

Diss. ETH No 7781

**AEROBIC ETHANOL PRODUCTION WITH A FLOCCULENT YEAST  
IN A BIOMASS RECYCLING SYSTEM**

A dissertation submitted to the  
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZÜRICH

for the degree of  
Doctor of Technical Sciences

presented by  
ISAAC LORENCEZ GONZALEZ  
Biochem. Eng.  
born 8 November 1954  
citizen of Mexico

Accepted on the recommendation of

Prof. Dr. A. Fiechter, examiner  
Prof. Dr. K. Schügerl, co-examiner

1985

## 5. SUMMARY

### **Aerobic ethanol production with a flocculent yeast in a biomass recycling system.**

The aerobic ethanol production by Saccharomyces uvarum H2032 (Institut für Biotechnologie) was studied in continuous culture with biomass recycling. A sedimenter was used as the separation device.

On the basis of elementary balances, it was demonstrated that the overall ethanol yield in aerobic conditions can be as high as 95% of the theoretical yield if the biomass yield is kept below 0.05 and the respiratory coefficient (RQ) above 20.

The effect of the most important operating parameters was investigated in order to assess their effect on the performance of the system.

Dilution rate, substrate concentration in the fresh medium, cultivation and sedimenting temperatures were the parameters which most strongly affected the productivity of the system. The recycling rate, residence time in the sedimenter, and sedimenter size had little influence.

Cultivation temperatures of 34 - 35 °C were optimal for ethanol production. In this range the production of biomass and glycerol (the most important by-products of ethanol production) was significantly reduced.

The cell mass concentration in the bioreactor was a direct function of the sedimenting temperature. Cell mass concentrations above 75  $\text{gl}^{-1}$  could be achieved with a sedimenting temperature of 35 °C. Low sedimenting temperatures (15 °C) limited the biomass concentration to less than 55  $\text{gl}^{-1}$ .

The aerobic ethanol production (respiro-fermentative metabolism) resembled very closely the anaerobic metabolism of the cells.

The ethanol had an inhibitory effect on the specific substrate and oxygen uptake rates. The ethanol inhibition on growth was ascribed to the inhibition of the energy yielding pathways, glycolysis and respiratory chain.

A mathematical model of the system was formulated on the basis of the metabolic rates observed in steady state conditions.

The mathematical simulations of the system indicated that an ethanol productivity of  $60 \text{ gl}^{-1}\text{h}^{-1}$  can be achieved with the residual glucose concentration remaining low ( $2 \text{ gl}^{-1}$ ). The high dilution rates necessary to operate the system at this productivity suggest that the use of filters or centrifuges may be necessary for biomass separation.

The sedimenting characteristics of the strain were evaluated and the requirements for a good sedimentation performance are discussed.

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

### **Aerobe Ethanolproduktion mit einer flocculierende Hefe in einem Biomasse-Rückführungssystem.**

Die aerobe Ethanolproduktion durch Saccharomyces uvarum H 2032 (Institut für Biotechnologie) wurde in einer kontinuierlichen Kultur mit Biomasse-Rückführung untersucht. Als Abtrennungsvorrichtung diente ein Absetzbehälter.

Anhand grundlegender Bilanzrechnungen wurde gezeigt, daß unter aeroben Bedingungen bis zu 95% der theoretischen Ethanolausbeute erreicht werden kann, wenn die Biomasseausbeute unterhalb von 0.05 und der Respirationsquotient (RQ) oberhalb von 20 gehalten werden.

Der Einfluß der wichtigsten Betriebsbedingungen auf die Leistung des Systems wurde untersucht.

Die Produktivität des Systems wurde durch die Verdünnungsrate, die Substratkonzentration im zulaufenden Medium und die Temperatur im Reaktor und im Absetzbehälter am stärksten beeinflusst, während die Zellrückführungsrate, die Verweilzeit im Absetzbehälter und die Größe des Absetzbehälters praktisch keinen Einfluß zeigten.

Züchtungstemperaturen von 34 - 35 °C waren für die Ethanolproduktion optimal. In diesem Bereich war die Bildung von Biomasse und Glycerin, den beiden wichtigsten Nebenprodukten der Ethanolherstellung, deutlich herabgesetzt.

Die Konzentration der Biomasse im Bioreaktor war eine direkte Funktion der Temperatur im Absetzbehälter. Bei einer Absetztemperatur von 35 °C wurden Biomassekonzentrationen von 75  $\text{gl}^{-1}$  und darüber erreicht. Niedrige Temperaturen im Absetzbehälter (15 °C) begrenzten die Biomassekonzentration auf weniger als 55  $\text{gl}^{-1}$ .

Es konnte gezeigt werden, daß die aerobe Ethanolbildung (respiro-fermentativer Metabolismus) sehr ähnlich jener bei anaeroben Bedingungen ist.

Ethanol hatte einen inhibitorischen Effekt auf die spezifische Substrat- und Sauerstoffaufnahme. Als Grundlage für die wachstumshemmende Wirkung des Ethanol wurde eine Inhibition der energieliefernden Stoffwechselwege Glykolyse und Atmungskette angenommen.

Ein mathematisches Modell das auf den Umsatzraten in stationären Zuständen des kontinuierlich betriebenen System basiert, wurde entwickelt.

Simulationen des Systems zeigten, daß bei einer Restglucosekonzentration von  $2 \text{ gl}^{-1}$  eine Ethanolproduktivität von  $60 \text{ gl}^{-1}\text{h}^{-1}$  erzielt werden kann.

Da zur Erreichung diese Produktivität hohe Verdünnungsraten benötigt werden, muß für die Abtrennung der Biomasse möglicherweise eine andere Methode (z. B. Filtration oder Zentrifugation) verwendet werden.

Die Sedimentationseigenschaften des Stammes wurden ermittelt und die Bedingungen für eine optimale Sedimentation werden diskutiert.