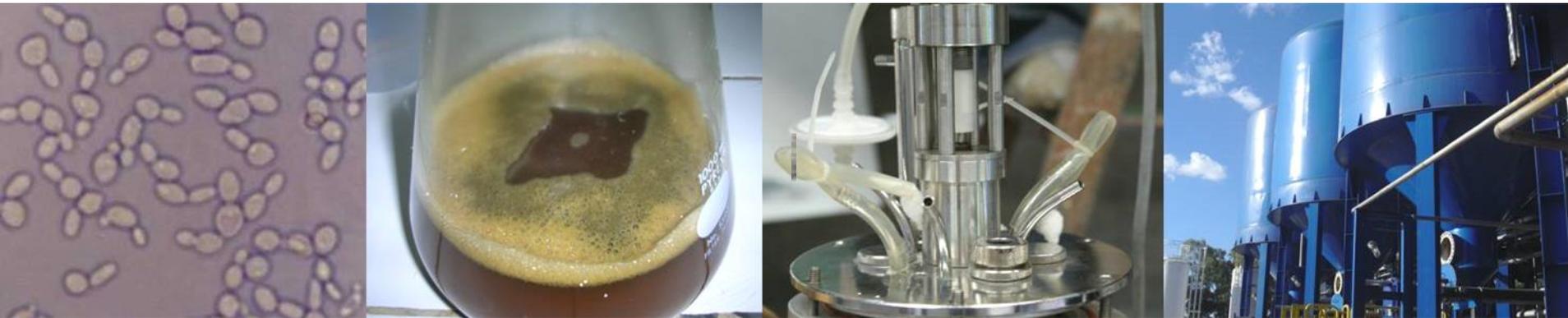


Bioetanol Combustible

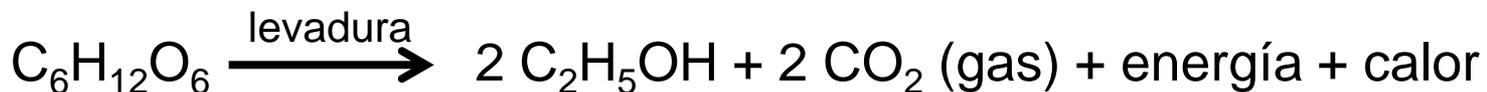
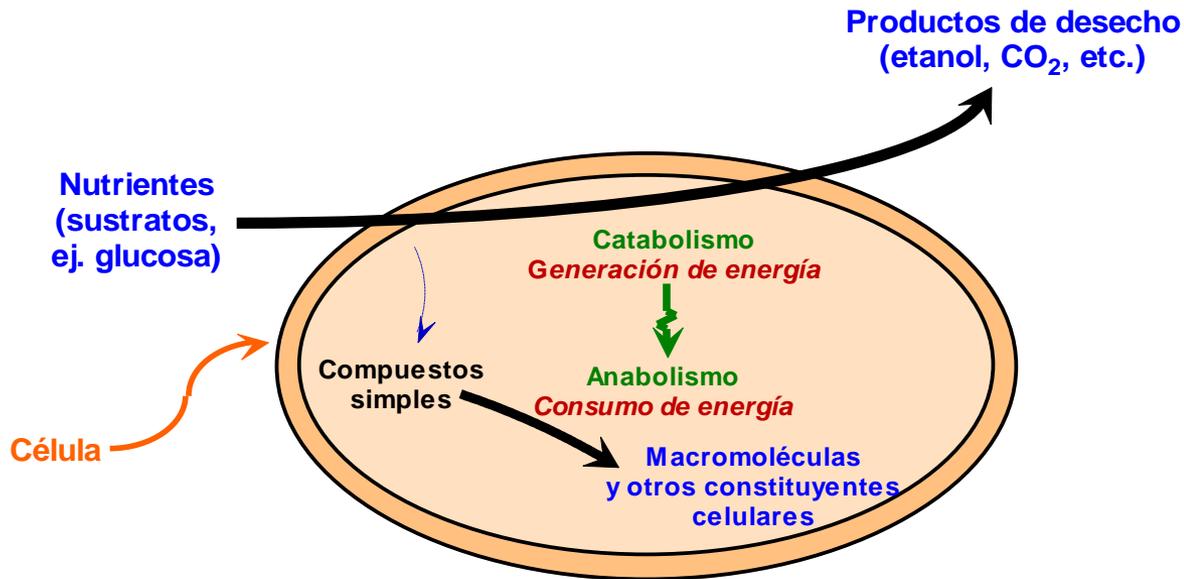
Tecnología y Desarrollo Sostenible



Parte 2

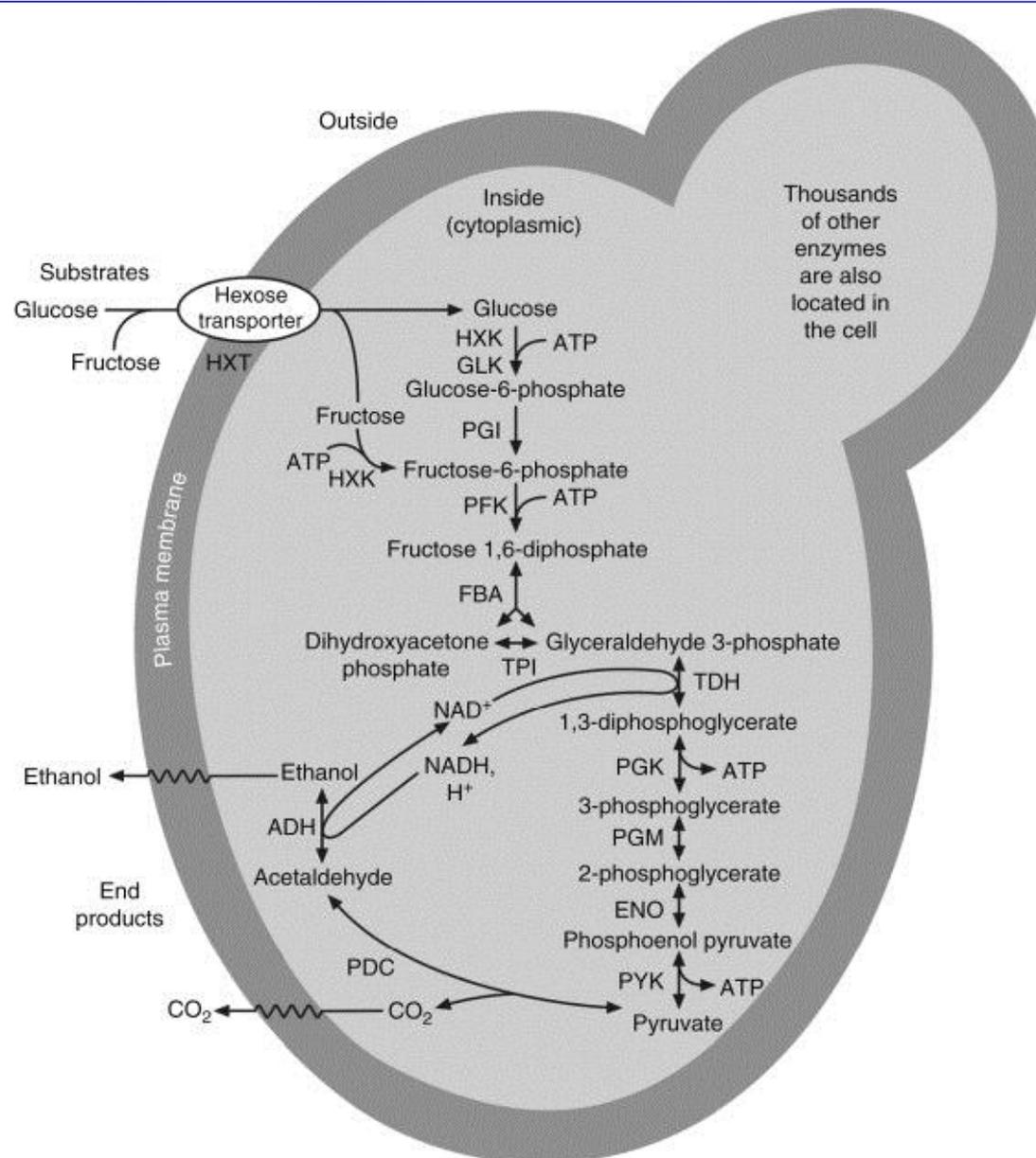
Fermentación alcohólica

La **fermentación alcohólica** es un proceso en el cual microorganismos obtienen **energía** mediante la transformación de compuestos orgánicos (ej. azúcares).



Este proceso se da en **ausencia de oxígeno**.

Nutrición y metabolismo microbiano



Materias primas para la producción de bioetanol

Materiales azucarados

- Sorgo dulce
- Caña de azúcar
- Remolacha “alcoholígena”



Materiales amiláceos

- Maíz, trigo
- Sorgo grano (contenido de taninos)
- Boniato



Materiales lignocelulósicos

- Madera
- Residuos agrícolas
- Pastos energéticos (pasto elefante, switchgrass)

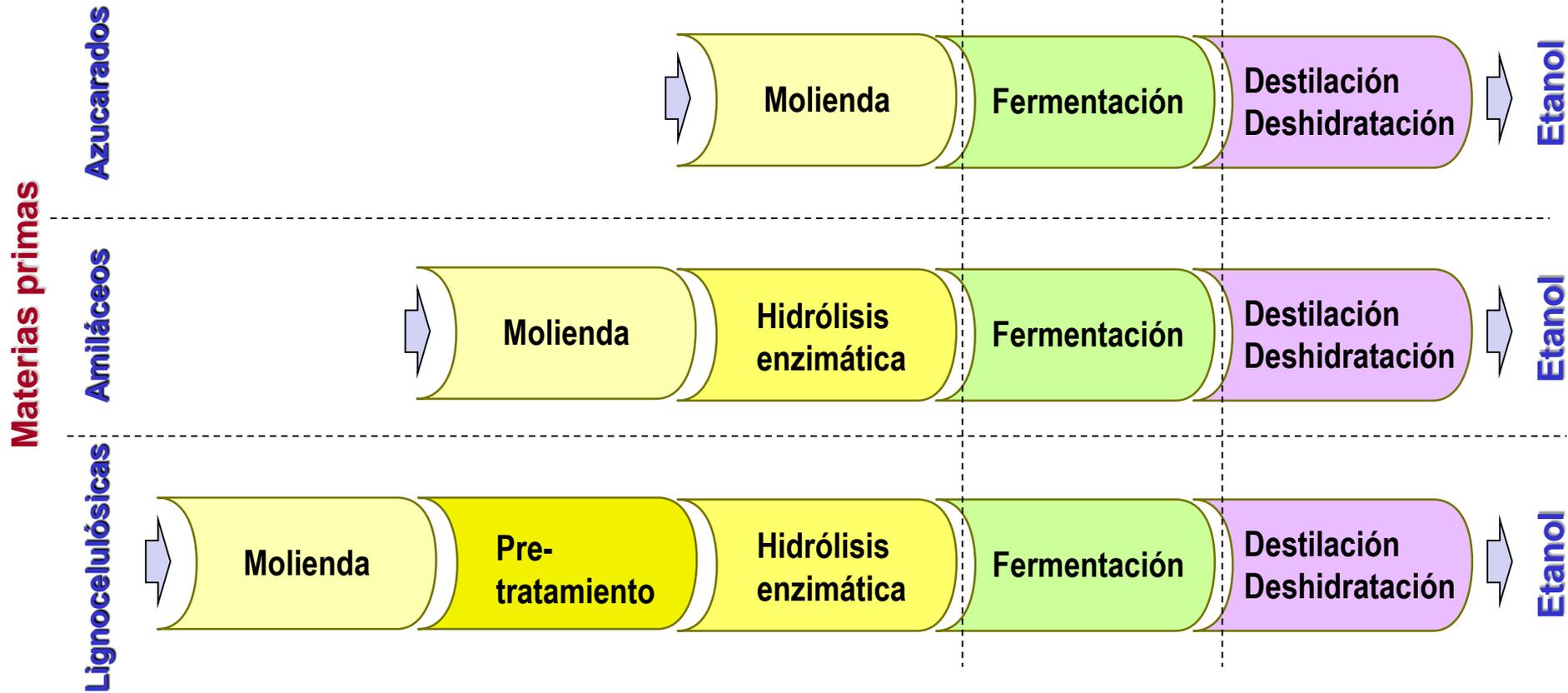


Procesamiento de las materias primas

Conversión de biomasa a azúcares fermentables

*Conversión de
azúcares en
etanol*

*Recuperación
de etanol*



Materias primas azucaradas

- La región geográfica condiciona el tipo de cultivo:
 - **Caña de azúcar** en regiones tropicales o sub-tropicales.
 - **Remolacha azucarera** en regiones templadas.
 - **Sorgo dulce**, es un cultivo resistente a la sequía, bajo requerimiento de nutrientes
- Su jugo contiene azúcares directamente fermentables por levaduras (**glucosa, fructosa, sacarosa**), como *Saccharomyces cerevisiae*.



Diagrama de flujo simplificado del proceso

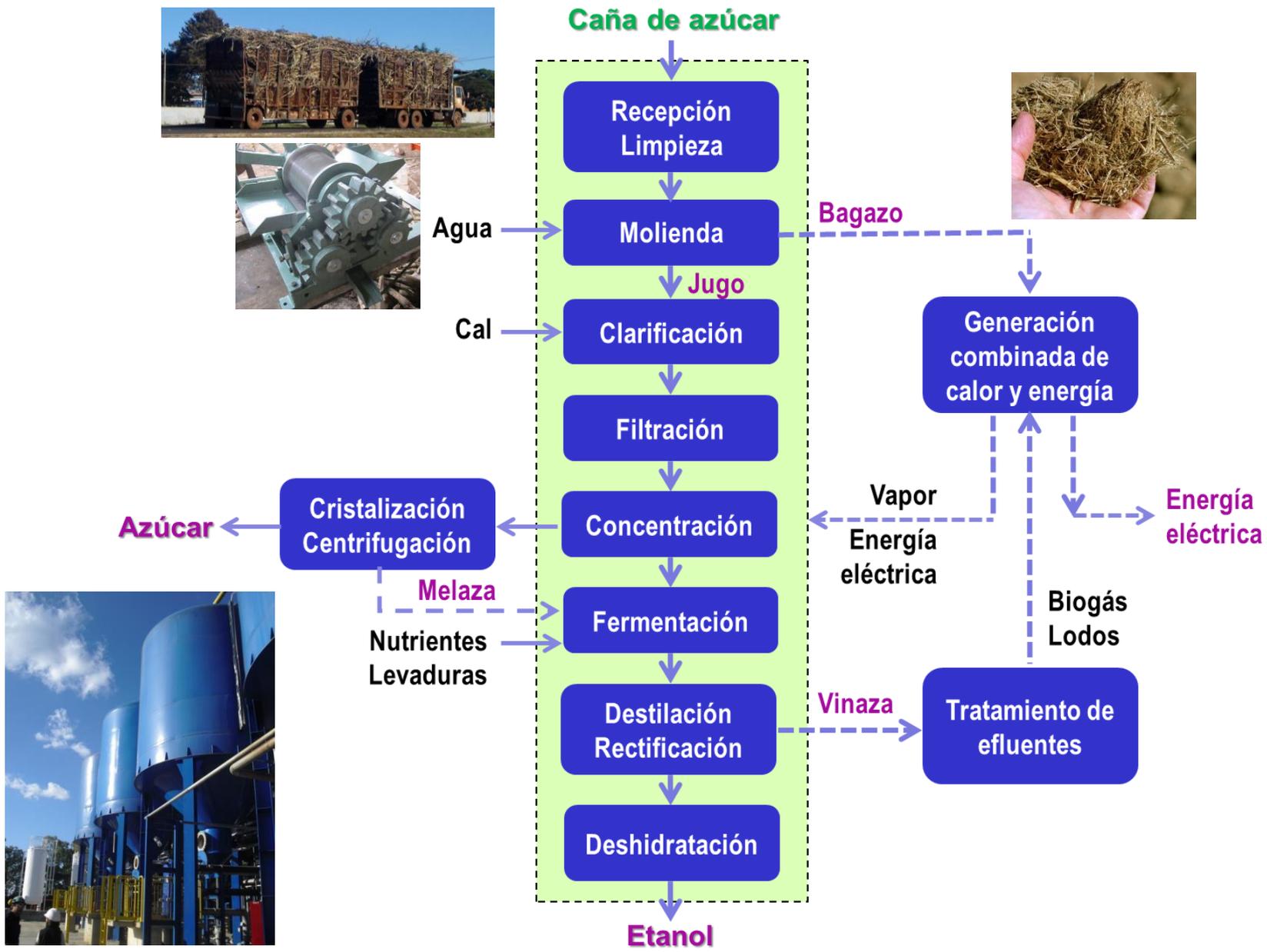


Diagrama de flujo simplificado del proceso

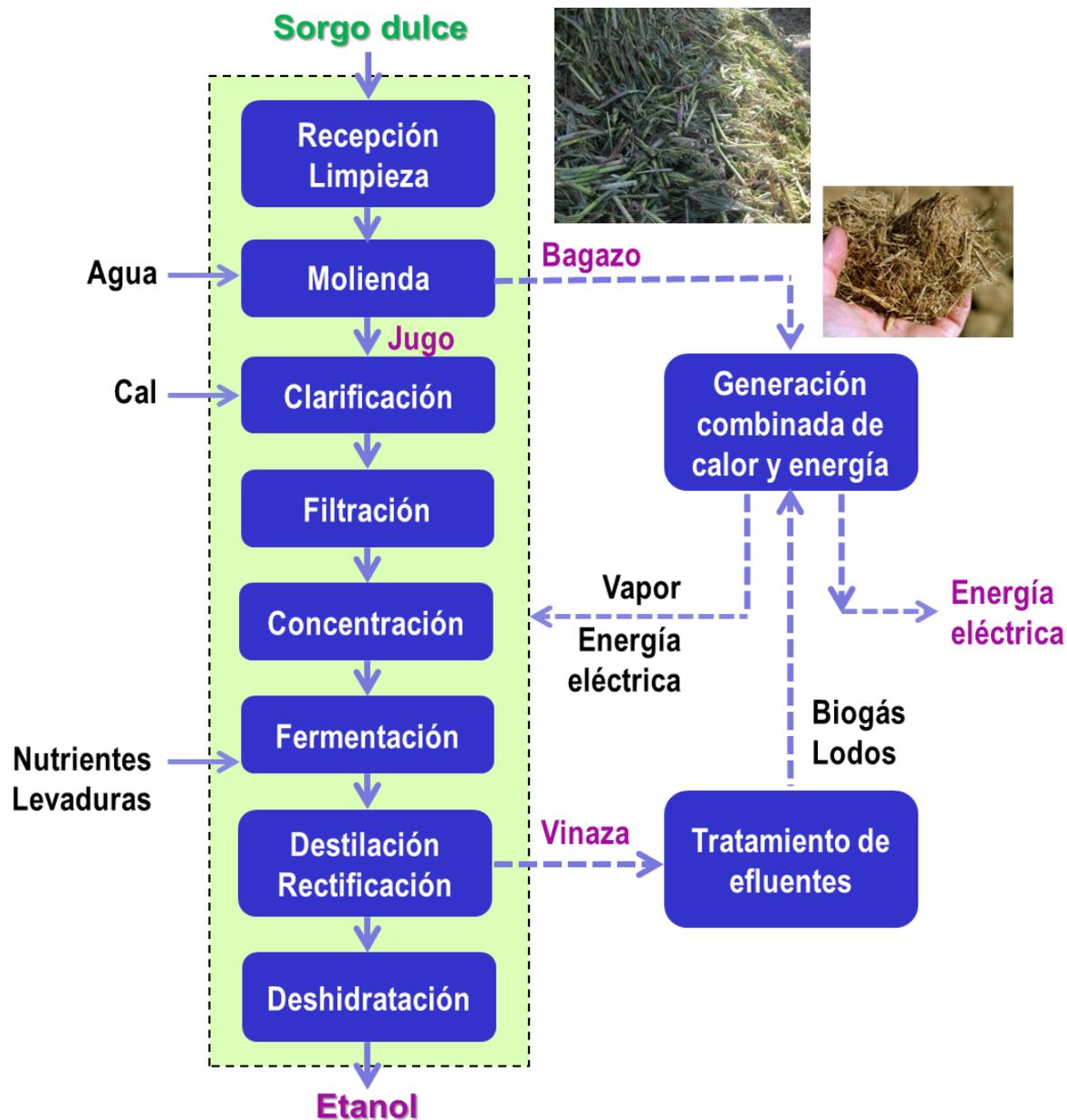
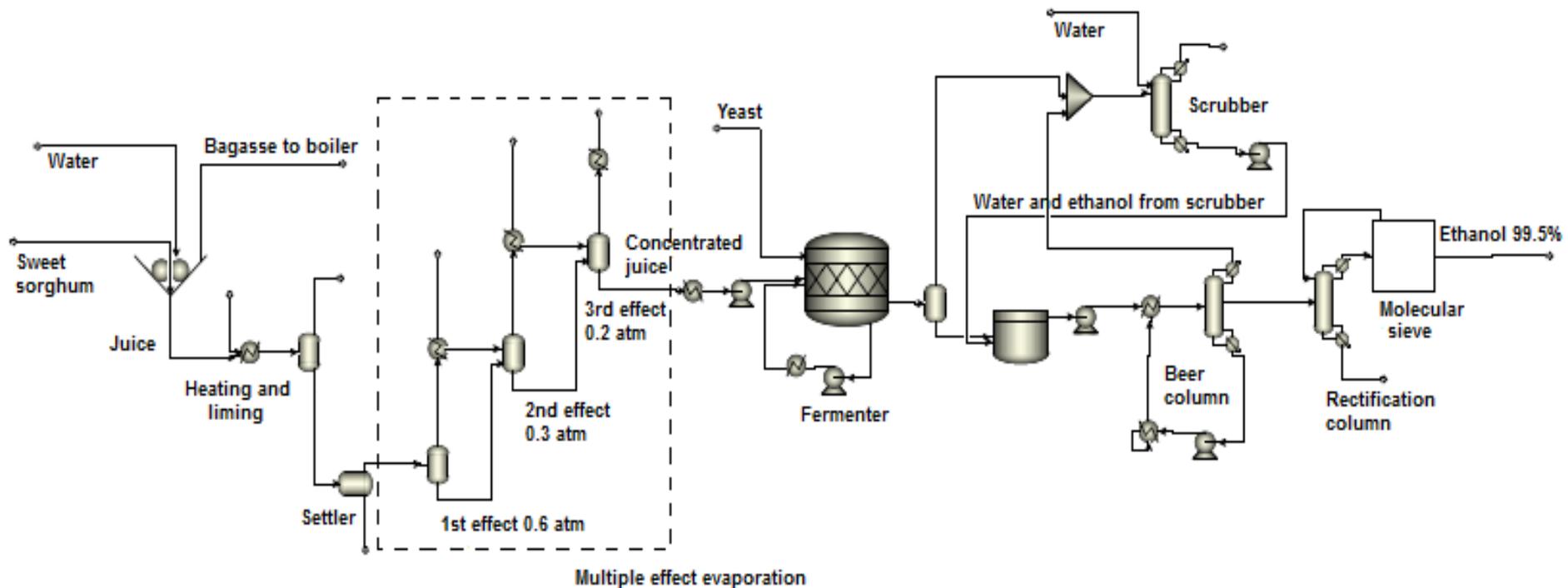
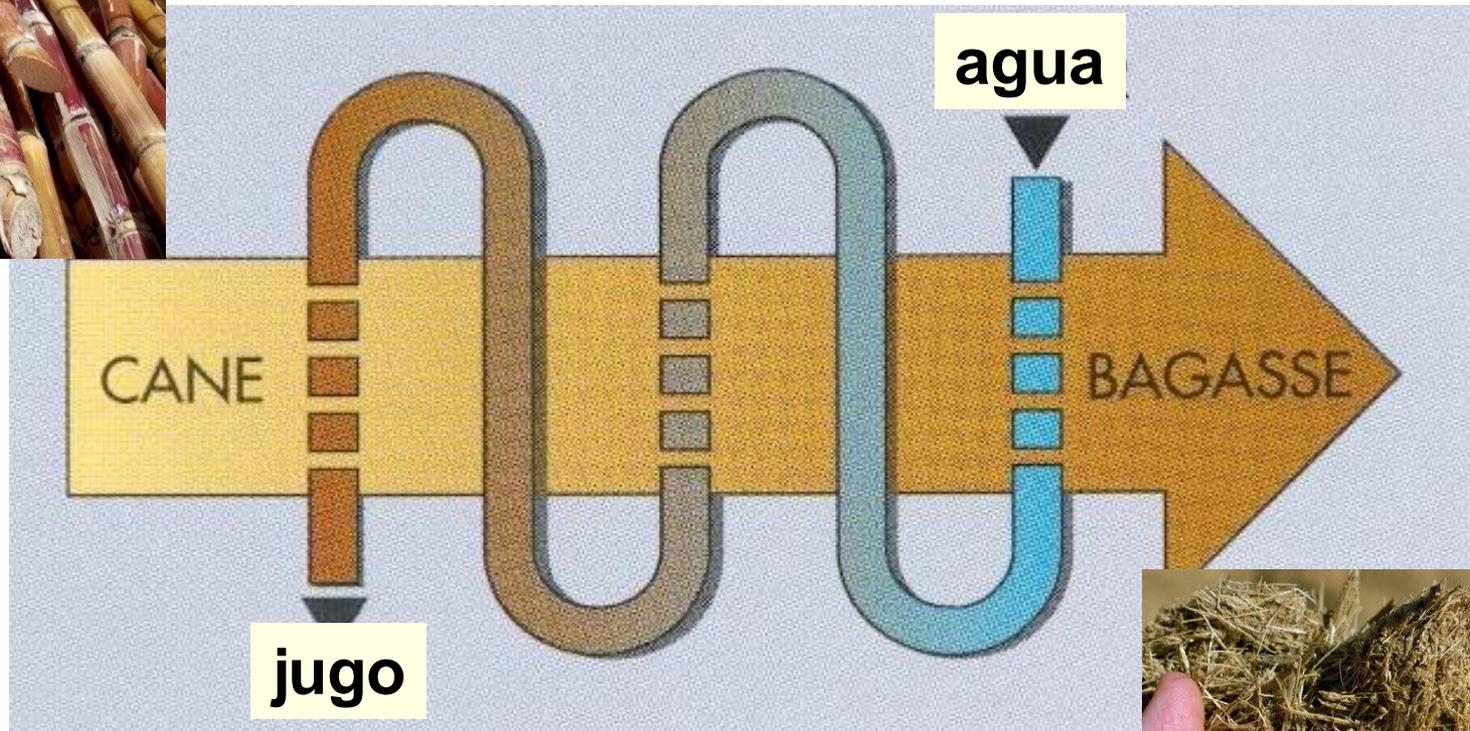


Diagrama de flujo simplificado de un proceso simulado

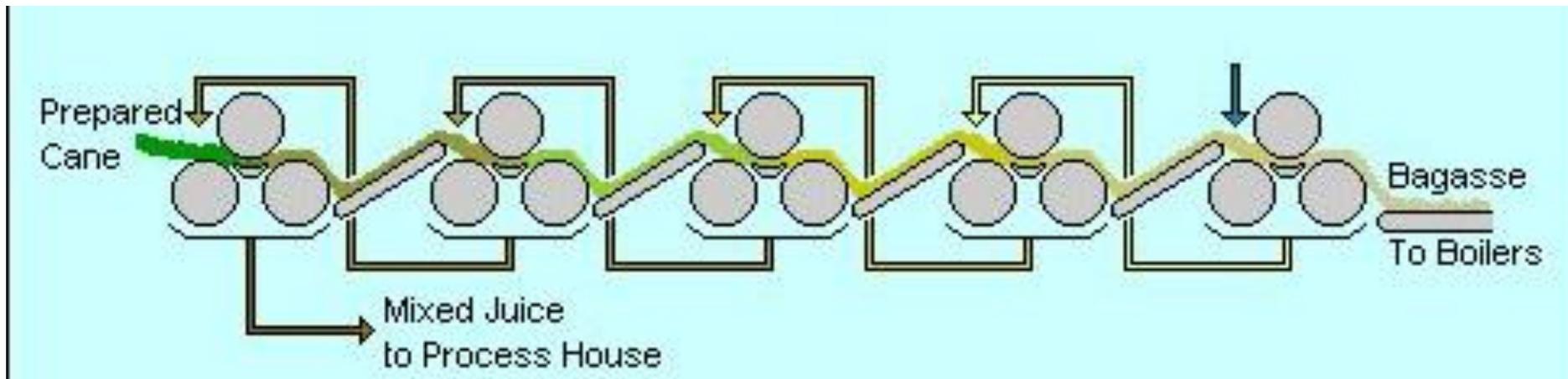


Extracción de jugo

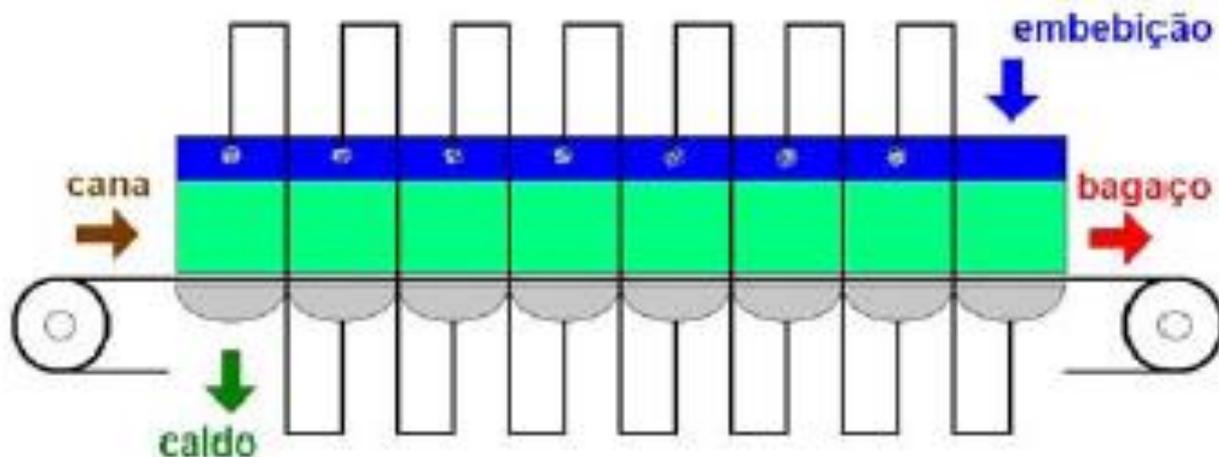
La eficiencia de extracción de azúcares es de aprox. 96% por trapiche (molienda) y 98% con difusores.



Extracción de jugo de caña de azúcar por molienda (trapiche)



Extracción de jugo de caña de azúcar por difusión



Especificações Técnicas

Capacidade	Até 80 ton fibra por hora (TFH)
Distância entre centros dos eixos	61,5 metros
Largura	Compatível com sua capacidade
Tempo de retenção	50 minutos, aproximadamente
Altura do colchão de bagaço	0,8 a 1,6 metro
Velocidade linear das correntes	De 0,4 a 1,1 metro/min
Consumo total de energia (sem moenda de secagem)	16,6 HP/TFH
Embebição	250 a 300% sobre fibra
Temperatura em operação	70 a 90° C
Consumo de vapor para aquecimento	60 a 100 kg de vapor / TCH
Extração de sacarose	Até 98,6%
Umidade final do bagaço (com moenda de secagem)	48 a 51%
Índice de células abertas	89% mínimo

Nutrientes

La composición del jugo y de la melaza varía con la tecnología de la refinería del azúcar y de las condiciones de cultivo (condiciones climáticas, variedad, tipo de suelo, tiempo de cosecha, etc.).

Nutrient	Range concentration* (mg/L)	Optimum level* (mg/L)
Nitrogen (NH ₄ ⁺ and R-NH ₂)	70-350	100-300
Phosphorus	20-200	50-250
Potassium	300-12,000	700-1,300
Magnesium	80-3,900	100-200
Sulphur	80-3,900	as low as possible
Calcium	150-2,000	as low as possible
Zinc	0.45-9	1-5
Copper	0,20-8	1-5
Manganese	2-8	1-5
Aluminium**	2-500	<10 (in juice substrate)

Table 1. Mineral composition of sugar cane based substrates and the recommended levels for yeast fermentation (Amorim and Leão, 2005). *Concentration of the element; **Not a nutrient, but a toxicant.

Caracterización química de jugos

Muestra 2011:

Jugo de sorgo dulce
68°Brix

Muestra 2013:

Mezcla de jugos (caña
de azúcar 75 % y sorgo
dulce 25 %)
64°Brix

Parámetro	Unidades	Muestra 2011	Muestra 2013
Sacarosa	%	20	75
Glucosa	%	16	5
Fructosa	%	31	3
Azúcares totales como glucosa (*)	%	68	87
Etanol	%	-	0,69
Ácido succínico	%	0,01	0,15
Ácido acético	%	0,22	0,11
Ácido butírico	%	0,26	0,34
Ácido cis-aconítico	%	0,52	0,13
Ácido trans-aconítico	%	1,3	1,05
Furfural e Hidroximetilfurfural	%	No detectados	No detectados
Almidón	%	7,3	-
Sodio	%	0,02	0,04
Potasio	%	1,56	0,76
Calcio	%	0,61	0,18
Magnesio	%	0,24	0,11
Nitrógeno	%	0,13	0,31
Fósforo	%	< 0,5	<0,5
Cinc	%	<0,0005	<0,0005
Manganeso	%	0,004	0,0012
Aluminio	%	< 0,002	<0,002
Hierro	%	0,03	0,0047
Cobre	%	<0,0005	<0,0005
Cenizas	%	4,7	2,5
Humedad	%	28	32
Densidad (20°C)	kg/m ³	1295	1333

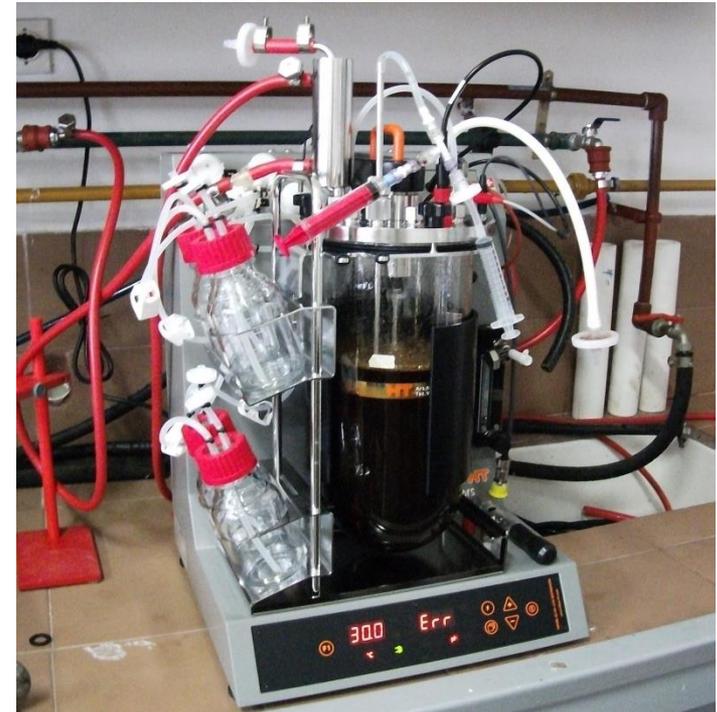
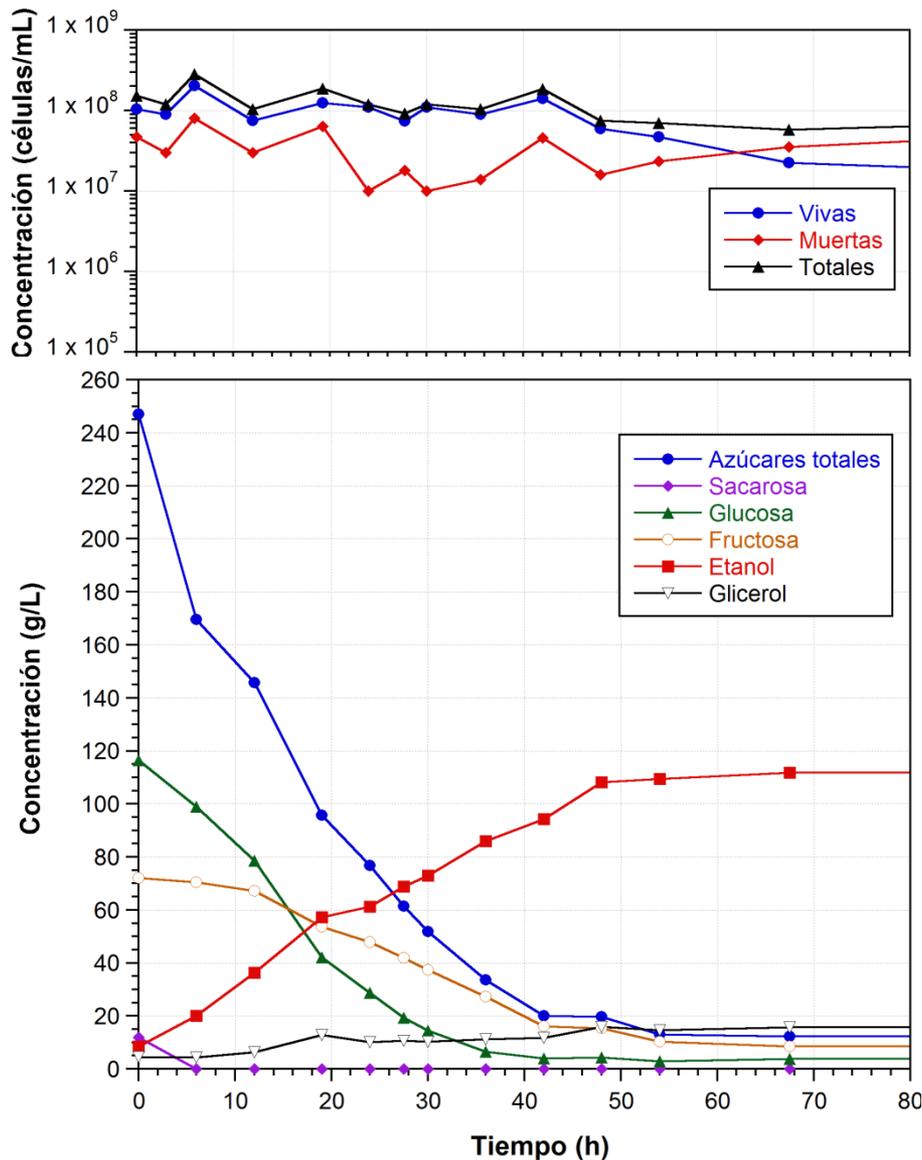
% en peso.

Excepto la humedad todos los valores se expresan en base seca.

No detectado: concentraciones inferiores a 0,003%

* Azúcares totales como glucosa: glucosa + fructosa + 1,05 sacarosa.

Perfiles de fermentación – Jugo de sorgo - Batch



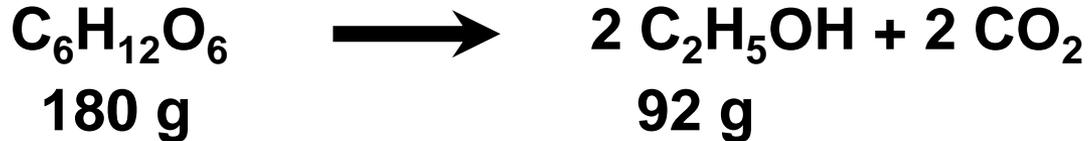
Parámetros a las 48 h de fermentación

Conversión de azúcares (%)	Rendimiento de etanol ($\text{g}_{\text{etanol}} / \text{g}_{\text{azúcares}}$)	Eficiencia global ^b (%)
92	0.44	86

Azúcares totales como glucosa: glucosa + fructosa + 1.05 sacarosa

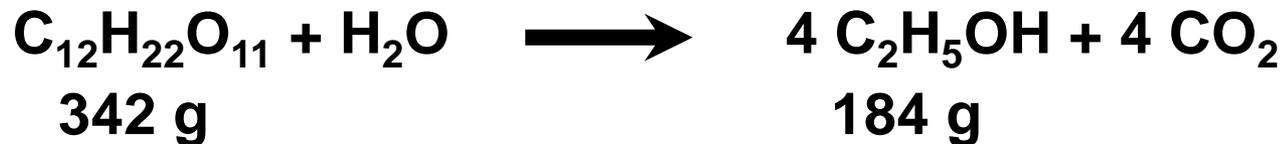
Rendimiento de etanol teórico

Glucosa \longrightarrow 2 etanol + 2 dióxido de carbono



Rendimiento teórico de etanol = $92 \text{ g}/180 \text{ g} = 0.511 \text{ g/g}$

Sacarosa + agua \longrightarrow 4 etanol + 4 dióxido de carbono



Rendimiento teórico de etanol = $184 \text{ g}/342 \text{ g} = 0.538 \text{ g/g}$

Fermentación de jugo de sorgo dulce

Table 4 – Total sugars and ethanol production from sweet sorghum varieties.

Variety	Total sugars in juice (g/L)	Final ethanol concentration (g/L)	Ethanol yield (g/g) ^a	Ethanol yield (L/t plant) ^b
M81	121	46	0.40	25
Topper	174	77	0.42	38
Theis	140	72	0.47	40

a Ethanol yield was calculated as gram of ethanol produced per gram of total sugars consumed.

b Calculated using the stalk plant (S) data.

Bioethanol production from sweet sorghum: Evaluation of post-harvest treatments on sugar extraction and fermentation

Mairan Guigou^a, Claudia Lareo^{a,*}, Leticia Verónica Pérez^a, María Elena Lluberás^a, Daniel Vázquez^b, Mario Daniel Ferrari^a

^aDepto. Bioingeniería, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República, J. Herrera y Reissig 565, CP 11300 Montevideo, Uruguay

^bInstituto Nacional de Investigaciones Agronómicas (INIA), La Estanzuela, Colonia, Uruguay

Fermentaciones con alto contenido de azúcares iniciales (VHG: Very High Gravity)

Alto contenido de azúcares en el medio



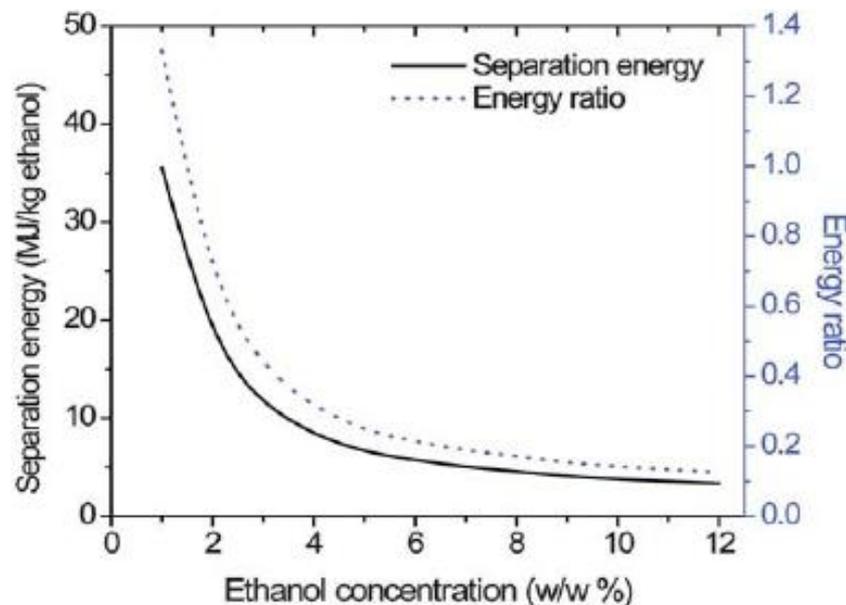
Alta concentración de etanol



Bajo consumo de energía en la recuperación del etanol

Puede producir fermentaciones lentas y/o incompletas, y productos secundarios:

- Alta presión osmótica
- Toxicidad del etanol
- Toxicidad de otros compuestos generados durante la concentración del medio



Etanol a partir de sorgo dulce – VHGH

Energy evaluation of fuel bioethanol production from sweet sorghum using very high gravity (VHG) conditions

Valeria Larnaudie, Eloísa Rochón, Mario Daniel Ferrari, Claudia Lareo*

Depto. Bioingeniería, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República, J. Herrera y Reissig 565, CP 11300, Montevideo, Uruguay

Renewable Energy 88 (2016) 280 - 287



Azúcares iniciales ^a (g/L)	Etanol ^b (g/L)	Glicerol ^c (g/L)	Conversión de azúcares (%)	Eficiencia de fermentación ^{b,d} (%)
142 ± 2	66.8 ± 0.3	10.6 ± 0.2	97 ± 1	91 ± 2
193 ± 3	95.5 ± 0.7	9.5 ± 0.5	97 ± 1	85 ± 2
226 ± 10	97.8 ± 6.5	11.0 ± 1.8	80 ± 6	87 ± 2
318 ± 13	74.0 ± 0.1	9.4 ± 0.8	47 ± 2	84 ± 8

Valores promedio de duplicados.

^a Expresados como equivalentes de glucosa.

^b Valor final. La concentración inicial de etanol estuvo en el rango: 10 to 15 g/L.

^c Corrected by the initial glycerol concentration.

^d Efficiency based on 0.511 g ethanol/g sugars as glucose.

Bajo condiciones VGH con una levadura comercial se obtuvo una conversión incompleta de azúcares.

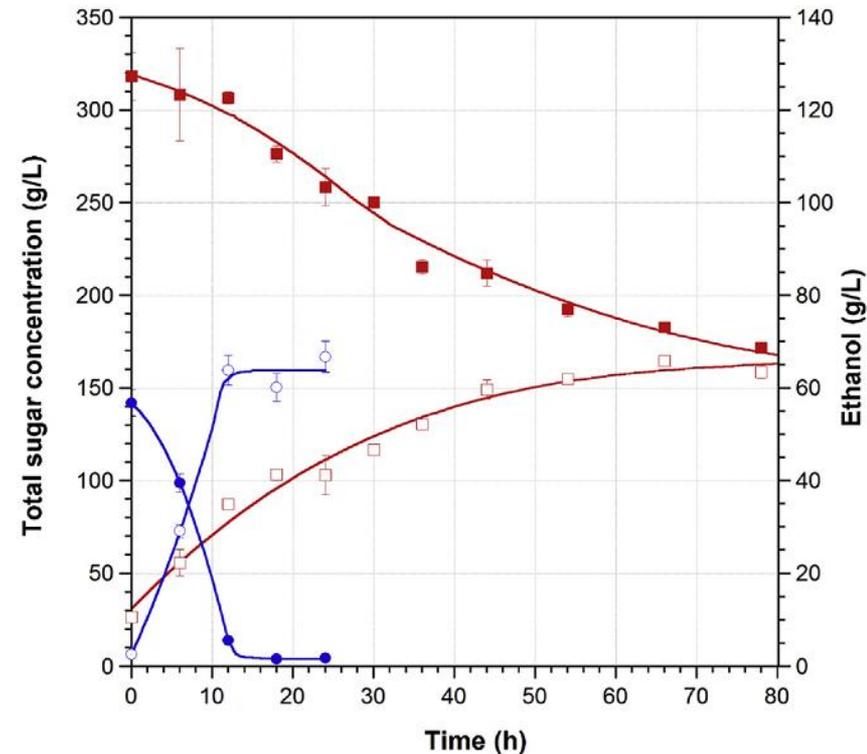
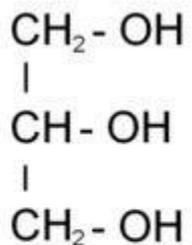


Fig. 3. Sugar concentration (close symbols) and ethanol production (open symbols) for different initial sugar concentrations: 142 g/L (●), 318 g/L (■).

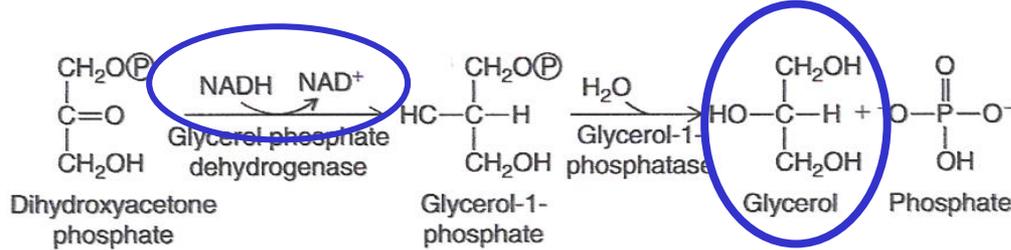
Glicerol

- En fermentaciones industriales se produce hasta aprox. 1.0% (p/v) (Bai et al., 2008).
- *Saccharomyces* sintetiza glicerol como un metabolito **osmoregulador** en respuesta a la elevada presión osmótica de la concentración de azúcares en el fermentador.
- Cuando la levadura está creciendo en un **medio** con **alto contenido** en **azúcar** (ej. temprano en la fermentación, cuando la presión osmótica es elevada).
- Se forma para **consumir el exceso de NADH** formado en la asimilación de azúcares para formar componentes celulares (**para mantener el balance redox**) (van Dijken y Scheffers, 1986).

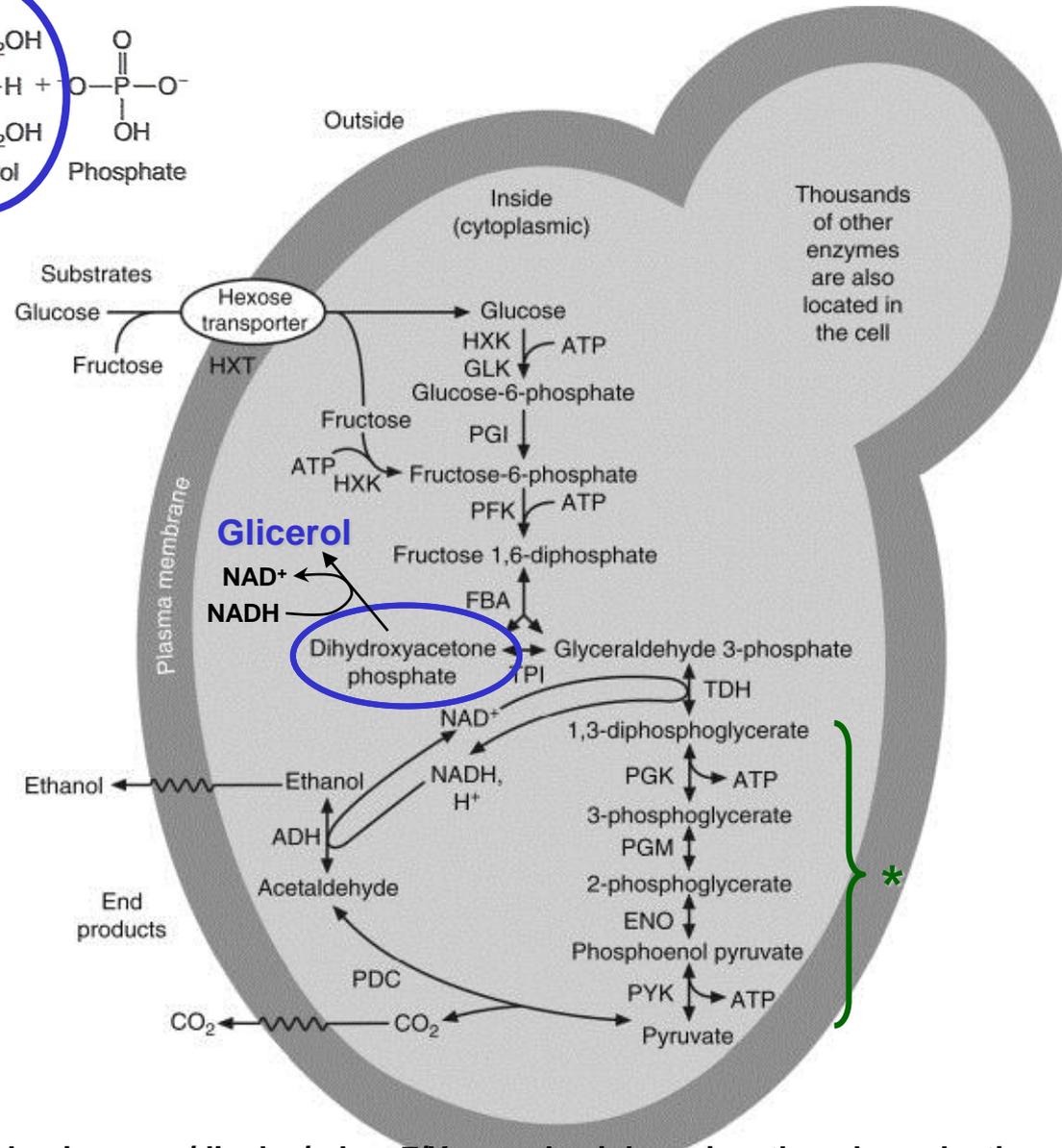


GLICEROL

Producción de glicerol



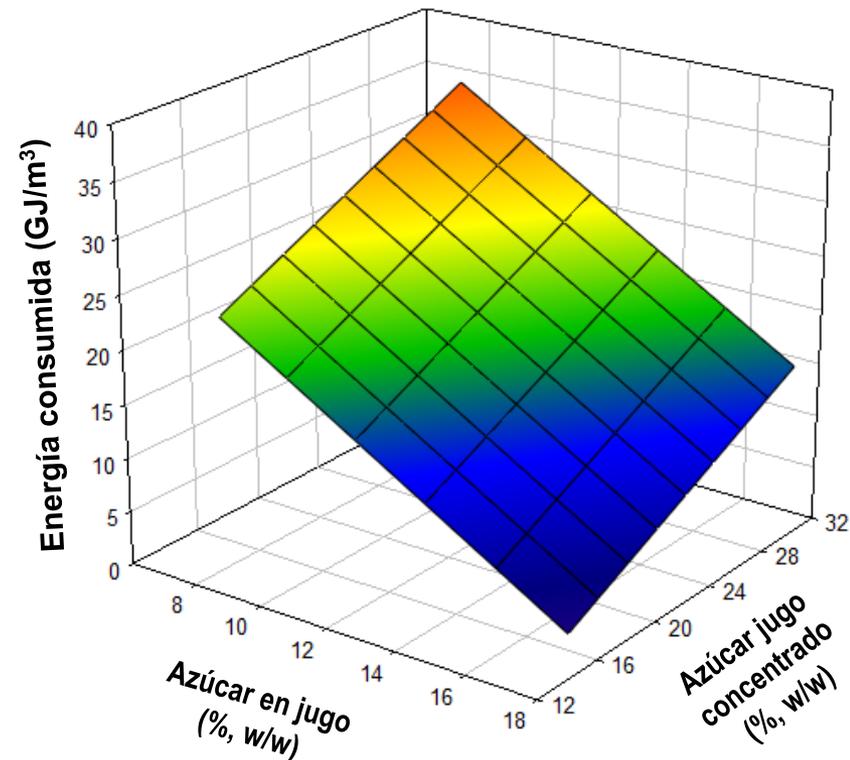
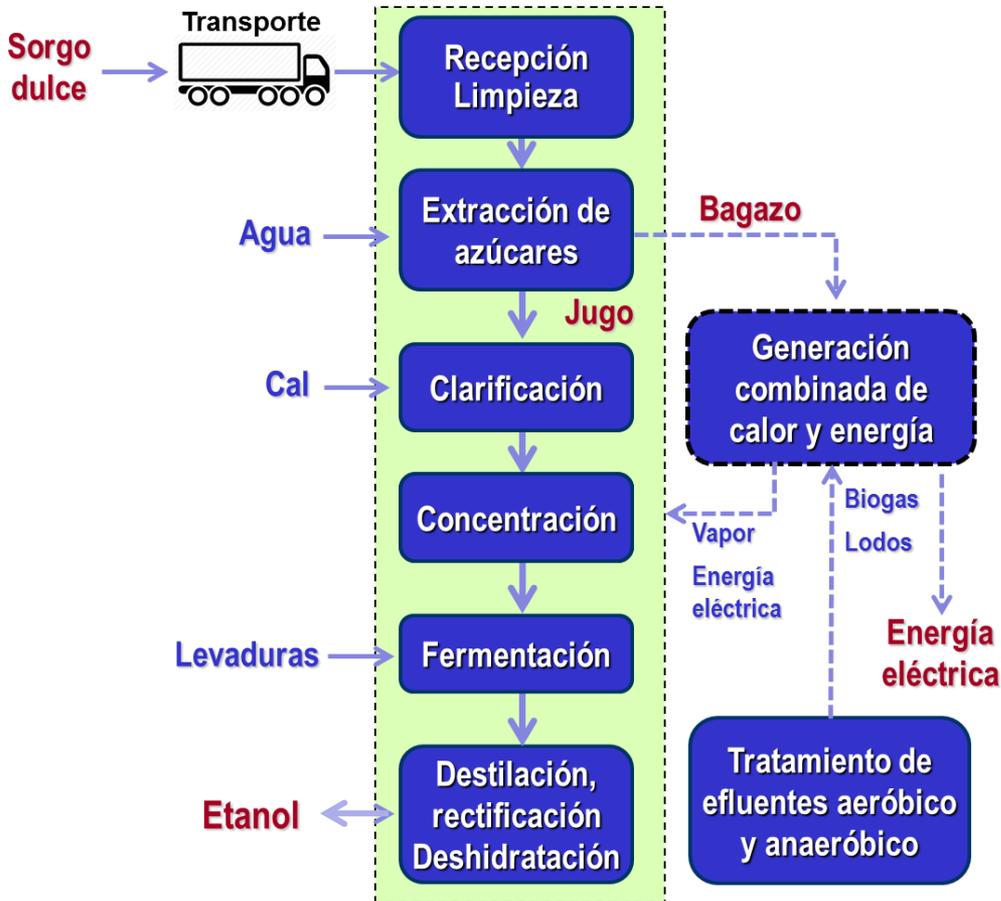
- * A altas presiones osmóticas, disminuye el flujo a piruvato debido a la utilización de intermediarios de la ruta glucolítica para crecimiento y se acumula NADH.



Evaluación consumo de energía - sorgo dulce

Simulación del proceso industrial con Aspen Plus®

Caso base: 20,000 m³ etanol anhidro, calidad 99.5% v/v.
La planta trabaja 24 h/d, 160 días por año (125 m³ etanol/d).



Evaluación consumo de energía - sorgo dulce

Etapas del proceso	14% azúcar en jugo concentrado		25% azúcar en jugo concentrado	
	Consumo energía (GJ/m ³ etanol)	Consumo energía (%)	Consumo energía (GJ/m ³ etanol)	Consumo energía (%)
Transporte	0.39	2.4	0.39	1.8
Extracción azúcares	0.67	4.0	0.66	2.9
Clarificación	3.07	18.5	2.10	9.4
Concentración	2.60	15.6	10.79	48.2
Inóculo	0.08	0.5	0.08	0.4
Fermentación	0.05	0.3	0.12	0.6
Recuperación etanol	8.86	53.3	7.29	32.6
Tratamiento efluentes	0.91	5.4	0.93	4.2
TOTAL	16.63	100	22.36	100

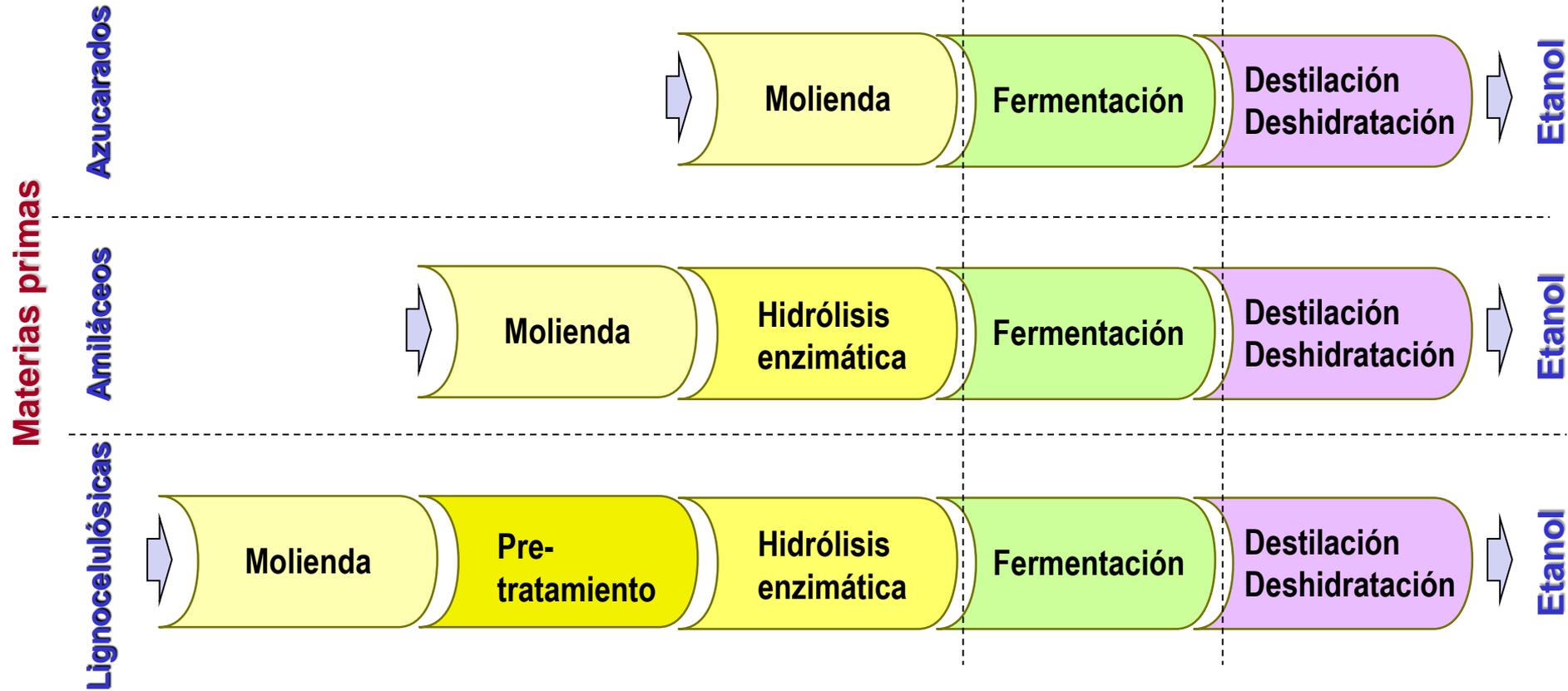
- El **ahorro de energía** en la **destilación** por el uso de **condiciones VHG** fue **menor** que la **energía** necesaria para **concentrar el jugo**.
- La **tecnología VHG** con jugo de sorgo se podría justificar si la **concentración de jugo** es necesaria para **conservar el jugo**.

Procesamiento de las materias primas

Conversión de biomasa a azúcares fermentables

*Conversión de
azúcares en
etanol*

*Recuperación
de etanol*



Materias primas amiláceas

- Contienen mayoritariamente almidón.
- Cereales (maíz, sorgo grano, trigo, cebada) y tubérculos (papa, boniato, mandioca).

Maíz



Sorgo grano



Boniato



Composición de algunas materias primas amiláceas

Variedad de sorgo grano	Humedad (%)	Almidón (%)	Amilosa (%)	Proteínas (%)*	Taninos (%)**	Cenizas (%)
Flash 10 Plus	11.46 ± 0.06	70.7 ± 0.9	11.5 ± 1.7	11.7	< 0.2	1.20 ± 0.00
8419	12.79 ± 0.02	68.4 ± 0.8	14.4 ± 0.9	11.0	1.06 ± 0.02	1.34 ± 0.04
Flash 1	12.36 ± 0.04	68.0 ± 0.4	14.4 ± 1.0	12.1	1.96 ± 0.24	1.24 ± 0.01

± desvío estándar del ensayo por duplicado o triplicado según corresponda.

*Determinación sobre una única muestra realizado externamente

**El contenido de taninos se expresa como porcentaje de equivalentes de catequina (EC), límite de detección 0.2% .

Depto. Bioingeniería

Boniato	Humedad (%)	Azúcares libres (% p/p db)			Almidón (% p/p db)	Azúcares totales (% p/p db)	Fibra (% p/p db)	Proteínas (% p/p db)	Lípidos (% p/p db)	Cenizas (% p/p db)
		Glucosa	Fructosa	Sacarosa						
Fresco	73.1 ± 0.1	2.4 ± 2.1	2.6 ± 1.6	8.0 ± 0.4	55.5 ± 1.8	75.0 ± 6.1	1.0 ± 0.1	3.5 ± 0.8	0.4 ± 0.1	4.1 ± 0.3
Harina	7.7 ± 0.0	2.1 ± 0.2	1.6 ± 0.1	15.8 ± 0.6	51.1 ± 3.7	77.0 ± 5.0	3.0 ± 0.3	6.6 ± 1.5	1.8 ± 0.5	2.7 ± 0.1

db: base seca; azúcares totales en equivalentes de glucosa: 1.11 x almidón+ glucosa + fructosa + 1.05 x sacarosa.

Table 1

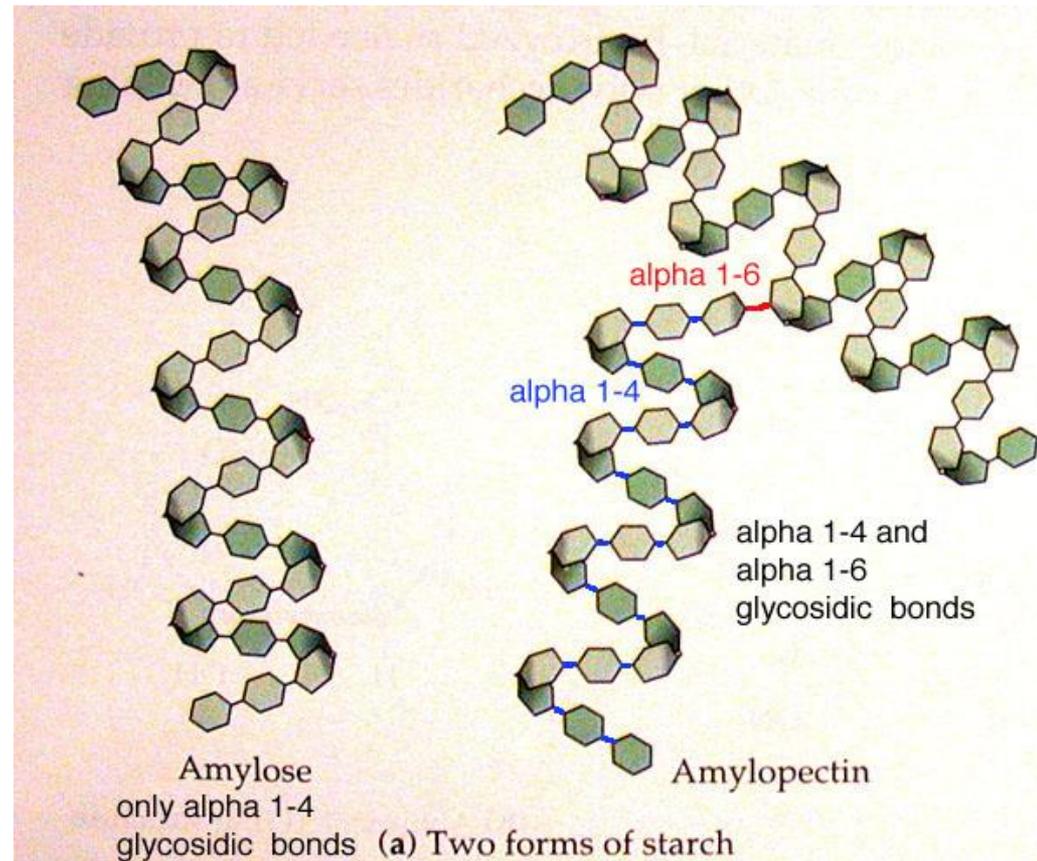
Composition of corn used in simulations

Component	Base-case corn (mass%)	Reduced starch corn (mass%)
Starch	59.5	55.0
Water	15.0	15.0
Non-starch polysaccharides	7.0	11.5
Other solids	6.7	6.7
Protein—insoluble	6.0	6.0
Protein—soluble	2.4	2.4
Oil	3.4	3.4

Kwiatkowski et al. (2006) Industrial Crops and Products 23: 288-296

Materias primas amiláceas

- El almidón es un **polisacárido** $(C_6H_{10}O_5)_n$ de un solo monómero, **glucosa**.
- Consiste de 2 fracciones:
 - **amilosa** (20-25%), soluble en agua y
 - **amilopectina** (75-80%) insoluble en agua.
- Para que *S. cerevisiae* pueda fermentarlo hay que hidrolizarlo.
- La hidrólisis puede ser: **enzimática** (α -**amilasas** y **amiloglucosidasas**) o **ácida**.



Almidón

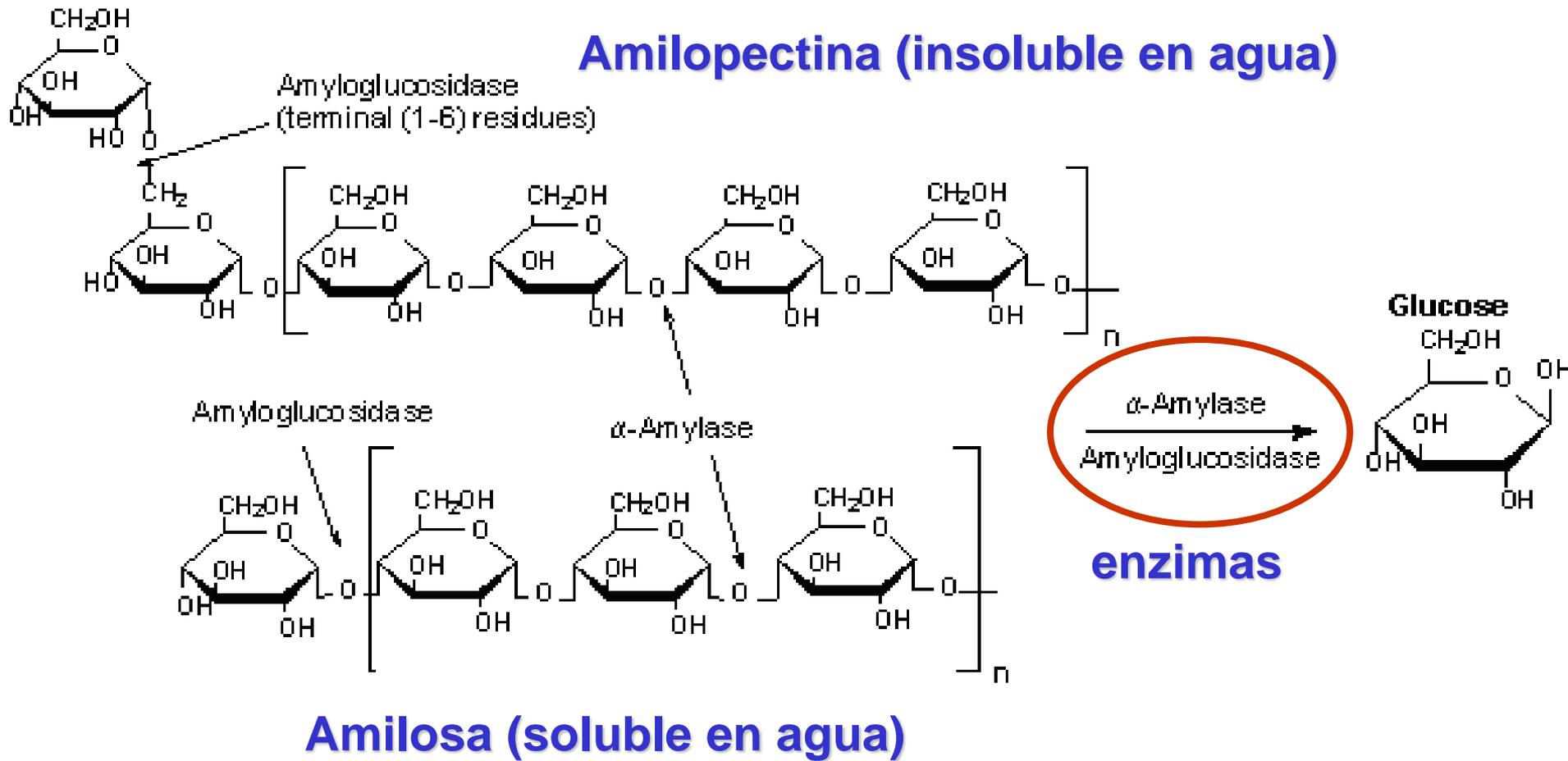


Diagrama de flujo simplificado del proceso



Sorgo grano (1 t)

Recepción
Limpieza

Molienda



Agua →
 α -amylasa →
Gelatinización
Licuefacción

Amyloglucosidasa
(AMG) →
Sacarificación

Levadura
(*S. cerevisiae*) →
Fermentación

SSF

Destilación
Rectificación

Secado

**Alimento
animal**
(300 kg)

Waste water
treatment

Dehydratation

Etanol
(390 L)

$(C_6H_{10}O_5)_n$ Almidón

$C_6H_{12}O_6$ Glucosa

C_2H_5OH Etanol

SSF: sacarificación y
fermentación simultáneas

Hidrólisis enzimática del almidón

Etapas

Gelatinización

**Calentamiento y
agitación (90 - 100°C)**



Licuefacción

α -amilasa

**Actúa sobre enlaces glucosídicos
internos α -D-(1-4) en forma random
(75 – 86°C, pH 6)**



Sacarificación

Amiloglucosidasa

**Actúa sobre enlaces glucosídicos
 α -D-(1-4) y α -D-(1-6) de finales no
reductores obteniendo glucosa
como producto final (60°C, pH 4.5)**

SHF vs SSF

Proceso SHF (hidrólisis y fermentación en etapas separadas)

Ventajas: Las etapas de hidrólisis y fermentación se realizan en condiciones óptimas.

Desventajas: Las amiloglucosidasas (AMG) son inhibidas por glucosa.

Proceso SSF (sacarificación y fermentación simultáneas)

Ventajas: La glucosa que inhibe a la AMG se va consumiendo durante la fermentación.

Reduce el tiempo y energía del proceso global.

Desventajas: Las condiciones de operación generalmente no son óptimas para la etapa de hidrólisis con la AMG:

- temperatura óptima de AMG 60°C; pH 4
- temperatura de fermentación 30°C; pH 4.5

Factores que afectan la producción de etanol a partir de sorgo grano

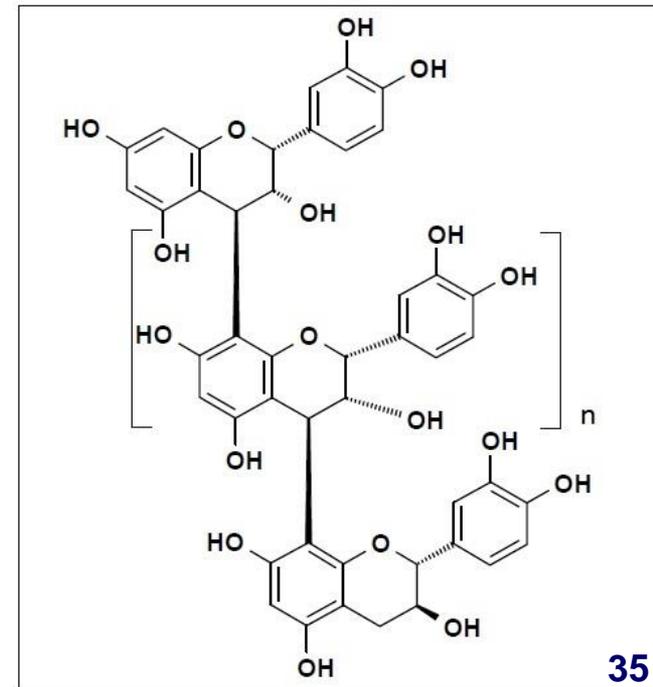
El rendimiento industrial depende de:

- **Contenido de almidón**
- **Biodisponibilidad del almidón**, la relación **amilosa-amilopectina**
- **Interacción** del almidón con **otros componentes** del grano (proteínas)
- La presencia de inhibidores como **taninos** (compuestos fenólicos).
- **Viscosidad** de la suspensión del grano de sorgo molido

Las variedades de sorgo con mayor rendimiento agrícola, ya sea de granos o de almidón por hectárea, no necesariamente producirán mayores rendimientos de etanol por cantidad de materia prima procesada.

Taninos en sorgo grano

- **Aumenta el rendimiento agrícola** por menor depredación por aves (~ 50%).
- Actúan como **inhibidores de enzimas** resultando en suspensiones de **alta viscosidad** y **procesos lentos e incompletos**.
- Requieren **alta temperatura, tiempo** y **agitación** para la hidrólisis del almidón, afectando la funcionalidad del equipo industrial y la economía del proceso.
- Posible **inhibición sobre la levadura**.



En los taninos del sorgo $n = 15$
(Hagerman, 2002)

Sorgo grano

Parameters of SSF for the different sorghum cultivar studied.

Cultivar	Solid: Liquid ratio	Gelati-nization	Glucose ^a (g/L)	Ethanol ^b (g/L)	Glycerol ^c (g/L)	Global efficiency ^d (%)	Industrial yield ^e (L/t)
Flash 10 Plus	1:5	No	134	56.9 ± 0.1	7.9 ± 0.4	82.2 ± 0.1	332
		Yes	134	62.0 ± 1.4	8.8 ± 0.4	90.0 ± 2.0	362
	1:4	No	163	64.4 ± 2.7	9.2 ± 0.2	78.3 ± 3.2	310
		Yes	163	76.6 ± 2.4	11.6 ± 0.3	92.0 ± 2.9	369
	1:3	Yes	208	86.8 ± 1.1	11.7 ± 0.1	86.1 ± 1.0	312
8419	1:5	No	128	57.0 ± 5.7	8.4 ± 0.6	86.1 ± 8.8	338
		Yes	128	59.8 ± 0.9	8.4 ± 0.0	92.0 ± 1.4	355
	1:4	No	155	60.7 ± 3.7	8.6 ± 0.1	76.3 ± 4.6	297
		Yes	155	74.5 ± 4.9	11.3 ± 0.2	93.9 ± 6.1	364
	1:3	Yes	208	83.5 ± 0.5	12.0 ± 0.1	86.1 ± 0.4	305
		Yes ^f	211	106.8 ± 4.0	12.0 ± 0.4	100 ± 3.7	390
Flash 1	1:5	No	128	53.5 ± 2.6	8.0 ± 0.2	82.2 ± 4.0	316
		Yes	128	60.1 ± 0.7	8.0 ± 0.0	92.0 ± 1.0	355
	1:4	No	155	59.2 ± 0.2	7.7 ± 0.4	74.4 ± 0.3	288
		Yes	155	75.6 ± 3.0	11.5 ± 0.3	95.9 ± 3.8	368
	1:3	Yes	208	89.5 ± 5.6	11.9 ± 0.3	90.0 ± 5.3	325
Mixture 1:1:1	1:3	Yes	211	94.1 ± 7.2	11.7 ± 0.0	93.9 ± 6.8	341

^a Theoretical initial glucose calculated based on the starch content of sorghum flour and assuming complete hydrolysis (see Eq. (1)).

^b Maximum observed.

^c Glycerol was not detected at time 0.

^d Global efficiency based on 0.511 g ethanol/g glucose and 1.11 g glucose/g starch (see Eq. (3)).

^e Dry base.

^f Treated with NaOH to reduce tannin content.

M.B. Ramírez et al. / Journal of Cereal Science 69 (2016) 125–131



Diagrama de flujo simplificado del proceso

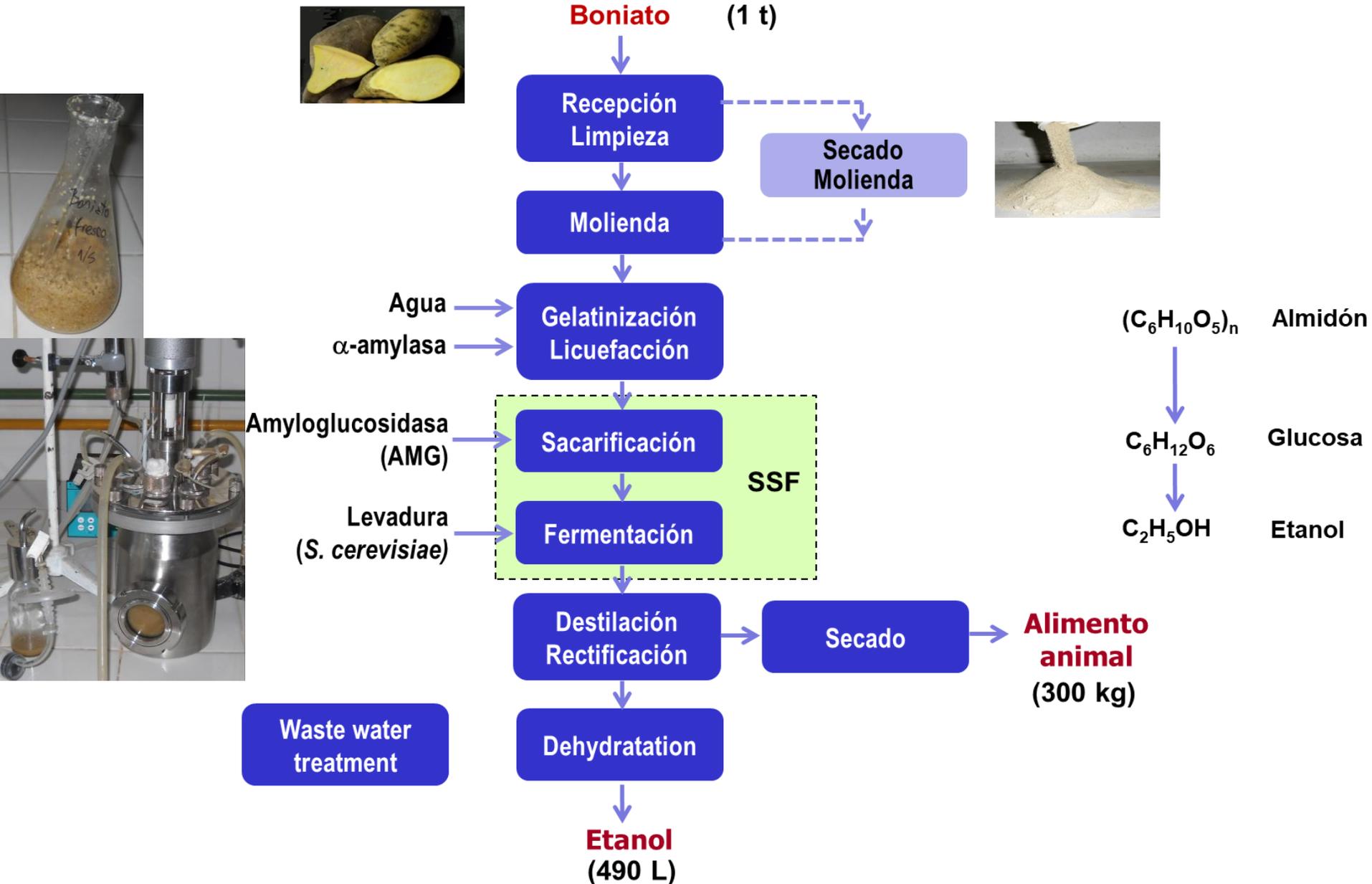


Table 3 Fermentation results for fresh sweet potato and flour at different dry matter to water ratios

Sweet potato	Dry matter to water ratio (w/v)	Ethanol (g/L)	Glycerol (g/L)	Sugar conversion (%) (*)	Efficiency (%) (†)	Productivity (g/Lh)	Industrial yield (L ethanol/t sweet potato dry base) (‡)	Agroindustrial yield (L ethanol/ha) (‡,§)
Fresh	1:2.2 (‡)	100 ± 11	9 ± 1	67 ± 7	92 ± 1	2.1 ± 0.3	320 ± 37	3170 ± 360
	1:5	63 ± 6	8 ± 1	88 ± 3	82 ± 4	2.6 ± 0.3	380 ± 34	3730 ± 330
	1:8	45 ± 5	8 ± 1	100 ± 0	84 ± 9	3.2 ± 0.4	490 ± 54	4790 ± 530
Flour	1:2	99 ± 1	12 ± 1	77 ± 2	79 ± 6	2.1 ± 0.1	305 ± 12	2990 ± 120
	1:3	97 ± 5	9 ± 1	100 ± 0	92 ± 5	2.7 ± 0.2	460 ± 22	4490 ± 220
	1:5	58 ± 1	7 ± 1	99 ± 2	90 ± 1	3.6 ± 0.2	425 ± 5	4170 ± 50
	1:8	38 ± 4	4 ± 1	99 ± 0	84 ± 8	2.5 ± 0.2	410 ± 41	4020 ± 400

(*) Sugar conversion based on the total sugar present in the raw material (fresh or flour).

(†) Efficiency based on 0.511 g ethanol/g sugars as glucose.

(‡) Calculated using the ethanol density at 20°C (0.7894 kg/L).

(§) Calculated based on an agriculture yield of 10 t/ha (dry matter) (Vilaró et al. 2009) and a distillation efficiency of 98%.

(‡) Fresh sweet potato without addition of water.

Gelatinización y licuefacción de boniato

Harina de boniato (materia seca:agua 1:5)

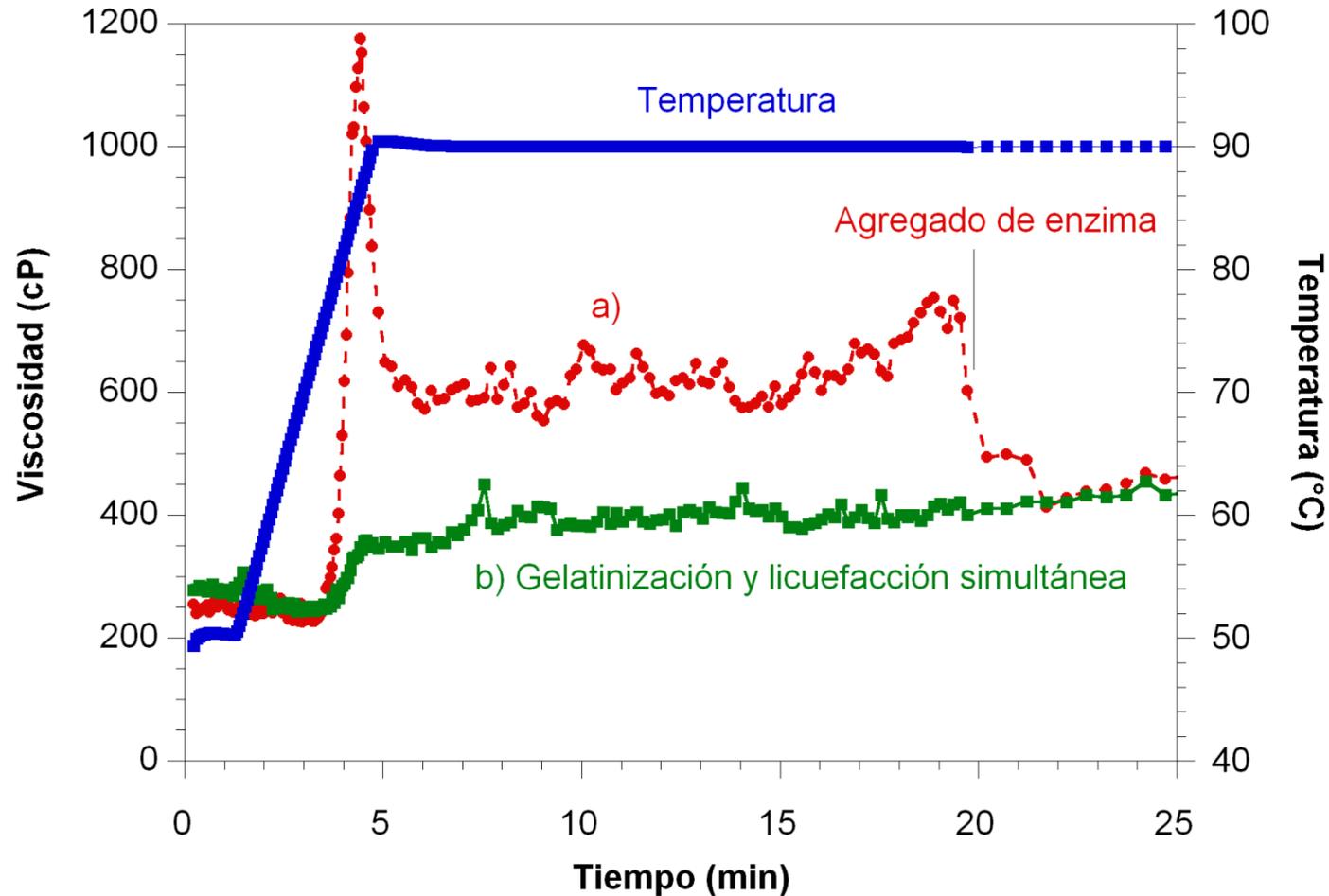


Diagrama de flujo del procesamiento seco de maíz

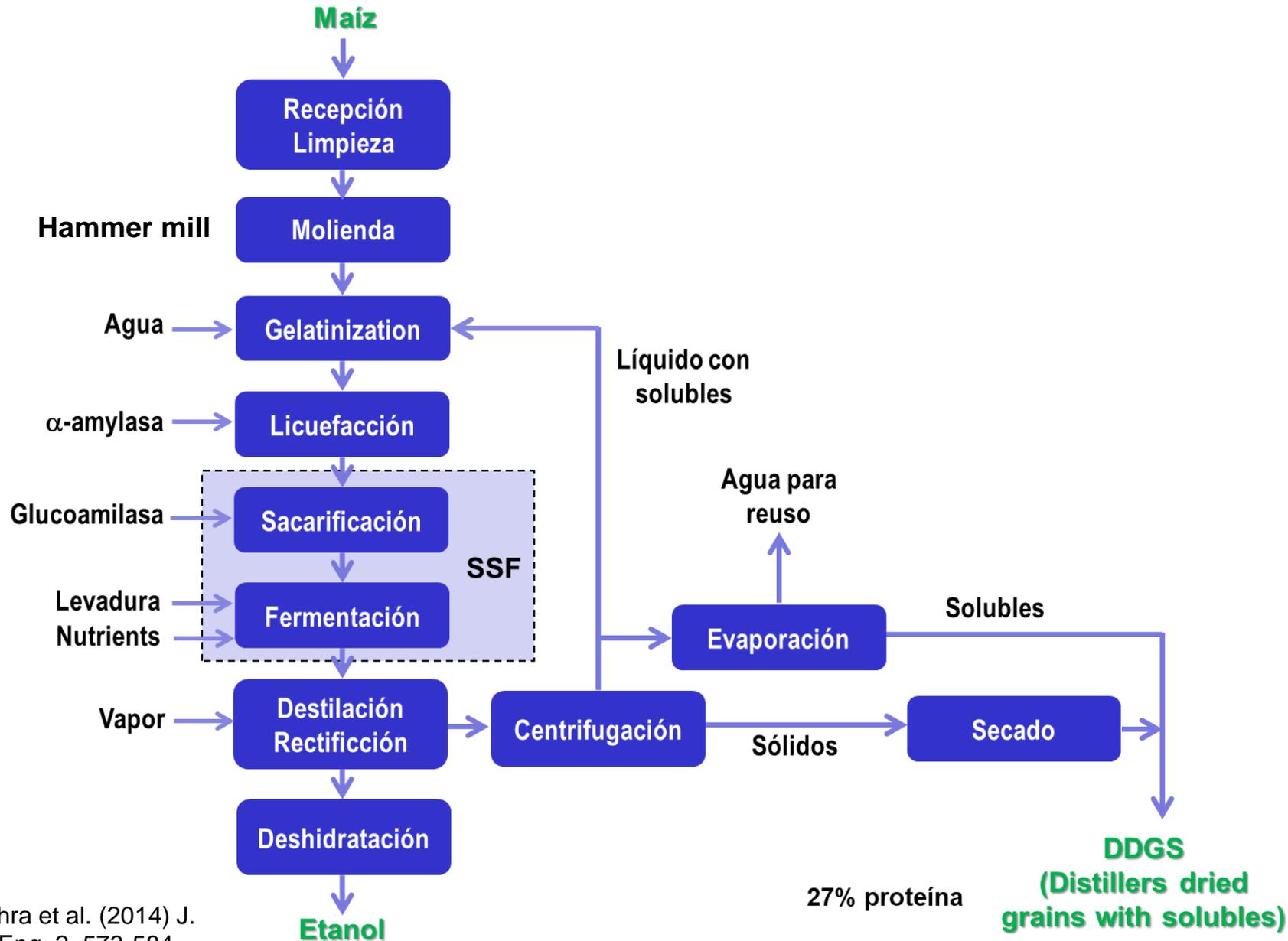


Diagrama de flujo del procesamiento húmedo de maíz

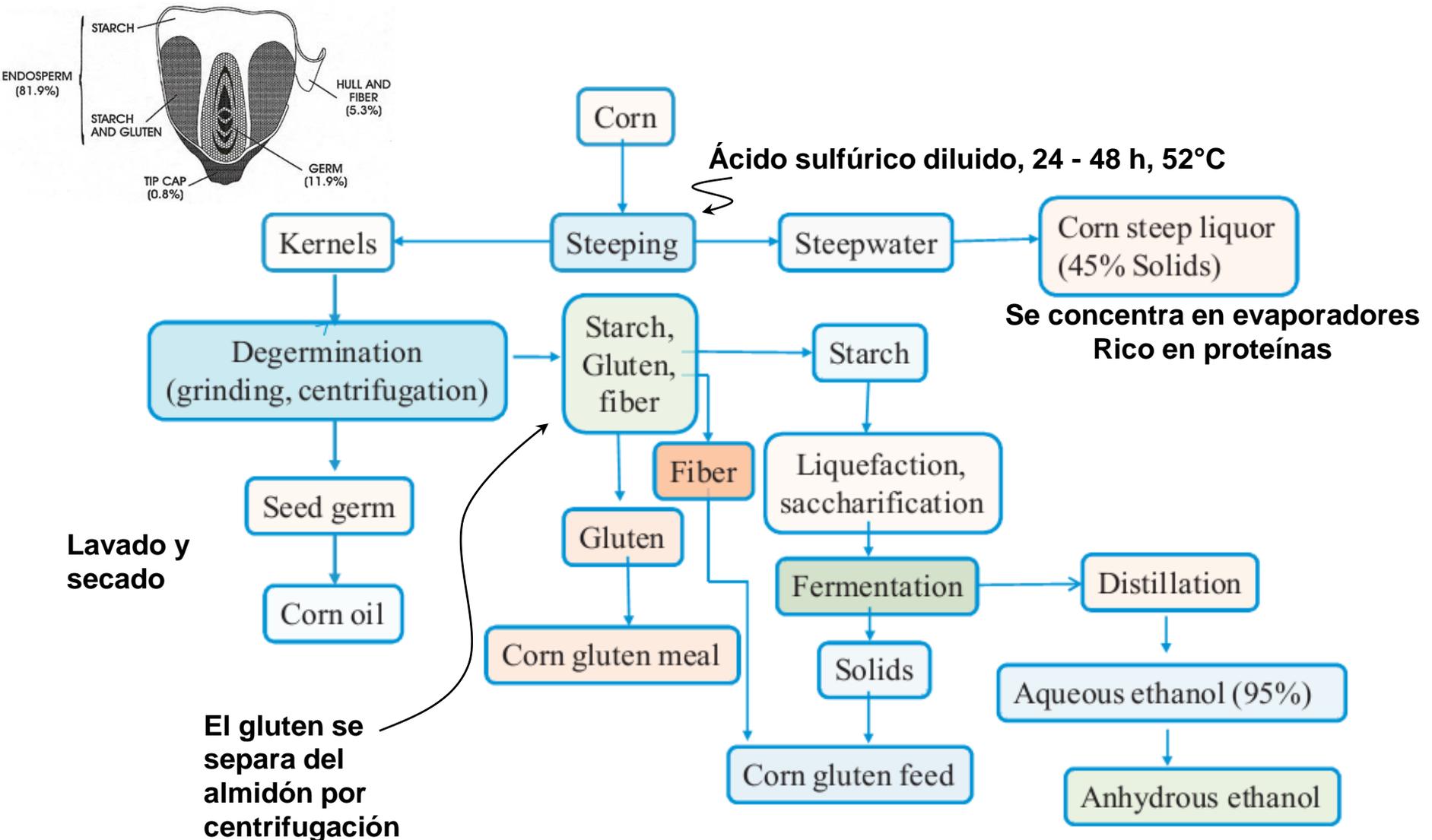
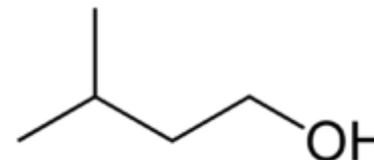


Fig. 4. Corn wet milling process flow diagram.

Aceites/alcoholes de fusel

- Es una mezcla volátil y tóxica de alcoholes con más de dos átomos de carbono tales como:

- isoamílico (3-metil-1-butanol)
- butílico
- propílico
- heptílico



- Se les llama también aceites por su apariencia.
- Son subproductos en la fermentación alcohólica a **partir de granos**, básicamente materiales con alto contenido en nitrógeno (proteínas).
- Se usan como disolvente de numerosas resinas naturales y sintéticas. Diluyente de líquido para frenos, tintas de imprenta y lacas.