia y ayudarme en todo momento. Además de mis padres, Patricia y Miguel Ángel, sin olvidar a mi hermano Miguel Ángel por brindarme ánimo y constante motivación durante este verano e igualmente a mi novio Omar.

## REFERENCIAS.

- [1] Behera S., Richa A., Nandhagopal N. y Kumar S. (2013). «Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass,» *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 36, pp. 91-106, doi: 10.1016/j.rser.2014.04.047
- [2] Basu P., (2013). « *Biomass Gasification, Pyrolysis and Torrefaction* ». Elsevier. (2<sup>nd</sup> ed) United Kingdom.
- [3] Murai E., Qiang H., Hasan J., Hou-Ming C., (2013). «Enzymatic hydrolysis of autohydrolyzed wheat straw followed by refining to produce fermentable sugars,» *Bioresources Technology*, vol. 152, pp. 259 - 266. doi: 10.1016/j.biortech.2013.11.026
- [4] Badiei M., Asim N., Jamilah J. M., Sopian K. (2014) «Comparison of chemical pretreatment methods for cellulosic biomass,» *Procedia APCBEE*, vol. 9, pp. 170-174, 2014. doi: 10.1016/j.apcbee.2014.01.030.
- [5] Cuervo L., Folch J. L. y Quiroz R. E., (2009) «Lignocelulosa como fuente de azúcares para la producción de etanol,» *BioTecnología*, vol. 13, n° 3, pp. 11-25.
- [6] Singh R., Shukla A., Tiwari S., Srivastava M. (2014) «A review on delignification of lignocellulosic biomass for enhancement of ethanol production potential,» *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 32, pp. 713 - 728, doi: 10.1016/j.rser.2014.01.051
- [7] Secretaría de Hacienda y Crédito Público. (2014) «Panorama del sorgo,» de *Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica, Análisis Sectorial y Tecnología de la Información*.
- [8] Muñoz S., «Aprovechamiento de Esquilmos y subproductos en la alimentación del ganado,» (2014). *Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación*.