

# PRODUCCIÓN DE BIOETANOL DE SEGUNDA GENERACIÓN CON UNA LEVADURA TERMOTOLERANTE, A PARTIR DE ASERRÍN DE EUCALIPTO

Santiago Moure <sup>1, 2</sup>; Mairan Guigou <sup>1</sup>; Florencia Cebreiros <sup>1</sup>; María Noel Cabrera <sup>2</sup>; Leonardo Clavijo <sup>2</sup>; Laura Camesasca <sup>1</sup>; María Eugenia Vila <sup>1</sup>; Alberto Liguori <sup>1</sup>; Mario Daniel Ferrari <sup>1</sup>; Claudia Lareo <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Bioingeniería, Instituto de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República.

<sup>2</sup> Grupo de Ingeniería de Procesos Forestales, Instituto de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República.

## Introducción

La generación de residuos de eucalipto (aserrín) se ha incrementado en Uruguay con el crecimiento de la industria pulpera, los cuales se utilizan principalmente para producir energía. El aserrín representa una biomasa lignocelulósica promisoriosa para obtener biocombustibles y productos químicos renovables; estableciendo las bases para una bioeconomía con bajas emisiones de dióxido de carbono. En este trabajo el aserrín fue pretratado con ácido fosfórico seguido de un tratamiento alcalino para separar los distintos componentes estructurales (celulosa, hemicelulosas, lignina) y facilitar la posterior hidrólisis enzimática del material. Con el sólido resultante se ensayaron diferentes configuraciones de sacarificación y fermentación para la obtención de etanol.

## Materiales y métodos

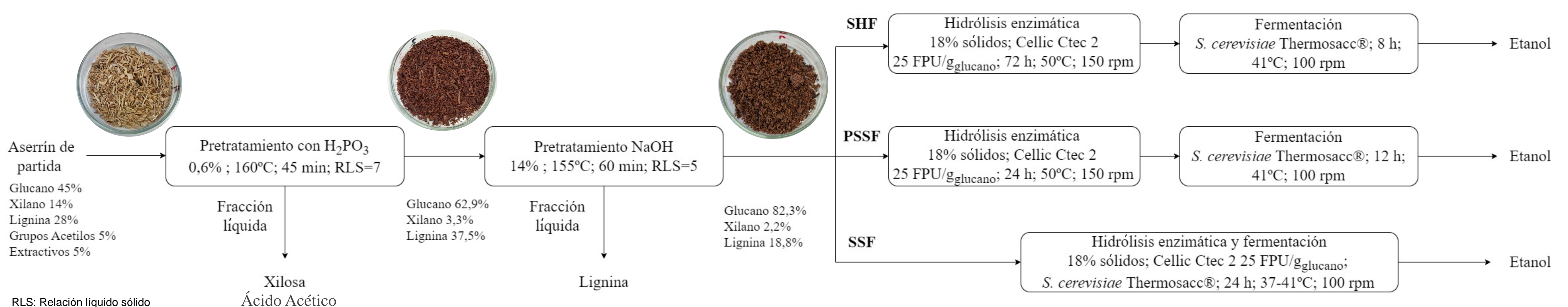


Figura 1: Diagrama de flujo del proceso.

**Determinaciones analíticas:** Todas las fracciones fueron caracterizadas siguiendo los protocolos de NREL y las concentraciones de azúcares, etanol y glicerol fueron determinadas mediante HPLC.

**Seguimiento del cultivo microbiano:** Se realizó mediante recuento directo en cámara de Neubauer y medidas de absorbancia a 600 nm.

## Resultados y discusión

### Pretratamientos

En el hidrolizado del aserrín pretratado con ácido fosfórico (0,6%  $H_3PO_4$ , 45 min, 160°C) se obtuvieron 17 g/L de xilosa y 4 g/L de ácido acético. Luego del tratamiento alcalino (14% NaOH, 60 min y 155°C) se logró obtener en el licor un 76% de la lignina original.

### Perfiles de crecimiento celular a diferentes temperaturas

Se ensayaron curvas de crecimiento en medio sintético (YPD) a diferentes temperaturas (30-48°C), mostrándose los resultados en la Figura 2. A temperaturas mayores a 37°C se observa una disminución del crecimiento de la levadura, a partir de 41°C se observa además un aumento en la duración de la fase lag.

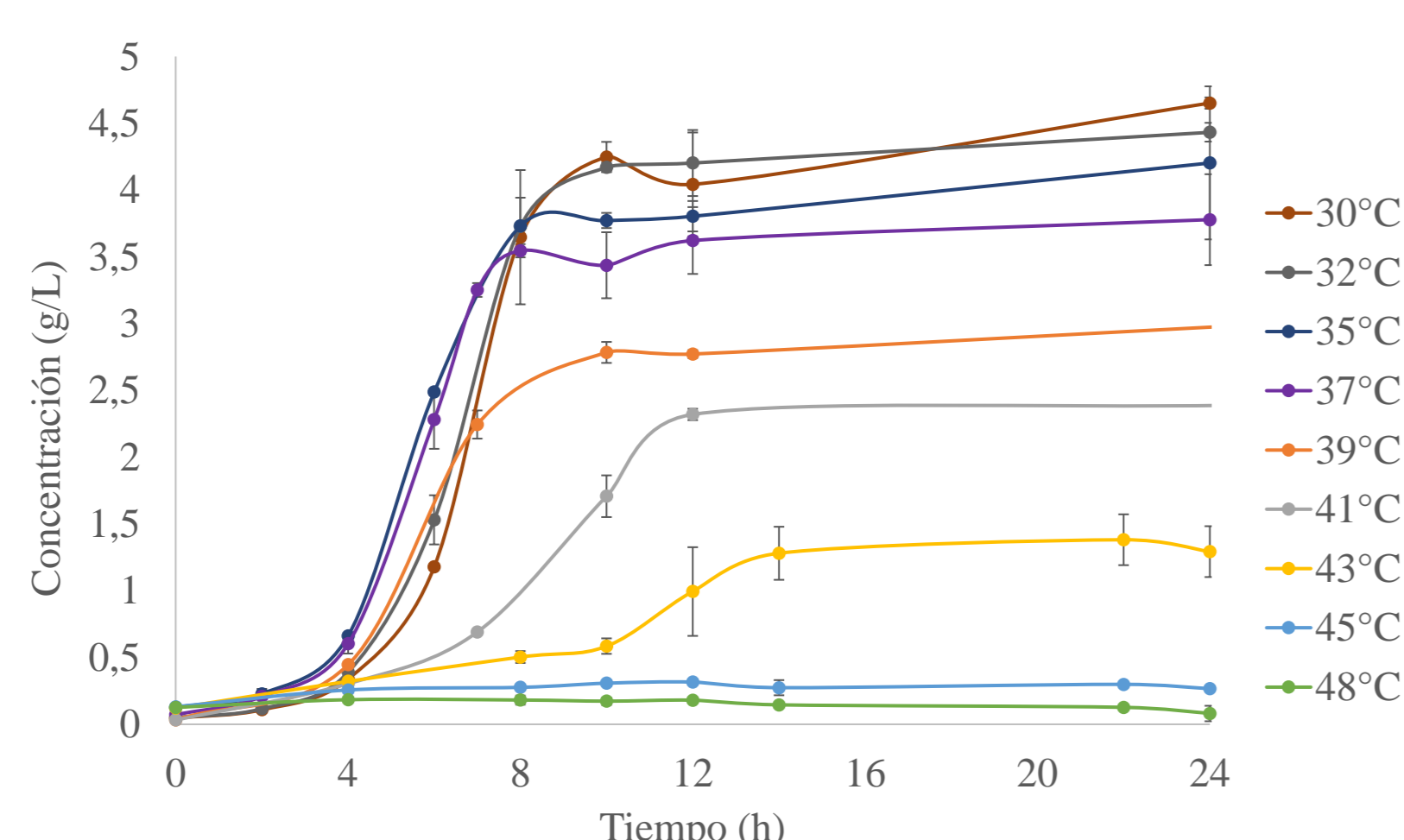


Figura 2: Curvas de crecimiento.

### Estrategias de hidrólisis enzimática y fermentación

En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos en las diferentes configuraciones de hidrólisis enzimática y fermentación: hidrólisis y fermentación separadas (SHF), sacarificación y fermentación en simultáneo con prehidrólisis (PSSF), y sacarificación y fermentación en simultáneo (SSF). La concentración de etanol fue similar para las configuraciones SHF y SSF, presentando esta última una productividad volumétrica tres veces superior. La concentración de glicerol fue menor a 5 g/L en todas las corridas.

Tabla 1: Resultados de las distintas modalidades de sacarificación y fermentación.

Modalidad	Etanol final (g/L)	Eficiencia global (%)**	Productividad (g/L.h)	Rendimiento de etanol (L/ton materia prima)	Viabilidad celular a tiempo final ( $X_{VT}$ )
SHF	73 ± 1	49 ± 2	0,92 ± 0,02	171 ± 4	0,99 ± 0,07
PSSF*	60 ± 1	40 ± 1	4,97 ± 0,10	142 ± 3	1,00 ± 0,07
SSF*	73 ± 1	48 ± 2	3,04 ± 0,05	171 ± 6	0,50 ± 0,03



\* La etapa de sacarificación y fermentación conjunta se hizo a 41°C.

\*\* Calculada como gramos de etanol producido en relación a los gramos teóricos de etanol a partir del glucano presente en la materia prima original.

Dado que hubo un importante descenso en la viabilidad de la levadura, se probaron temperaturas inferiores (37, 39°C) bajo la modalidad SSF. En la Figura 3 se presentan los perfiles de glucosa y etanol para las tres temperaturas estudiadas. Si bien la concentración final de etanol es similar en las tres temperaturas, esta última se alcanza en menor tiempo (24 h) trabajando a 41°C, posiblemente debido a una mayor velocidad de hidrólisis enzimática del glucano.

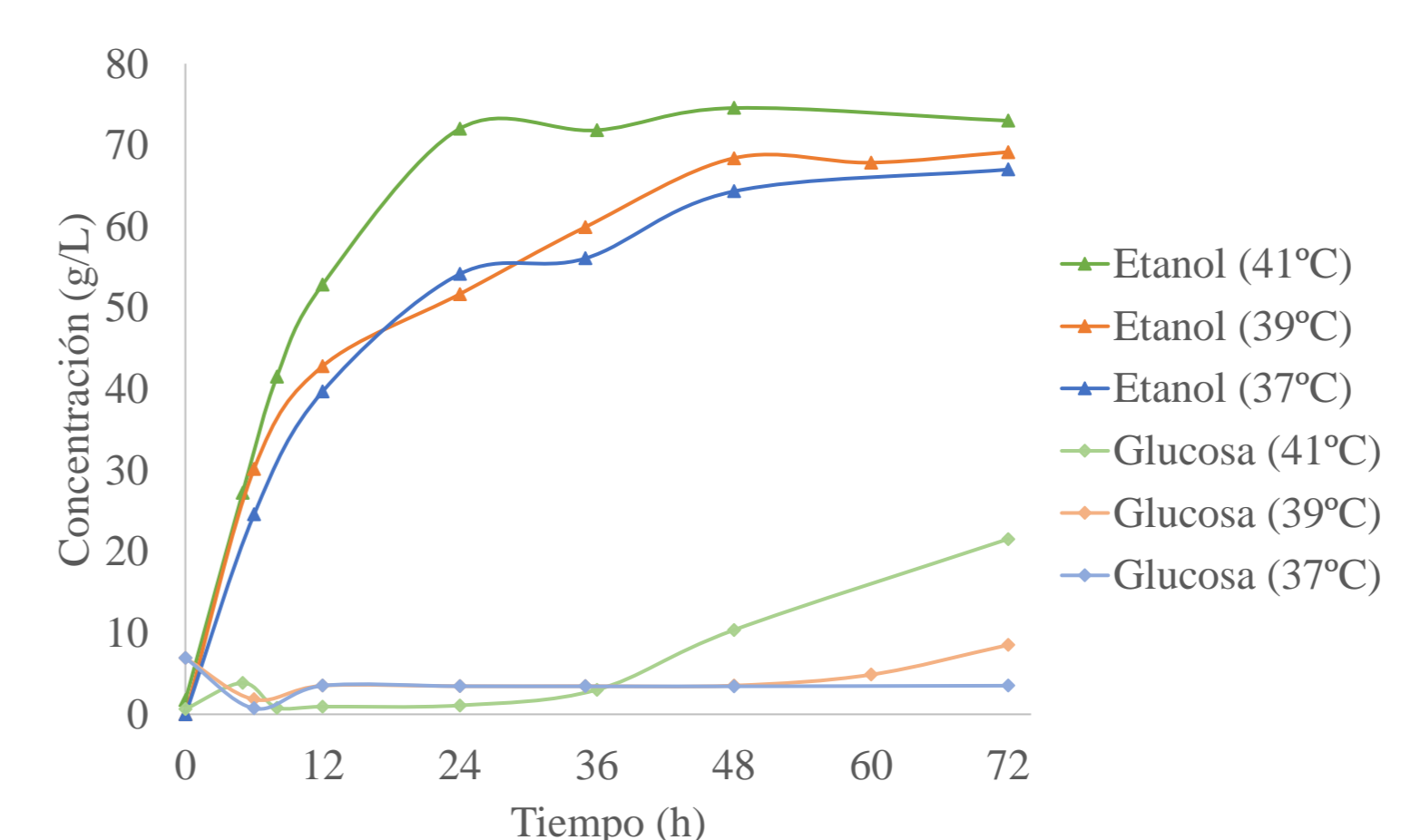


Figura 3: Perfiles de concentración de etanol y glucosa obtenidos en los ensayos de sacarificación y fermentación simultáneas (SSF) del aserrín pretratado a 37, 39 y 41°C.

En la Figura 4 puede observarse el decaimiento de la viabilidad de la levadura en función del tiempo de fermentación, observándose a 41°C una caída abrupta luego de 12 h.

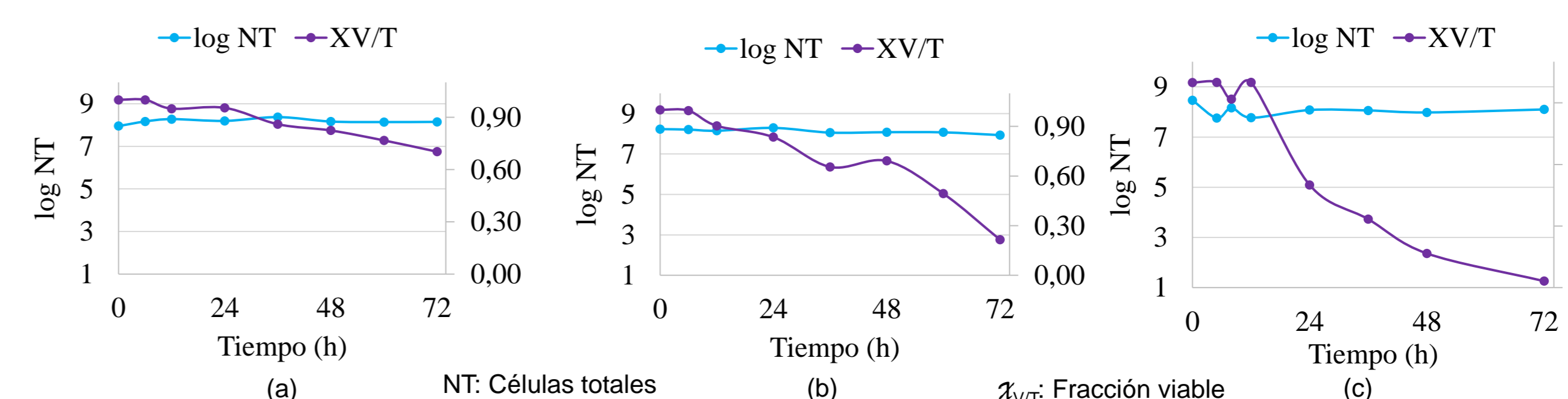


Figura 4: Perfiles de fracción viable y concentración total de células (escala logarítmica) obtenidos en los ensayos de sacarificación y fermentación simultáneas (SSF) del aserrín pretratado a 37 (a), 39 (b) y 41°C (c).

## Conclusiones

La sacarificación y fermentación simultáneas (SSF) realizadas a 41°C, mostró el mejor desempeño, obteniéndose 171 L de etanol por tonelada de aserrín (base seca) y una productividad de 3 g/L.h, pero con una reducción significativa de la viabilidad celular al fin del proceso (50%).

Una disminución de la temperatura mejoró la viabilidad de la levadura en el hidrolizado, pero a expensas de una disminución en la eficiencia de la hidrólisis enzimática.

## Agradecimientos

La financiación fue brindada por la Agencia Nacional de Investigación e Innovación a través del Fondo Sectorial de Energía (FSE\_1\_2019\_159574).

Los autores agradecen a UPM, Uruguay, por proveer el aserrín.