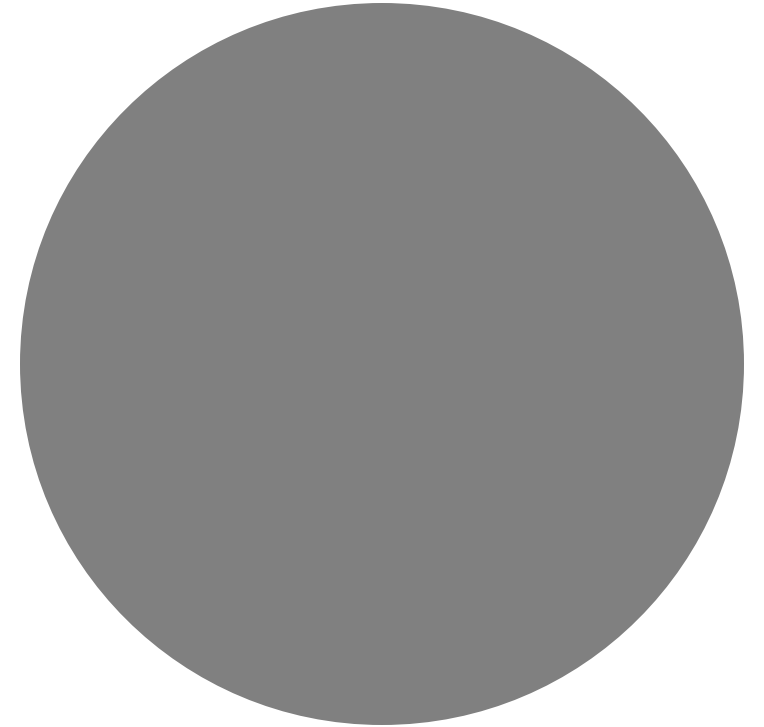




# Utilización de biomasa lignocelulósica pretratada con explosión por vapor para producción de etanol y coproductos de alto valor agregado

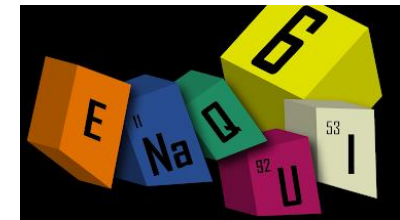


---

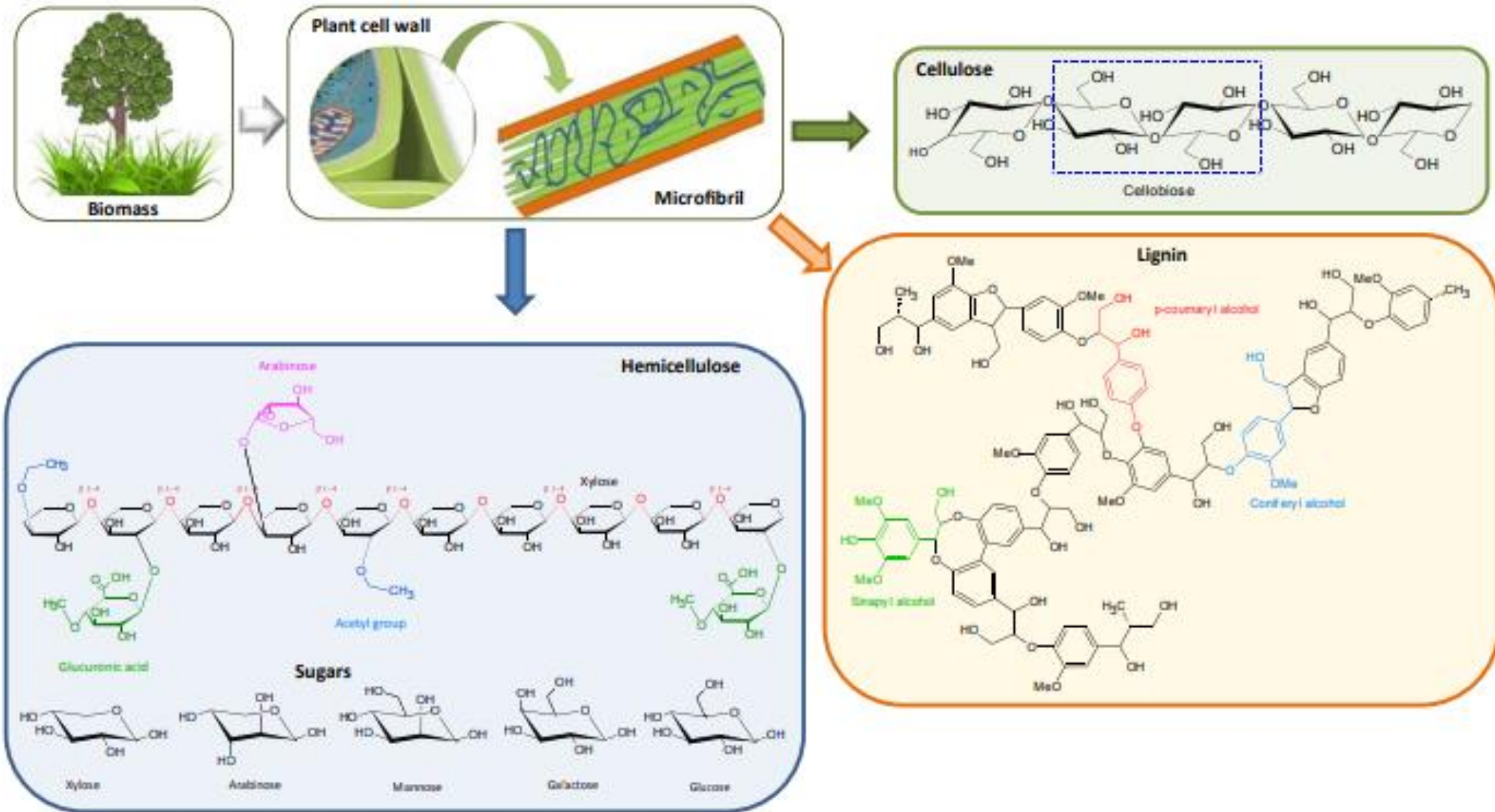
Fernando Bonfiglio,

Directoras de tesis: Solange I. Mussatto<sup>2</sup>, Pilar Menéndez<sup>3</sup>

1 Centro de Investigaciones en Biocombustibles 2G, Latitud – Fundación LATU, Montevideo, Uruguay; 2 Novo Nordisk Foundation Center for Biosustainability, Technical University of Denmark, Kongens Lyngby, Denmark; 3 Laboratorio de Biocatálisis y Biotransformaciones, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay



# Introducción-Biomasa lignocelulósica

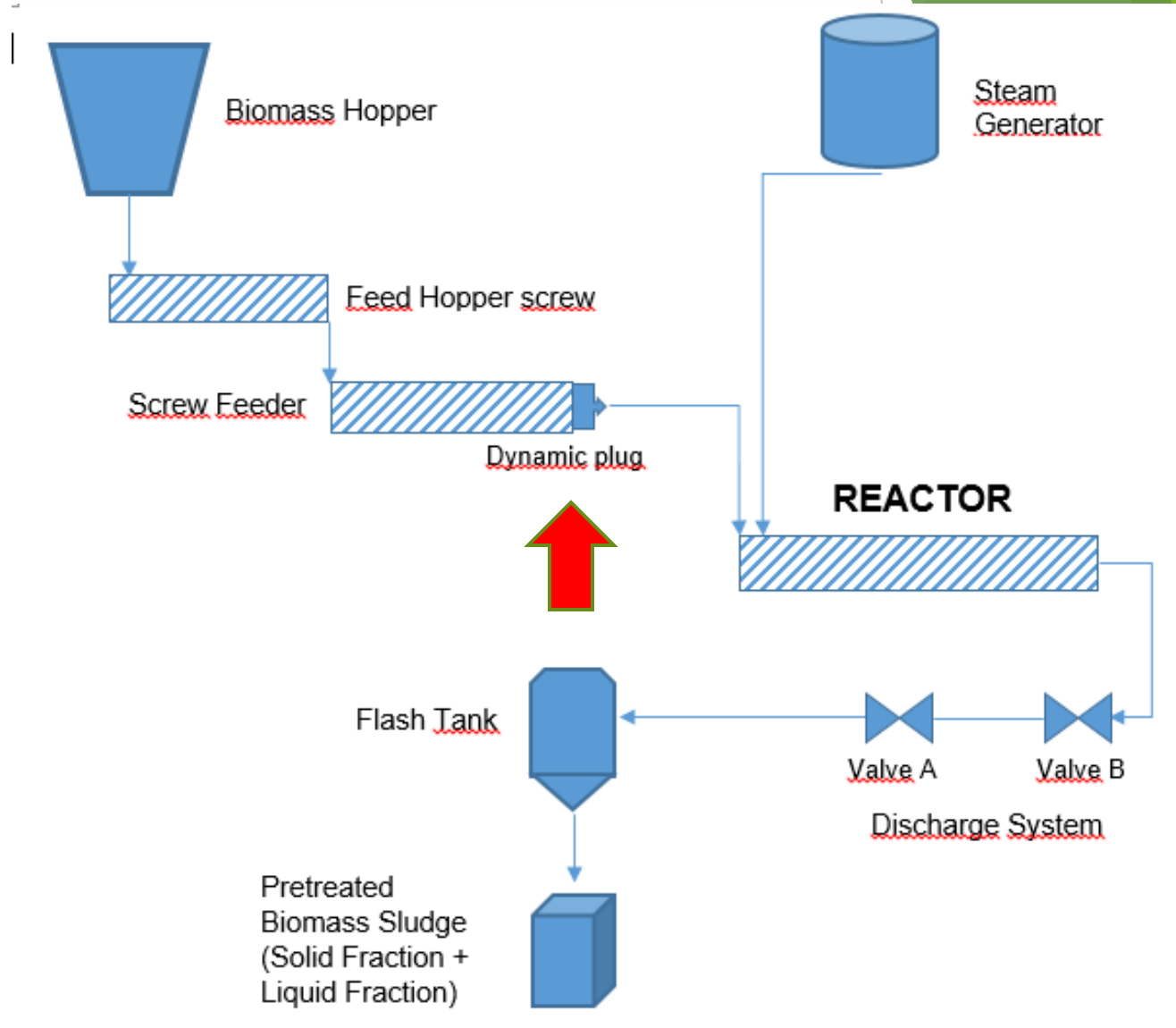


# Introducción - Explosión por vapor

## ► Explosión por vapor

- Se aplica presión con vapor saturado controlando **temperatura** (y presión) en un reactor por un tiempo determinado (**tiempo de residencia**), luego se libera repentinamente la presión, deconstruyendo la fibra
- Factor de severidad:

$$R_0 = t \times e^{\frac{T-100}{14.75}}$$





# Equipo de Explosión por vapor - escala pre-planta piloto





# Biomasa lignocelulósica

## ► Pasto varilla - Switchgrass - *Panicum virgatum*

- Estudiado para la producción de etanol de segunda generación
- Rápido crecimiento - alto volumen de producción - bajo costo de producción - capacidad para crecer en tierras que no son aptas para cultivos para alimentos

## ► *Eucalyptus globulus*

Componente	Composición de SWG (% m/m)	Composición de Eucalyptus (% m/m)
<b>Celulosa</b>	<b>31.8</b>	<b>41.8</b>
<b>Hemicelulosa</b>	<b>25.0</b>	<b>16.0</b>
<b>Lignina</b>	<b>31.2</b>	<b>39.4</b>
<i>Lignina Klason</i>	26.9	32.3
<i>Lignina Soluble</i>	4.3	7.1
Cenizas	3.2	0.4
Proteína	1.8	0.6
Extractivos	7.4	1.7
En agua	5.0	-
En Etanol	2.4	1.7



# Proceso

Biomasa

Acondicionamiento – Molienda y humectación

Pretratamiento - REACTOR – Ajuste de variables (temperatura y tiempo de residencia)

Barro (Líquido + sólido)

Fracción sólida (Celulosa + Lignina)

Fracción líquida (Hemicelulosas)

Hidrólisis enzimática

Fermentación de xilosa -> xilitol

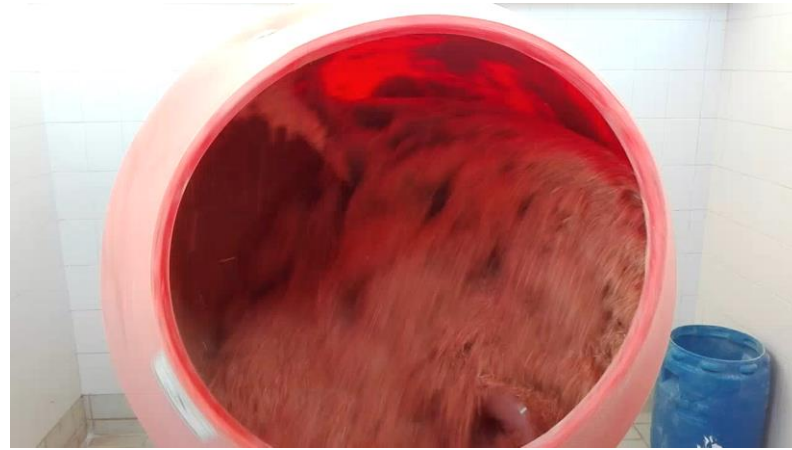
Fermentación de glucosa -> Bioetanol

Otros productos de valor

Otros: Lignina



# Explosión por vapor – escala pre-planta piloto



# Resultados - Pretratamiento de explosión por vapor de switchgrass

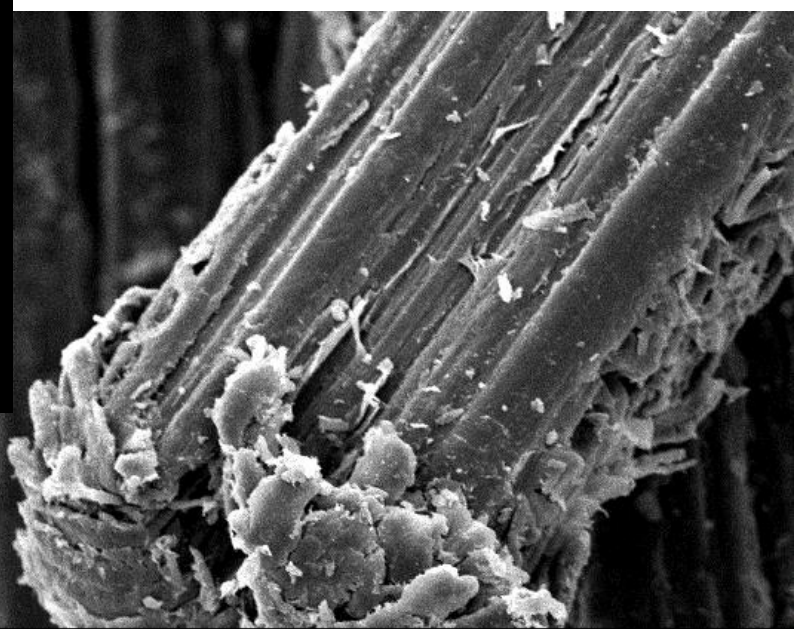
Corrida	Variables del pretratamiento (valores originales)		Factor de severidad
	Temperatura (°C)	Tiempo residencia (min)	
1	170	5	2.76
2	170	10	3.06
3	185	5	3.20
4	170	15	3.24
5	185	10	3.50
6	185	10	3.50
7	185	10	3.50
8	200	5	3.64
9	185	15	3.68
10	200	10	3.94
11	200	15	4.12

Composición del sólido pretratado (% p/p)		
Celulosa	Hemi-celulosa	Lignina
33.8	25.5	34.8
35.4	25.4	35.0
36.2	22.3	36.8
34.9	27.9	36.6
42.1	15.5	34.7
44.3	15.8	38.8
41.2	21.0	34.4
44.4	14.0	42.2
44.4	13.9	40.8
49.1	5.1	45.3
50.9	2.5	50.6

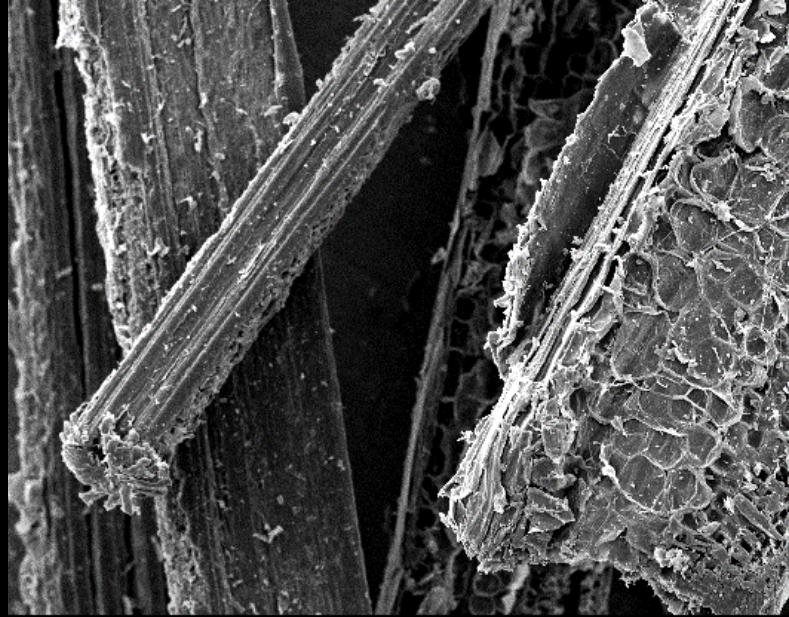
Composición de la fracción líquida (g/L)					
Glucosa	Xilosa	Ácido Fórmico	Ácido Acético	HMF*	Furfural
0.47	0.6	1.4	1.3	nd	nd
0.31	1.1	1.4	2.3	0.03	0.0
0.38	1.8	2.1	2.5	0.04	0.1
0.16	0.6	0.9	1.5	0.04	0.0
0.27	3.3	2.9	2.9	0.05	0.2
0.51	4.8	3.8	4.1	0.07	0.3
0.12	1.2	1.2	1.3	0.03	0.1
0.18	2.9	2.1	1.7	0.07	0.2
0.14	3.4	2.0	2.7	0.05	0.2
0.69	15.7	4.2	6.1	0.39	1.3
2.60	20.3	7.7	10.6	0.54	2.3



(A) Switchgrass sin tratar

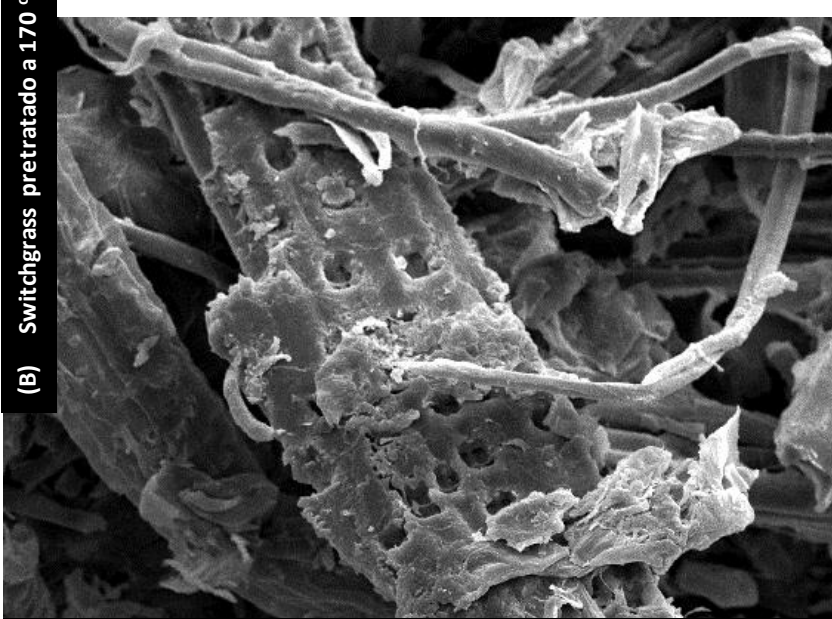


X370 50µm

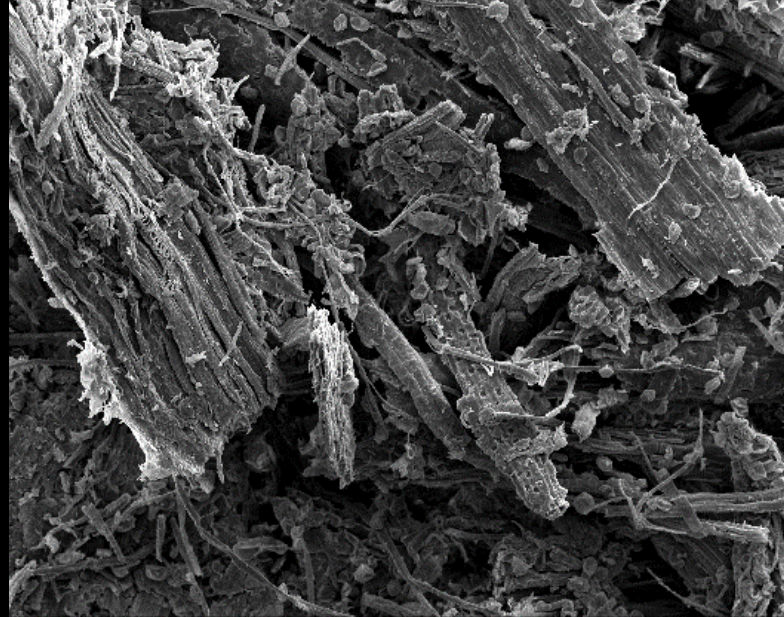


X75 200µm

(B) Switchgrass pretratado a 170 °C por 5 min

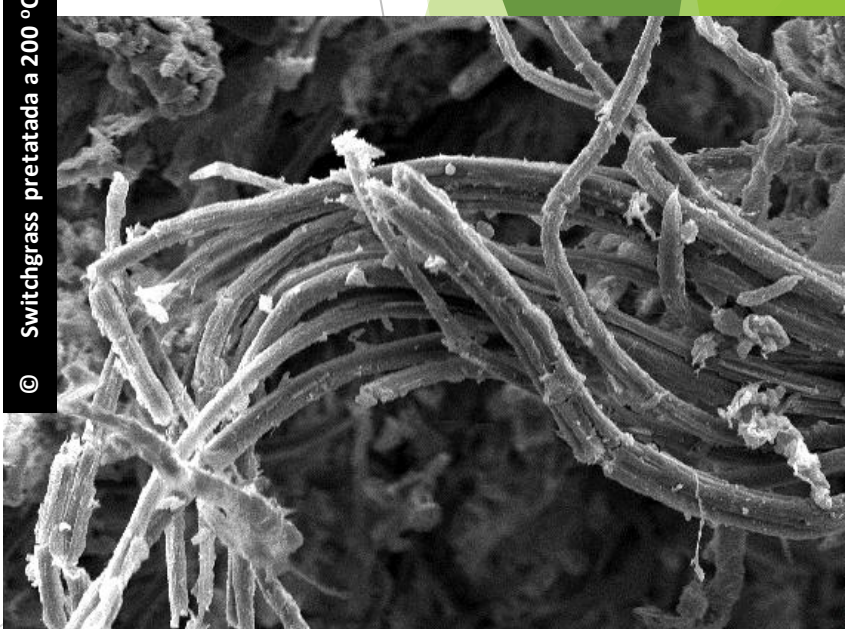


X370 50µm

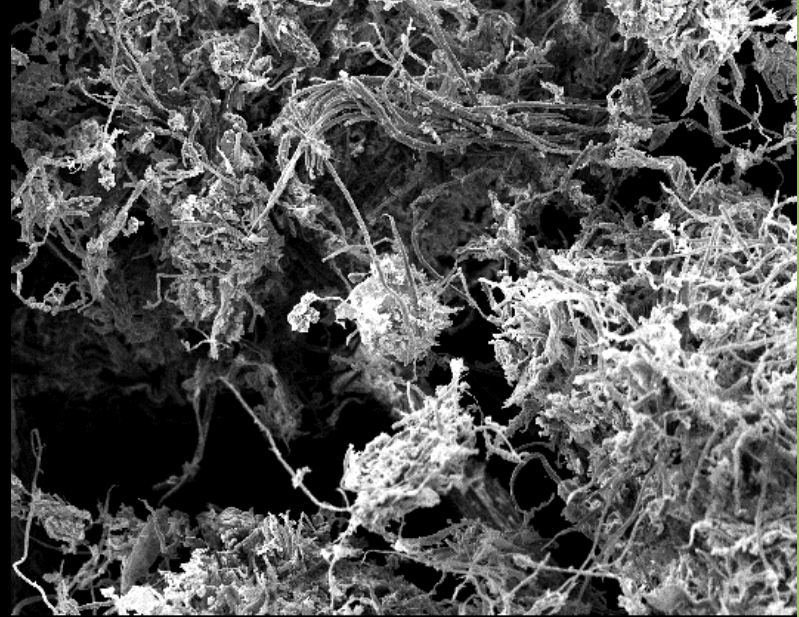


X75 200µm

(C) Switchgrass pretratada a 200 °C por 15 min



X370 50µm



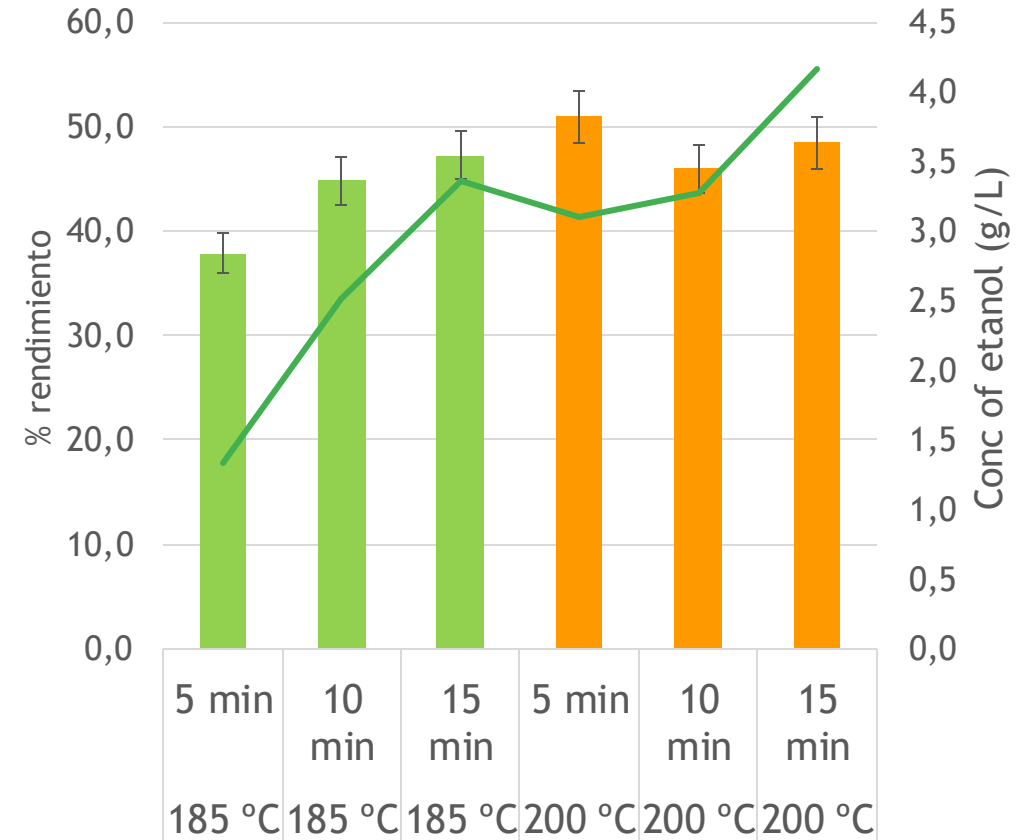
X75 200µm



# Resultados: Fracción sólida - Hidrólisis enzimática y producción de etanol

Sacarificación: Biomasa 2 % m/v - Cellic CTec2 50 FPU-50 °C 200 rpm Fermentación: *Saccharomyces cerevisiae*

Corrida	Variables del pretratamiento (		Factor de severidad	Rendimiento de sacarificación (%)
	Temperatura (°C)	Tiempo de residencia (min)		
1	170	5	2.76	19.8
2	170	10	3.06	26.3
3	185	5	3.20	50.6
4	170	15	3.24	21.6
5	185	10	3.50	73.0
6	185	10	3.50	53.1
7	185	10	3.50	64.9
8	200	5	3.64	71.3
9	185	15	3.68	64.0
10	200	10	3.94	88.3
11	200	15	4.12	72.5
Switchgrass sin pre-tratar				0.0
Pulpa de celulosa comercial				84.7



- Rendimiento de Bioetanol a partir de la glucosa en el sólido explotado (%)
- Concentración final de etanol (g/L)



Contents lists available at ScienceDirect

Biomass and Bioenergy

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/biombioe](http://www.elsevier.com/locate/biombioe)



Research paper

## Pretreatment of switchgrass by steam explosion in a semi-continuous pre-pilot reactor



Fernando Bonfiglio<sup>a</sup>, Matías Cagno<sup>a</sup>, Fabiana Rey<sup>a</sup>, Marina Torres<sup>b</sup>, Silvia Böthig<sup>a</sup>,  
Pilar Menéndez<sup>c</sup>, Solange I. Mussatto<sup>d,\*</sup>

<sup>a</sup> Centro de Investigaciones en Biocombustibles 2G, Latitud – Fundación LATU, Avenida Italia 6201, Edificio Los Abetos, 11500, Montevideo, Uruguay

<sup>b</sup> Departamento de Desarrollo de Métodos Analíticos, Laboratorio Tecnológico del Uruguay, Avenida Italia 6201, 11500, Montevideo, Uruguay

<sup>c</sup> Laboratorio de Productos Naturales, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, Avenida General Flores 2124, 11800, Montevideo, Uruguay

<sup>d</sup> Novo Nordisk Foundation Center for Biosustainability, Technical University of Denmark, Kemitorvet, Building 220, 2800, Kongens Lyngby, Denmark

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Switchgrass  
Steam explosion pretreatment  
Pre-pilot reactor  
Optimization  
Saccharification

### ABSTRACT

Switchgrass (*Panicum virgatum*) is a perennial grass highly valued as an energy crop resource for the production of bioethanol due to its high carbohydrate content, fast growth, and ability to grow in lands that cannot support crop or food production. In the present study, this biomass was submitted to steam explosion pretreatment in a semi-continuous pre-pilot reactor with the aim of obtaining a pretreated solid with high digestibility for enzymatic hydrolysis. Different conditions of temperature (170–200 °C) and residence time (5–15 min), leading to different severity factors (2.76–4.12) were used for steam explosion pretreatment, which were combined through a 2<sup>2</sup> central composite design. The results revealed that both variables had great influence in the process, affecting both the biomass structure and the saccharification yield, as a consequence. However, in the range of values evaluated in this study, the effect of the temperature was more prominent than the effect of the residence time. The best saccharification yield (88.3%) was obtained when using the biomass pretreated at 200 °C for 10 min. Similar result was obtained using a commercial cellulose pulp as feedstock for enzymatic hydrolysis, confirming that the best conditions for switchgrass pretreatment in the pre-pilot scale were successfully established.



# Resultados: Fracción Líquida

Caracterización fracciones líquidas - Condición de explosión por vapor: 200 °C y 10 minutos de tiempo de residencia

Post hidrólisis: Llevado a 4% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (estándar NREL)

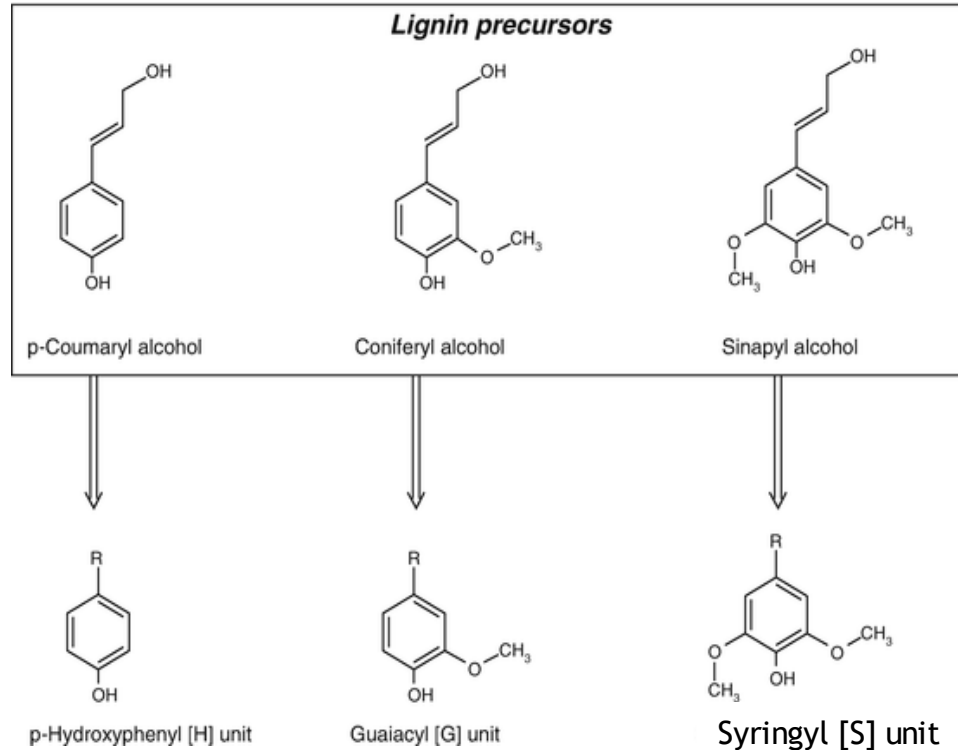
Original (NIVEL 1)

Componente	Eucalyptus (g/L)	Switchgrass (g/L)
Xilosa	36,01	26,46
Glucosa	7,82	5,30
Arabinosa	6,78	7,81
Celobiosa	11,89	3,59
Ácido acético	20,12	15,39
Ácido Fórmico	5,93	8,82
5-HMF	2,74	3,08
Furfural	3,42	3,11
Fenólicos totales	7,64	9,01

Post- hidrólisis (NIVEL 2)

Componente	Eucalyptus (g/L)	Switchgrass (g/L)
Xilosa	58,06	39,99
Glucosa	14,02	14,96
Arabinosa	3,50	3,47
Celobiosa	nd	nd
Ácido acético	29,03	18,44
Ácido fórmico	6,96	9,87
5-HMF	1,28	1,75
Furfural	4,82	3,23
Fenólicos totales	5,82	4,21

# Resultados: Fracción Líquida - Compuestos fenólicos

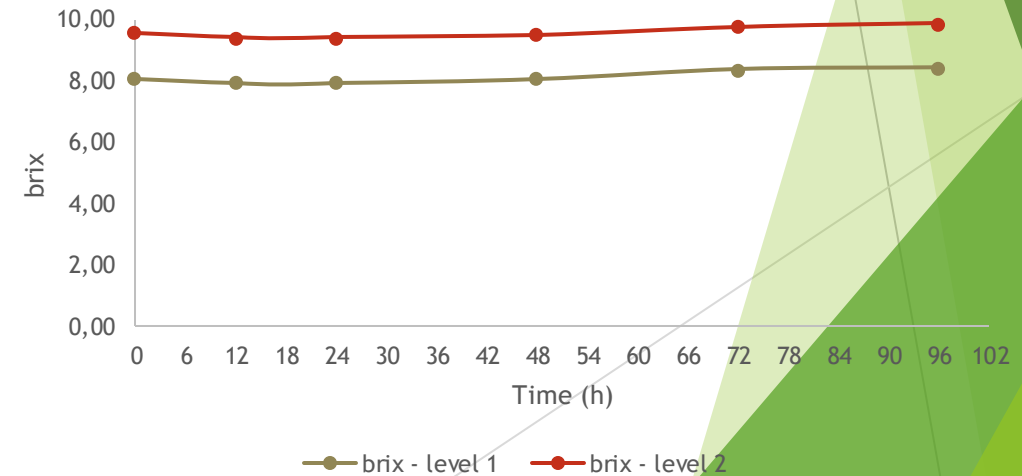
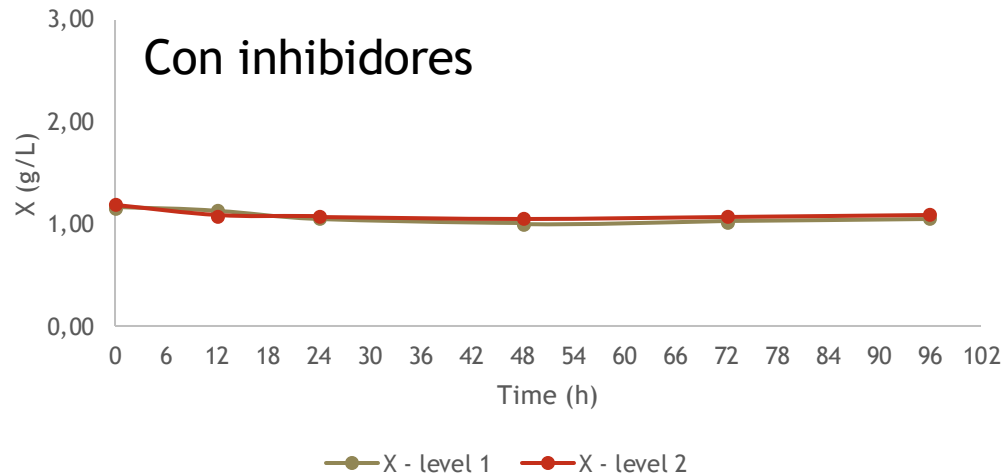
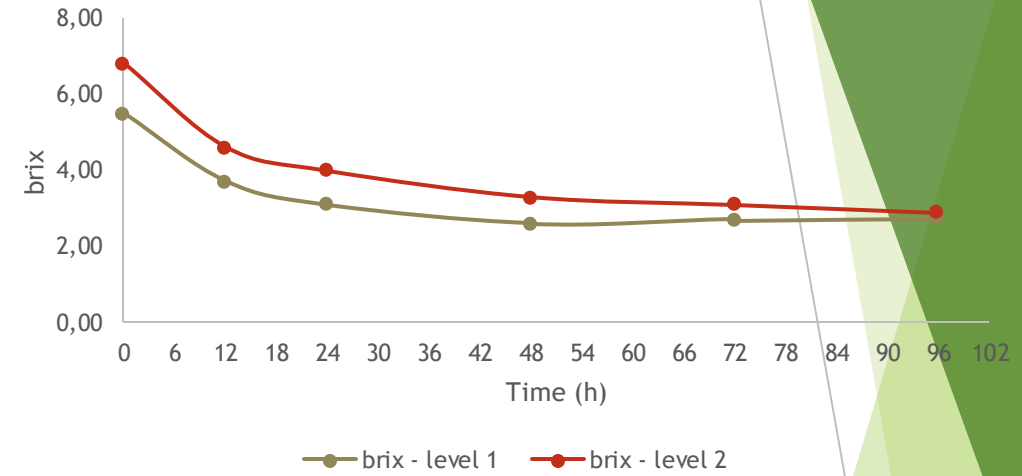
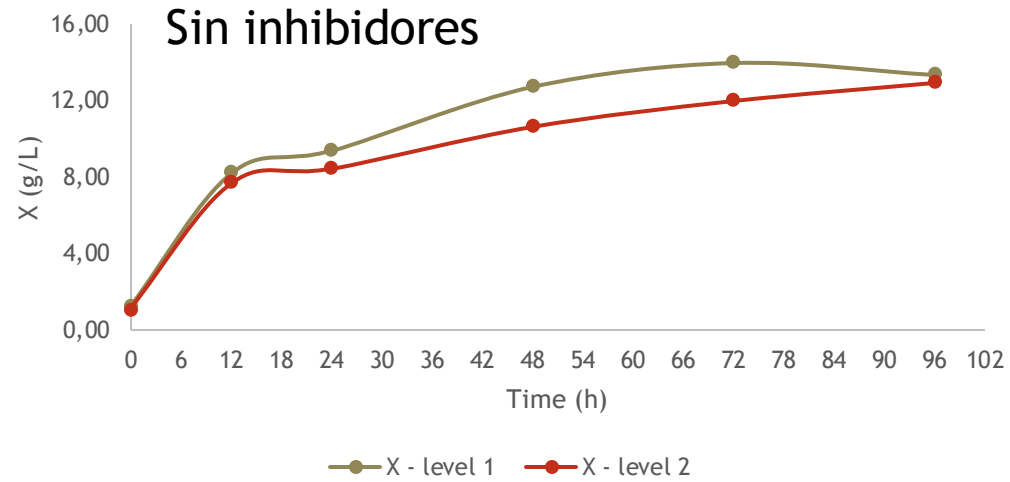


- ▶ Método HPLC:
- ▶ Zorbax eclipse Plus C18
- ▶ Método gradiente con fase móvil:
  - ▶ 0.05 % Acetic Acid in water
  - ▶ Acetonitrile
- ▶ Horno de Columna 30 °C, 1 mL/min
- ▶ UV detection

Componente	Wavelength (nm)	SWG (g/L)	SWG Post-Hydrolysis (g/L)	EUCA (g/L)	EUCA Post-hydrolysis (g/L)
Vainlina (G)	280	0,23	0,12	0,08	0,05
Ácido vanílico (G)	261	0,15	0,14	0,03	0,05
Ácido cumárico (H)	302	0,15	0,04	0,00	0,00
Syringaldehído (S)	302	0,10	0,03	0,21	0,14
Ácido siríngico (S)	280	0,09	0,09	0,09	0,10
4-Hidroxibenzaldehído (H)	280	0,12	0,08	0,01	0,02

# Resultados Fracción Líquida -Fermentación de medios sintéticos (switchgrass)

*Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-6373 - 40 °C, 250 rpm, 1 g/L inicial

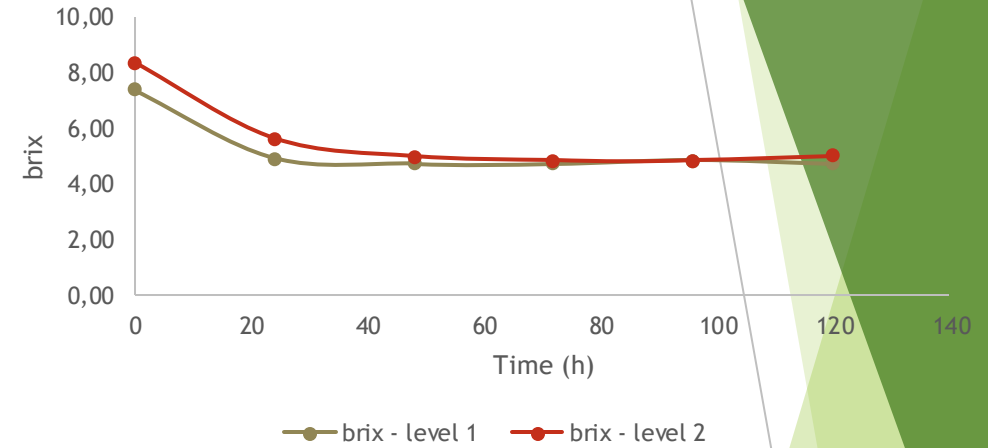
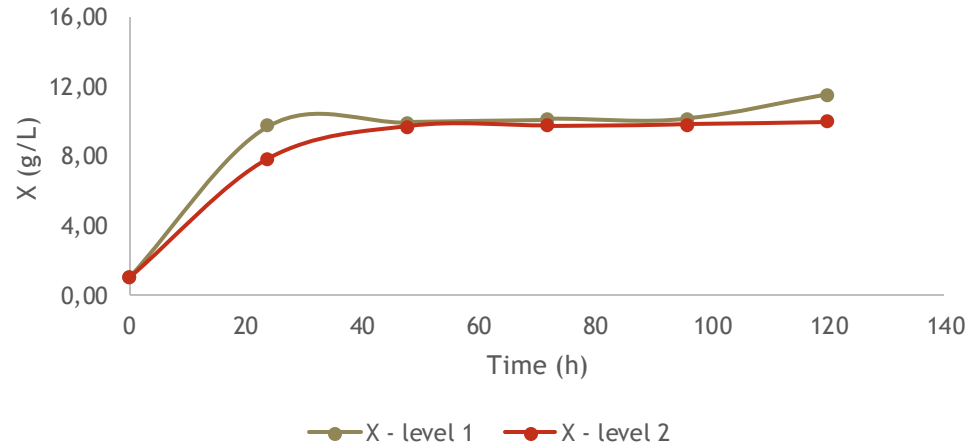




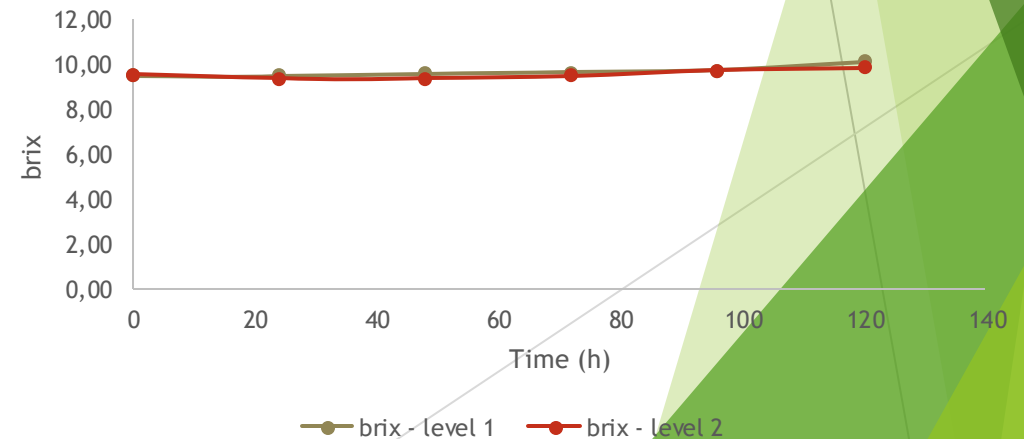
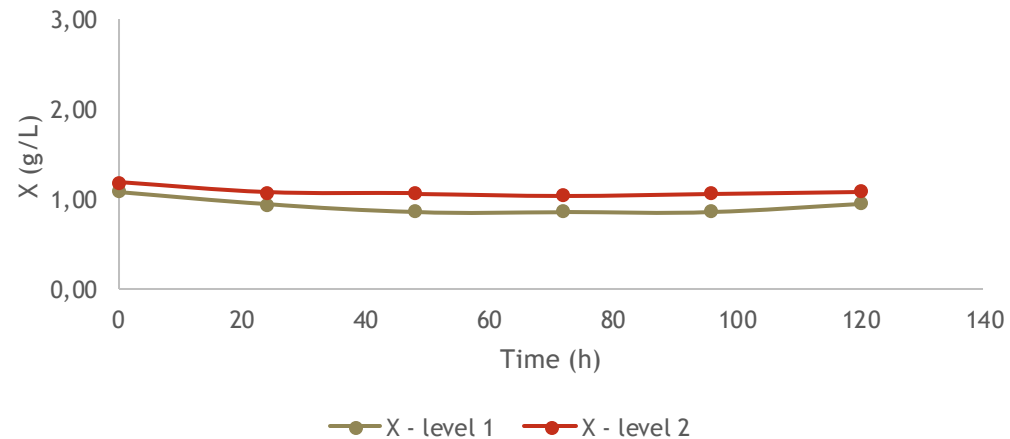
# Fermentación de medios sintéticos (*Eucalyptus*)

*Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-6373 - 40 °C, 250 rpm, 1 g/L inicial

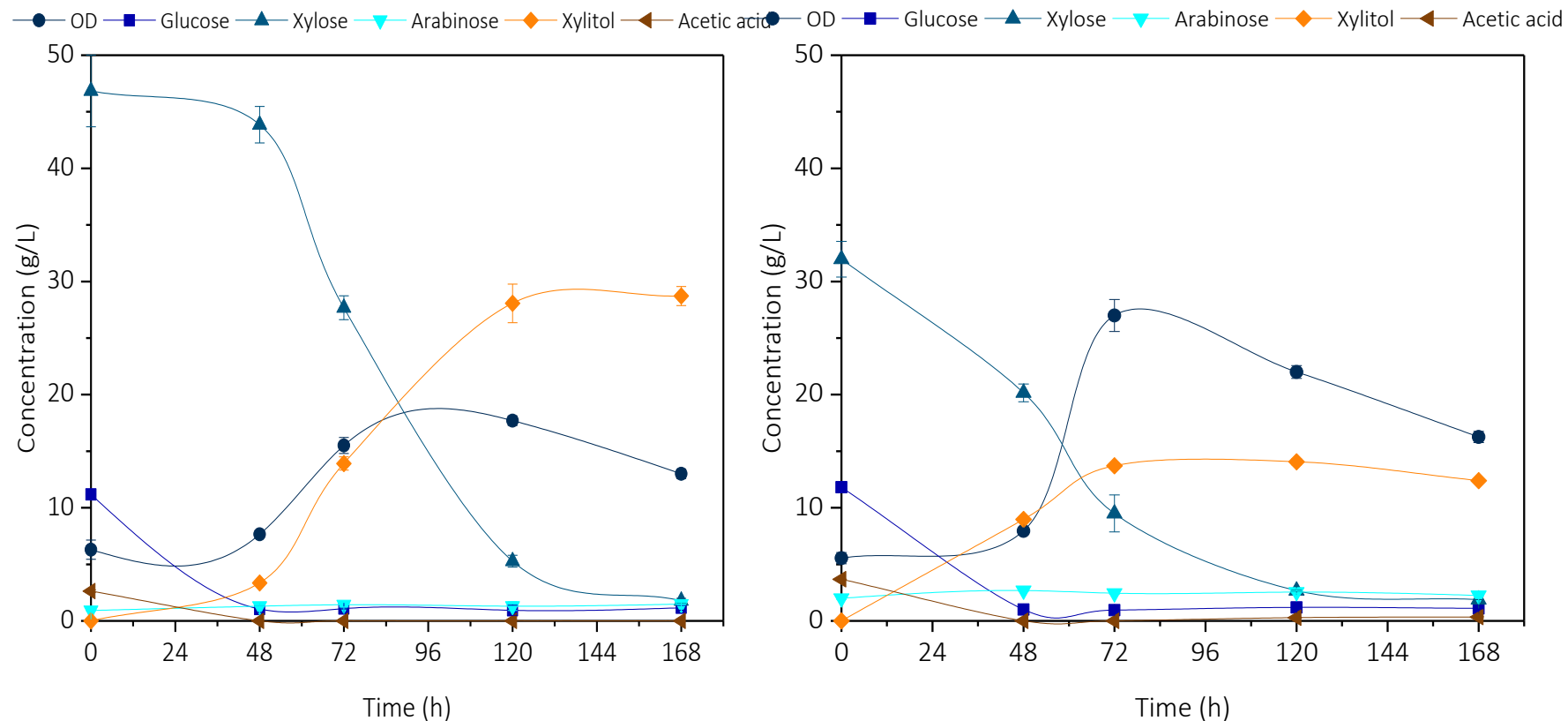
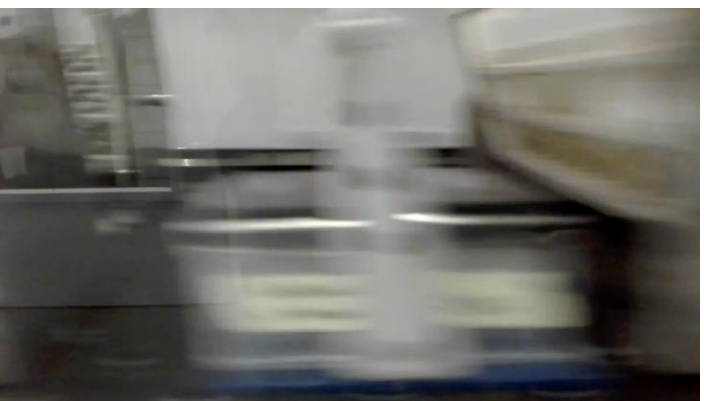
## Sin inhibidores



## Con inhibidores




# Resultado Fracción Líquida - Fermentación de fracción líquida detoxificada



Eucalyptus

Switchgrass

*Kluyveromyces marxianus*, 40 g/L 300 rpm 40 °C, sin agregado de nutrientes



# Conclusiones y continuación del trabajo

- ▶ La condición óptima de explosión para switchgrass y *Eucalyptus* es 200 °C y 10 minutos de tiempo de residencia en el equipo de explosión por vapor continuo.
- ▶ Se puede producir bioetanol a partir de switchgrass y de *Eucalyptus* utilizando como pretratamiento la explosión por vapor.
- ▶ Es posible obtener coproductos (como xilitol) a partir de la fracción líquida luego de la explosión realizando una detoxificación del medio.
- ▶ Estudiar otros coproductos de la fracción líquida (carotenoides)
- ▶ Estudiar la posibilidad de generar coproductos utilizando la lignina residual.



# Agradecimientos



beca MOV\_CA\_2018\_1\_149368

Colaboradores

Grupo Biocombustibles en Latitud: Silvia Böthig - Matías Cagno - Fabiana Rey

Grupo Biomass Conversion and Bioprocess Technology (Dra. Solange I. Mussatto) – Celina Yamakawa

Laboratorio Biocatálisis y Biotransformaciones (Dra. Pilar Menéndez) – Emiliana Botto