
PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA DE ALCOHOL CARBURANTE II: INTEGRACIÓN DE PROCESOS

ÓSCAR JULIÁN SÁNCHEZ
y CARLOS ARIEL CARDONA

La separación de las soluciones acuosas diluidas de etanol (EtOH) ha sido un proceso bastante estudiado y probado industrialmente. Sin embargo, la necesidad de obtener alcohol deshidratado con el fin de ser usado como aditivo oxigenante de la gasolina, ha impuesto una serie de retos a la industria y a los centros de investigación, a fin de reducir los costos energéticos de la recuperación de EtOH cumpliendo los correspondientes estándares de calidad. Adicionalmente, el impacto ambiental que presentan algunas tecnologías tradicionales de separación ha hecho que la investigación sobre esquemas alternativos y no convencionales sea mucho más intensa (Montoya *et al.*, 2005).

De otro lado, la diversidad de alternativas tecnológicas para la producción de alcohol carburante ha hecho crucial el análisis del proceso global, a la par del diseño y desarrollo de cada una de las operaciones que lo componen. Dentro de las nuevas tendencias de investigación y desarrollo en esta área se cuenta la integración del proceso con miras a develar las muy complejas interacciones entre las diferentes etapas del proceso productivo (Lynd, 1996). El desarrollo de procesos integrados permitirá una reducción sustancial de los costos de producción y el incremento de la

competitividad del bioetanol frente a la gasolina. De otro lado, la integración de procesos es una condición indispensable para optimizar el proceso de producción de etanol, de tal manera que se consideren como objetivos no sólo la minimización de los costos productivos o la maximización de diferentes indicadores financieros, sino también el mejoramiento de los índices de desempeño ambiental de este proceso.

Procesos de Separación

La separación y recuperación del alcohol etílico producido a partir de diferentes materias primas se hace prácticamente de la misma manera. La concentración de alcohol en los caldos de cultivo resultantes de los procesos de fermentación oscila entre 2,5 y 10% (p/p), por lo que es necesario concentrar el etanol hasta valores mayores a 99% (p/p) y obtener así alcohol anhidro (deshidratado), que es el utilizado en calidad de aditivo para la gasolina, ya que la presencia de agua en el EtOH puede conllevar a fallas durante la combustión en el motor (Wyman, 1994). La primera etapa para la obtención de alcohol anhidro es la destilación convencional que eleva la concentración de EtOH en el caldo hasta un 45-50% (p/p). Luego se puede obtener un destilado con una

concentración de 90-92% (p/p) mediante una columna de rectificación (Wooley *et al.*, 1999b). Debido a las propiedades físico-químicas de las mezclas alcohol-agua, es imposible retirar completamente el agua a presión atmosférica como consecuencia de la formación de una mezcla azeotrópica que implica la obtención de mezclas con un máximo de 95,6% en peso de EtOH, por lo que son necesarios procesos de separación no convencionales.

Entre los procesos de separación no convencionales se cuenta la destilación a bajas presiones, la destilación azeotrópica, la destilación extractiva, la adsorción y la pervaporación. La destilación a vacío hace uso del cambio en el equilibrio de fases a presiones inferiores a la atmosférica, lo que conlleva a la desaparición del azeótropo por debajo de los 6kPa. Pero para obtener un producto de alta pureza es necesario utilizar torres con gran número de etapas (por encima de 40) y con altas relaciones de reflujo, con elevados costos de capital y energéticos debido al mantenimiento del vacío en columnas con gran cantidad de platos (Montoya *et al.*, 2005).

En su lugar se emplea la destilación azeotrópica consistente en la adición de un tercer componente a la mezcla etanol-agua que forma nuevos

PALABRAS CLAVE / Alcohol Carburante / Desempeño Ambiental / Integración de Procesos / Separación no Convencional /

Recibido: 25/07/2005. Modificado: 10/10/2005. Aceptado: 11/10/2005.

Óscar Julián Sánchez. Ingeniero Químico, M.Sc. en Biotecnología, Academia Estatal de Tecnología Química Fina de Moscú, Rusia. Estudiante del Doctorado en Ingeniería, Universidad Nacional de Colombia, sede Manizales, Colombia. Profesor, Universidad de Caldas, Colombia. e-mail: osanchez@ucaldas.edu.co

Carlos Ariel Cardona. Ingeniero Químico, M.Sc. en Ingeniería Química, Ph.D. en Ingeniería Química, Academia Estatal de Tecnología Química Fina de Moscú, Rusia. Profesor, Universidad Nacional de Colombia sede Manizales, Colombia. Dirección: Carrera 27 No. 64-60, Of. F-505. Manizales, Colombia. e-mail: ccardonaal@unal.edu.co

azeótropos que facilitan la separación en esquemas tecnológicos que involucran dos o tres columnas de destilación. Entre las sustancias (llamadas arrastradores) que se agregan a las mezclas de etanol-agua resultantes del proceso de obtención de alcohol se utiliza principalmente el benceno, aunque también el tolueno y el n-pentano. El proceso consiste de una columna de deshidratación (columna azeotrópica) que se alimenta con una mezcla de cerca de 90% de alcohol. A esta columna se le agrega en el plato superior el benceno, mientras de la parte inferior se retira alcohol anhidro con una concentración de agua menor al 1%. El vapor de salida de la parte superior de la columna, con una composición igual o cercana a la del azeótropo ternario, se condensa y lleva a un separador en donde la fracción rica en agua se alimenta a una pequeña columna de lavado (columna despojadora) para la regeneración del arrastrador, mientras la otra fracción se recircula como reflujo a la parte superior de la columna azeotrópica (Chianese y Zinnamosca, 1990).

Sin embargo el uso de benceno no es deseable debido a sus propiedades carcinogénicas, por lo que se ha propuesto la destilación extractiva, en donde la tercera sustancia que se agrega (denominada disolvente) modifica la volatilidad relativa de los componentes de la mezcla etanol-agua sin formar nuevos azeótropos, facilitando así la separación. El disolvente debe ser de baja volatilidad para que su separación en la segunda torre de destilación, donde se recupera, sea mucho más fácil. Como disolvente se ha usado tradicionalmente etilenglicol, pero los costos energéticos son mayores comparados con la destilación azeotrópica con benceno. Meirelles *et al.* (1992) indican que bajo condiciones de operación específicas, la destilación extractiva para la obtención de EtOH anhidro puede ser competitiva energéticamente en comparación con la destilación azeotrópica, lo cual ha sido corroborado por Montoya *et al.* (2005) mediante simulación. En años recientes se ha estudiado el empleo de agentes extractivos salinos como el acetato de potasio para emplearlos en procesos de destilación extractiva. En este caso, la recuperación del disolvente se realiza por evaporación y secado por aspersión para la recuperación de la sal (Ligero y Ravagnani, 2003). Además de sales inorgánicas, se está estudiando el empleo de polímeros hiper-ramificados como poliesteramida y poliglicerol hiper-ramificado para la separación de mezclas

etanol-agua, ya que exhiben una gran eficiencia y sus características se pueden escoger a voluntad (Seiler *et al.*, 2003).

La adsorción es otra de las operaciones unitarias usadas en la industria para la deshidratación del EtOH. Preliminarmente se propuso el uso de granos de maíz rotos como material adsorbente, en vista de su capacidad para atrapar el agua en soluciones acuosas de EtOH (Tanaka y Otten, 1987). Sin embargo, la tecnología que más se ha desarrollado en la industria del alcohol carburante y que ha venido reemplazando a la destilación azeotrópica ha sido la adsorción de agua con tamices moleculares. Estos tamices son materiales granulares rígidos de forma esférica o cilíndrica elaborados a partir de aluminosilicatos de potasio. La molécula de agua tiene un diámetro menor que el de los caminos intersticiales de los tamices, mientras que la de EtOH no; además, el agua se adsorbe en la superficie interna de los tamices, lo que los hace muy adecuados para la separación de las mezclas etanol-agua resultantes de la destilación convencional (Madson y Monceaux, 1995).

También se ha desarrollado la aplicación de membranas para la concentración de soluciones de etanol, o aún para su deshidratación. En primera instancia se propuso la ósmosis inversa (Leeper y Tsao, 1987), pero fue la pervaporación la que impulsó la introducción de las membranas en la industria del alcohol carburante. La pervaporación (evaporación a través de membranas) es una operación basada en la separación de dos componentes mediante una membrana selectiva bajo un gradiente de presión. Se emplean membranas que, como las compuestas de polivinil alcohol, presentan una alta selectividad al favorecer el paso de agua a través de ellas y un alto poder de retención para varios solventes orgánicos. El agua transferida a través de la membrana conforma el permeado, mientras el EtOH se concentra en el retenido (Figura 1). La fuerza impulsora de la pervaporación se mantiene gracias a la aplicación de vacío del lado del permeado. Con esta tecnología es posible obtener soluciones de EtOH por encima de su composición azeotrópica. La pervaporación ofrece varias ventajas con respecto a la destilación azeotrópica o extractiva, toda vez que el producto no posee trazas de arrastrador o disolvente, las unidades de pervaporación son compactas y no requieren de mucho espacio comparado con las altas torres de destilación azeotrópica (Sander y Soukup, 1988). Más recientemente se

ha propuesto otra operación de separación por membranas para la deshidratación de EtOH, la permeación de vapor, la cual ha sido mucho menos estudiada que la pervaporación. Este proceso tiene el mismo principio de la pervaporación con la diferencia de que la corriente de alimentación es gaseosa (Figura 1), lo cual hace que el flujo de materia en la permeación de vapor sea mayor ya que la fuerza impulsora se ve menos afectada por la polarización por concentración y por la disminución de la diferencia de presiones parciales (Jansen *et al.*, 1992).

Otro enfoque propuesto para la separación del EtOH es el empleo de la extracción con fluidos supercríticos, que se basa en la gran capacidad de solubilización de un fluido a temperatura y presión superiores a las de su punto crítico líquido-vapor. De esta manera se utilizan las ventajas tanto de la destilación como de la extracción líquida con la mejoría adicional de que pequeños cambios en temperatura y/o presión en la región crítica causan grandes cambios en la densidad del solvente y por lo tanto en su poder de disolución (Sánchez y Cardona, 2004). Budich y Brunner (2003) han utilizado CO₂ supercrítico (333,2 K y 10 MPa) en contracorriente para la recuperación de etanol de mezclas acuosas, siendo regenerado el disolvente mediante un sistema de destilación multietapa y obteniendo una concentración de etanol en el extracto de 99,5% en peso.

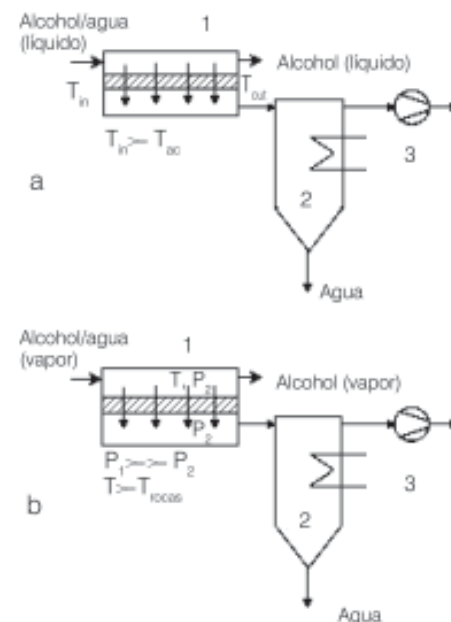


Figura 1. Principio de la pervaporación y de la permeación de vapor. a: pervaporación, b: permeación de vapor, 1: módulo de membrana, 2: condensador, 3: bomba de vacío. Adaptado de Jansen *et al.* (1992).

Aspectos Ambientales

Las vinazas, el material residual obtenido después de la destilación del EtOH a partir del mosto fermentado, contiene tanto material soluble como suspendido y tiene altos valores de demanda biológica de O₂ (DBO₅= 30000-60000mg·L⁻¹), que es una medida, junto con la demanda química de O₂ (DQO), del contenido de materia orgánica en un efluente. En una destilería típica se pueden producir más de 20L de vinazas ligeras por cada litro de EtOH obtenido, por lo que antes de su vertimiento es necesario someter este efluente a un costoso tratamiento. Para minimizar estos costos, se recicla una porción de las vinazas ligeras las cuales constituyen la fracción líquida de las vinazas después de tamizarlas o centrifugarlas. Estas vinazas ligeras recicladas se usan para reemplazar un porcentaje del agua usada durante la maceración (hidrólisis) de los cereales cuando se obtiene alcohol a partir de almidón (Chin e Ingledew, 1994).

Las vinazas obtenidas cuando se usan melazas de caña como materia prima y que son centrifugadas para recuperar los sólidos orgánicos, especialmente las levaduras, retienen hasta un 1,1% de potasio y 3,1% de cenizas. Estas vinazas son transportadas por camiones para irrigar las plantaciones de caña hasta donde sea viable económicamente. Las vinazas ayudan a la formación de un buffer inicial del suelo con Ca y Mg, lo que eleva el pH, mejoran las propiedades físicas del suelo y aumentan la retención de agua y sales. Entre las desventajas del uso de vinazas se encuentran los olores fuertes, la invasión de insectos, aumentos de la acidez del suelo, la lixiviación de sales, la putrescibilidad, la deficiencia de Mn y la inhibición de la germinación de las semillas (Olguín *et al.*, 1995; Navarro *et al.*, 2000; Nguyen, 2003).

Las vinazas con altos valores de DBO o DQO son tratadas por digestión anaerobia, en donde se lleva a cabo la transformación de la materia orgánica por un cultivo mixto de bacterias de tal manera que la DBO se reduce y los lodos resultantes se pueden disponer más fácilmente. Se ha reportado una reducción de la DQO del 97% para vinazas de maíz en un reactor anaeróbico de manto de lodos de flujo ascendente (UASB por sus siglas en inglés), así como la reducción del 94% de la DQO soluble de vinazas de caña. Para vinazas del proceso que emplea almidón de trigo se han hecho estudios a nivel de planta piloto que muestran una

reducción del 89-92% de la DQO (Nguyen, 2003). Alternativamente las vinazas se pueden incinerar, lo que ofrece un retorno positivo de energía, así como la recuperación de minerales. Antes de su incineración, las vinazas se concentran por evaporación hasta cerca del 50-60% en sólidos en evaporadores de 4 ó 5 efectos. La combustión de las vinazas ofrece la energía necesaria para este proceso de concentración. Las cenizas de la incineración tienen cerca de un 30-40% de K₂O y 2-3% de P₂O₅, lo que las convierte en fertilizante luego de su dilución en agua y su neutralización con ácido sulfúrico (Olguín *et al.*, 1995; Nguyen, 2003). La producción de alcohol a partir de residuos lignocelulósicos también genera grandes cantidades de aguas residuales. Se estima que en el proceso de obtención de EtOH a partir de biomasa se generan 15L de aguas residuales por litro de EtOH producido. Entre muchas opciones, se propone una digestión anaeróbica seguida de un tratamiento aeróbico, combinada con una evaporación o incineración de las aguas residuales de la conversión enzimática (Merrick, 1998).

El vertimiento de aguas residuales no es el único factor generador de impactos ambientales durante la producción de alcohol carburante, por lo que es necesaria la evaluación global de los efectos que tiene la producción de este biocombustible sobre el medio ambiente en general. En Brasil se realizó un estudio integral de los aspectos ecológicos, económicos y sociales de la producción de EtOH, incluyendo la fase agrícola y la industrial a través de la evaluación de la eficiencia ambiental del proceso. Los resultados mostraron que ninguna de las tres plantas estudiadas alcanzó el nivel establecido de eficiencia ambiental (Borrero *et al.*, 2003). Por su parte, Prakash *et al.* (1998) propusieron un indicador llamado figura de mérito, el cual expresa la razón entre el rendimiento neto de energía de un combustible y las emisiones de CO₂ producidas por ese combustible. Para la producción de EtOH anhidro a partir de caña en India se determinó un rendimiento neto de energía cercano a 2.

A través de la metodología de análisis del ciclo de vida (LCA por sus siglas en inglés), se han cuantificado los beneficios ambientales de utilizar para la obtención de EtOH el exceso de bagazo de los ingenios azucareros. Ello permitiría la reducción de emisiones y el menor consumo de combustibles fósiles, la disminución en el agotamiento de los recursos naturales, la reducción de la toxicidad para el

hombre y el menor aporte de gases con efecto invernadero (Kadam, 2002). Para la evaluación ambiental de diferentes diagramas de proceso, la Agencia de Protección Ambiental de los EEUU ha desarrollado el algoritmo de reducción de residuos (algoritmo WAR), que se basa en la determinación del impacto ambiental potencial de un diagrama de proceso dado a través del análisis de ocho indicadores ambientales (Cardona *et al.*, 2004). Cardona *et al.* (2005) evaluaron mediante este algoritmo el desempeño ambiental de varias alternativas para la producción de EtOH a partir de diferentes materias primas de dos tipos: biomasa lignocelulósica (material herbáceo, astillas de madera, bagazo de caña y papel residual) y almidón (maíz, trigo, yuca). Los resultados obtenidos mostraron un menor impacto para los procesos a partir de almidón debido a que los procesos a partir de biomasa involucran una etapa de pretratamiento donde se utilizan ácidos, los cuales tienden a aumentar el impacto ambiental potencial (PEI por sus siglas en inglés); igualmente se mostró la conveniencia ambiental del uso de tamices moleculares frente a la destilación azeotrópica con benceno.

Debido a la gran cantidad y diversidad de enfoques metodológicos que dificulta el uso y valoración de los distintos indicadores ambientales, es necesaria la unificación de los diferentes criterios de evaluación ambiental. Esta dificultad impone algunas restricciones al momento de optimizar diferentes alternativas de proceso, en especial cuando se persigue la optimización de una función multiobjetivo que considere además de los indicadores tecno-económicos, índices de desempeño ambiental de las diferentes configuraciones propuestas.

Integración de Procesos

Debido a la gran cantidad de tecnologías existentes y no completamente desarrolladas para la obtención de alcohol, en especial a partir de biomasa lignocelulósica, se hace necesario aplicar las herramientas de integración de procesos, las cuales buscan la integración de todas las operaciones involucradas en la producción de EtOH, la evaluación y optimización de las diferentes configuraciones de procesos y la diversificación de productos. Lo anterior posibilita el desarrollo de bioprocesos integrados que combinen, por ejemplo, diferentes etapas en una sola unidad. Adicionalmente, la síntesis de procesos se encamina hacia la genera-

ción de diferentes diagramas de proceso que puedan convertirse en alternativas viables para la obtención de un producto en particular. La síntesis de procesos puede aportar las herramientas necesarias para, en forma preliminar, descartar las opciones con menos perspectivas teniendo en cuenta nuevos procedimientos, esquemas y alternativas que se planteen en la etapa de diseño, en especial aquellos que involucran diferentes grados de integración. Las reglas heurísticas, potenciadas con un enfoque sistémico del proceso global, son fundamentales para este fin. La simulación es esencial en esta etapa para evaluar gran cantidad de diagramas de procesos alternativos.

Gulati *et al.* (1996) enfatizaron las posibilidades de integrar a las plantas de obtención de EtOH a partir de maíz, líneas de producción que empleen fibra de maíz como materia prima. Estos autores consideran que con 80% de eficiencia en la hidrólisis y fermentación de hexosas y un 70% para las pentosas, se podría obtener un aumento del rendimiento de EtOH de 0,22gal/saco de maíz, siendo el máximo posible de 0,3gal/saco de maíz. Cabe destacar el proceso modelo a partir de biomasa que comprende una hidrólisis previa de la materia prima con ácido diluido, seguida de la sacarificación y co-fermentación simultáneas, así como la producción de celulasas microbianas y la combustión de lignina para la obtención de la energía necesaria para la planta (Wooley *et al.*, 1999b). El costo de producción de 1L de EtOH por este proceso se calcula en US\$1,50 mientras que a partir de maíz es de US\$0,88 (McAloon *et al.*, 2000).

Cardona y Sánchez (2004) simularon diversos esquemas tecnológicos considerando variaciones en las etapas de pretratamiento e hidrólisis, fermentación, separación y tratamiento de efluentes. Se hizo énfasis en las posibilidades de integrar varios procesos en una sola unidad y se emplearon los gastos energéticos para la comparación de los esquemas propuestos. Los resultados demostraron que el diagrama más apropiado debe incluir la sacarificación y co-fermentación simultáneas, la destilación acoplada con la pervaporación y un reciclaje de aguas residuales para usarlas como agua de proceso. Este análisis se complementó con la evaluación de costos de capital y de operación para diferentes materias primas que requieren de tecnologías diferentes de procesamiento (Cardona *et al.*, 2005). Los resultados arrojaron menores costos para el proceso a partir de

almidón debido a la mayor complejidad del proceso a partir de biomasa y a que este último proceso no está totalmente desarrollado.

Integración reacción-reacción

La síntesis de procesos ha recibido un gran impulso con la intensificación de los procesos mediante su simultaneidad o acoplamiento (conjugación). Al llevar a cabo la integración de varias operaciones en una misma unidad, aumentan las posibilidades de mejorar el desempeño del proceso global. Los procesos simultáneos, que se llevan a cabo en una misma unidad, permiten una intensificación mutua y el desarrollo de esquemas tecnológicos más compactos. Partiendo del proceso no integrado de hidrólisis y fermentación separadas (SHF por sus siglas en inglés) se pueden formular varios tipos de integración reacción-reacción. Entre los primeros esfuerzos de integración se cuenta la co-fermentación o cultivo

mixto de diferentes especies de microorganismos compatibles para asegurar la completa asimilación de todos los azúcares de la biomasa lignocelulósica liberados durante su pretratamiento e hidrólisis. Se ha propuesto el empleo de cultivos mixtos de levaduras que asimilen tanto hexosas como pentosas, pero surge el problema de que los microorganismos que utilizan hexosas crecen más rápido y su conversión a EtOH es más elevada (Sánchez y Cardona, 2005). Laplace *et al.* (1993) emplearon un mutante de *Saccharomyces cerevisiae* con capacidad respiratoria deficiente, cultivado junto con *Pichia stipitis* en cultivos por lotes y continuos en condiciones limitadas de O₂, obteniendo para este último caso la conversión del 100% de glucosa y del 69% de xilosa a una tasa de dilución de 0,02·h⁻¹.

En las Figuras 2 y 3 se ilustran las diferentes posibilidades de integración reacción-reacción para el proceso de obtención de EtOH tanto a partir de almidón como de biomasa lig-

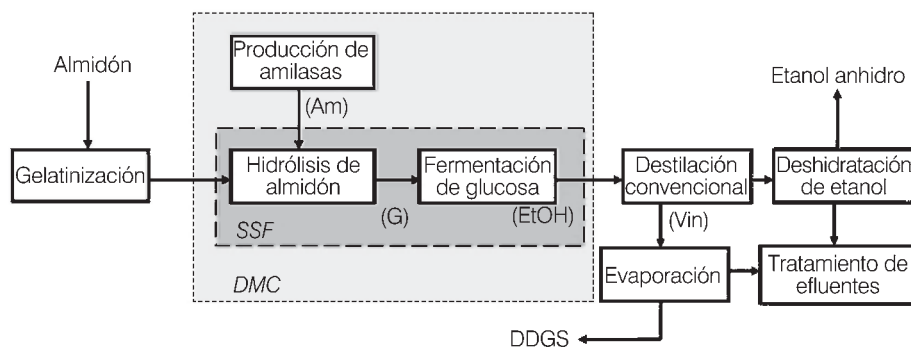


Figura 2. Posibilidades de integración reacción-reacción para la producción de alcohol carburante a partir de almidón. SSF: fermentación y sacarificación simultáneas, DMC: conversión microbiana directa, Am: amilasas, G: glucosa, EtOH: etanol, Vin: vinazas, DDGS: granos secos de destilería con solubles (co-producto para alimentación animal).

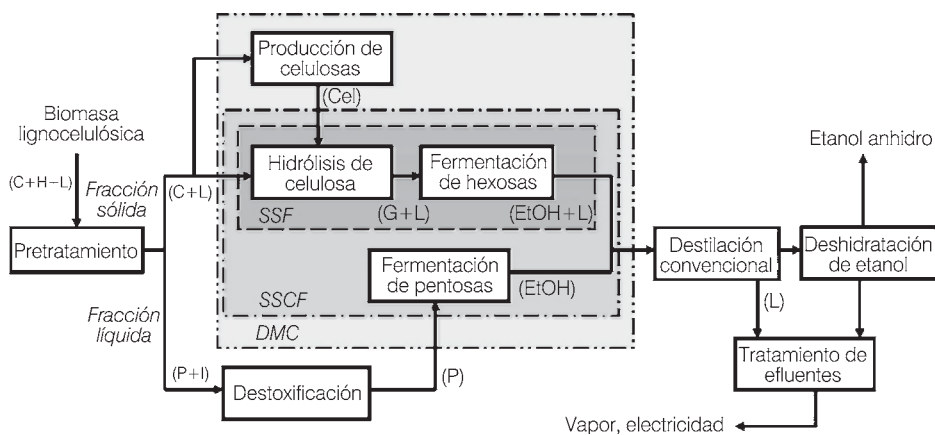


Figura 3. Posibilidades de integración reacción-reacción para la producción de alcohol carburante a partir de biomasa lignocelulósica. SSF: fermentación y sacarificación simultáneas, SSF: sacarificación y co-fermentación simultáneas, DMC: conversión microbiana directa, Cel: celulasas, C: celulosa, EtOH: etanol, G: glucosa, H: hemicelulosa, I: inhibidores de la fermentación, L: lignina, P: pentosas.

nocelulósica. Uno de los mayores hitos en la integración reacción-reacción en el proceso de producción de EtOH a partir no solo de biomasa, sino de almidón, es la implementación y desarrollo de la sacarificación y fermentación simultáneas (SSF por sus siglas en inglés), en donde se combinan en una unidad la etapa de degradación enzimática de la celulosa o del almidón y la fermentación de la glucosa obtenida de la hidrólisis de estos polisacáridos. La clave del proceso de SSF a partir de biomasa lignocelulósica es su habilidad para convertir rápidamente los azúcares en EtOH tan pronto como se forman, disminuyendo su acumulación en el medio. Por cuanto los azúcares (glucosa, celobiosa) son mucho más inhibitorios para el proceso de conversión que el EtOH, la SSF puede alcanzar mayores velocidades, rendimientos y concentraciones en comparación con la SHF (Wyman *et al.*, 1992). En el proceso de SSF a partir de biomasa las levaduras metabolizan simultáneamente la glucosa en etanol *in situ* durante la sacarificación (Gauss, 1976), pero aun no se han construido plantas comerciales a nivel industrial. Desde que se realizaron las primeras experiencias con la SSF de biomasa, los tiempos del proceso por lotes han disminuido de 14 días requeridos para la conversión del 70% de la celulosa en EtOH con una concentración final de 20g·L⁻¹ de alcohol, hasta 3-7 días para alcanzar conversiones de 90-95% con una concentración de 40-50 g·L⁻¹ de EtOH (Wyman, 1994). La tecnología SSF fue asimilada para la producción industrial de EtOH a partir de almidón, obteniéndose rendimientos altos y sostenibles del orden de 2,75gal/saco de maíz (Madson y Monceaux, 1995).

Otra alternativa para aumentar la conversión de biomasa consiste en incluir la fermentación de pentosas en la SSF, lo que se ha denominado sacarificación y co-fermentación simultáneas (SSCF por sus siglas en inglés; Figura 3). En este proceso se basa la tecnología diseñada como proceso modelo para la producción de alcohol carburante a partir de astillas de madera (Wooley *et al.*, 1999a). En este diseño se plantea la utilización de *Zymomonas mobilis* recombinante con una conversión de glucosa en EtOH del 92% y de xilosa en EtOH del 85%. Se contempla que la SSCF se lleve a cabo en forma continua con un tiempo de residencia de 7 días a 30°C para todo el sistema de fermentadores en cascada.

La culminación lógica de la integración reacción-reacción para

la producción de EtOH es la conversión microbiana directa (DMC por sus siglas en inglés). La clave del proceso DMC para el procesamiento de la biomasa lignocelulósica (Figura 3), es que una sola comunidad microbiana es empleada tanto para la producción de celulasas como para la fermentación. Lynd (1996) señala que en este caso no se requiere dedicar gastos de capital o de operación para la producción de enzimas dentro del proceso, lo mismo que no se desvía parte del sustrato para la producción de celulasas, además de que los sistemas enzimáticos y los de fermentación son enteramente compatibles. Según sus proyecciones, la reducción de los costos de producción por un esquema avanzado que incluya la DMC, es 3 veces mayor que la reducción relacionada con la economía de escala del proceso y 10 veces mayor que la asociada con un menor costo de la materia prima. Esta disminución en los costos se daría por cuenta de una reducción de más de 8 veces en los costos de la conversión biológica. Wyman (1994) señala que en la mayoría de estudios sobre DMC se emplea la bacteria *C. thermocellum* para la producción de enzimas, la hidrólisis de celulosa y la fermentación de la glucosa, mientras la co-fermentación con *C. thermosaccharolyticum* permite la conversión simultánea en etanol de las pentosas formadas en la hidrólisis de la hemicelulosa. La principal dificultad reside en la formación de subproductos como el ácido acético, lo que limita los rendimientos alcanzados. Además, la tolerancia al EtOH por parte de estas bacterias es reducida.

La integración de procesos de reacción-reacción ha recibido un impulso con el desarrollo de microorganismos modificados por ingeniería genética (recombinantes) que hagan posible la asimilación más completa de las materias primas utilizadas en la producción de bioetanol. Cuando se utilizan cepas recombinantes para asimilar más sustratos o formar nuevos productos, se está integrando a nivel celular e inclusive molecular una serie de transformaciones químicas muy complejas que permite la realización a nivel macroscópico de varios procesos químicos en una misma unidad. A través de esta tecnología, se han “construido” cepas de levadura amilolíticas, lo que permite diseñar procesos de obtención de alcohol excluyendo las etapas de licuefacción y sacarificación con enzimas exógenas, y utilizar solo la levadura para la transformación biológica (proceso DMC), como se esquematiza en la Fi-

gura 2. Los ahorros que se podrían obtener al escalar comercialmente este proceso compensarían con creces la menor velocidad de crecimiento y los mayores tiempos de fermentación. Se han desarrollado cepas de *S. cerevisiae* a las cuales se les ha introducido un plásmido que le confiere la capacidad de expresar los genes que codifican la α -amilasa de la bacteria *Bacillus subtilis* y la glucoamilasa del hongo *Aspergillus awamori*, adquiriendo así la habilidad de convertir directamente el almidón en EtOH. Con estas levaduras, Ülgen *et al.* (2002) reportaron mayores concentraciones de EtOH producido en cultivos por lotes alimentados (47,5g·L⁻¹) que en cultivos por lotes (15,6g·L⁻¹). En el caso de la fermentación de biomasa lignocelulósica, la ingeniería genética ha contribuido con microorganismos capaces de utilizar este tipo de materiales. Para abordar este reto existen dos enfoques principales (Aristodou y Penttilä, 2000; Chotani *et al.*, 2000). El primero consiste en modificar microorganismos de modo que pueden asimilar un amplio espectro de sustratos; por ejemplo, a aquellos organismos que son buenos etanológenos como las levaduras y *Z. mobilis*, introducirles las vías metabólicas para utilizar la xilosa o la arabinosa. El otro enfoque se centra en modificar microorganismos que tengan buena habilidad para convertir compuestos intermediarios claves como el piruvato en EtOH; para ello se emplean organismos como *E. coli*, capaces de asimilar hexosas y pentosas, y se le introducen genes para que convierta el piruvato en EtOH.

Integración reacción-separación

Entre las variantes utilizadas para la integración reacción-separación en la producción de bioetanol se cuenta la operación de fermentadores continuos acoplados con un sistema de pervaporación, en el que se logra retirar continuamente el alcohol producido por los microorganismos, reduciendo a su vez la inhibición natural de las células por altas concentraciones de EtOH (Figura 4). De esta manera se logran mayores productividades y se aumenta la concentración de las soluciones acuosas de EtOH a ser separadas, con el consiguiente ahorro energético. O'Brien *et al.* (2000) utilizaron herramientas de simulación para evaluar los costos del proceso de obtención de alcohol carburante mediante fermentación por lotes, destilación y deshidratación, comparándolos con los del proceso en el que la fermentación continua se integró con la perva-

poración antes de la destilación y la deshidratación. La fermentación acoplada a la pervaporación se simuló con base en datos experimentales de ensayos de más 200h empleando membranas comerciales de polidimetilsiloxano. Las simulaciones arrojaron costos ligeramente mayores para el proceso con pervaporación debido a los costos de las membranas y de capital. Sin embargo, los costos de la fermentación se redujeron en un 75% y los de la destilación disminuyeron significativamente. La simulación se constituye así en una herramienta poderosa para la evaluación de alternativas. Sánchez *et al.* (2005) modelaron el proceso de SSF de biomasa lignocelulósica acoplado a una unidad de pervaporación, analizando el comportamiento del proceso tanto por lotes como continuo. La remoción del EtOH a través de una unidad de pervaporación permitió reducir el efecto de la inhibición del crecimiento celular por la acumulación de alcohol en el medio, mientras la SSF permitió la reducción de la inhibición por glucosa y celobiosa que experimentan las enzimas durante el proceso de hidrólisis de la celulosa. Este tipo de integración reacción-reacción-separación demostró la posibilidad de alcanzar productividades elevadas para el proceso continuo, así como la obtención de un permeado con una concentración mayor de EtOH en comparación con la del caldo, lo que a su vez reduce los costos energéticos en la destilación siguiente.

Un enfoque razonable para aumentar la productividad del proceso de fermentación alcohólica es la remoción del producto que causa la inhibición mediante un agente extractivo biocompatible (solvente), al migrar el EtOH a la fase del solvente. Este proceso se denomina fermentación extractiva y combina la extracción líquido-líquido con el cultivo de microorganismos. Gyamerah y Glover (1996) escogieron como solvente el n-dodecanol por su alta selectividad hacia el EtOH y no ser tóxico para los microorganismos. Gutiérrez *et al.* (2005) modelaron el proceso de fermentación extractiva por lotes de biomasa lignocelulósica, acoplado las ecuaciones de la cinética del proceso biológico con los modelos de equilibrio líquido-líquido. El esquema tecnológico simulado incluyó un biorreactor con agitación en donde la fase del solvente se dispersa en la fase acuosa donde se desarrollan las células. De este biorreactor se retira continuamente caldo de cultivo, incluyendo el solvente. Los microorganismos se separan del caldo por membranas y son devueltos al fermentador. El caldo libre de células es enviado a un

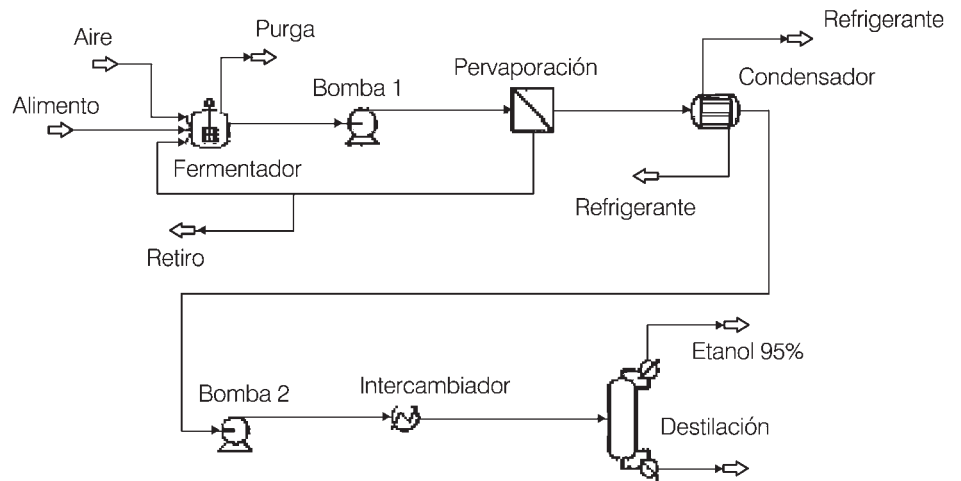


Figura 4. Esquema de las etapas de fermentación y destilación del proceso continuo de fermentación-pervaporación. Adaptado de O'Brien *et al.* (2000).

decantador donde ocurre la separación de la fase acuosa, que también se devuelve al fermentador, y de la fase del solvente enriquecida con EtOH. Luego el solvente es separado del EtOH mediante evaporación instantánea y recirculado al biorreactor (Figura 5). El análisis realizado, que involucró la comparación energética de este proceso con esquemas convencionales, demostró la posibilidad de disminuir el consumo de energía e incrementar la productividad.

Integración separación-separación

Las técnicas de integración separación-separación han ido de la mano con el desarrollo de las diferentes operaciones unitarias involucradas y de los nuevos enfoques de intensificación de procesos. Montoya *et al.* (2005) simularon los esquemas de deshidratación de EtOH, complementada con la evaluación de los costos energéticos y de capital. Con base en la termodinámica topológica, se llevó a cabo la síntesis del tren de destilación y la valoración de la separabilidad de los diferentes componentes involucrados en los caldos de cultivo de donde se recupera el EtOH. Por métodos cortos se lograron definir las especificaciones necesarias para simular el esquema de separación de EtOH acoplado al proceso de SSF de almidón, que fue utilizado como sistema modelo, empleando simuladores comerciales. Los resultados mostraron que

aunque la deshidratación con tamices moleculares incurre en elevados costos por la complejidad del sistema de automatización y control que implica el manejo alternado de diferentes regímenes de presión, este método de deshidratación presenta los menores costos de operación de los esquemas analizados

Gros *et al.* (1998) describieron la síntesis de procesos para la deshidratación de alcohol etílico mediante propano en condiciones cercanas a las supercríticas. Con este fin se utilizó un software especial para la simulación secuencial de las principales unidades del proceso: extractores multietapa de alta presión, columnas de destilación y separadores multifásicos de evaporación instantánea. Utilizando un algoritmo de optimización integrado a la simulación del esquema, se analizaron tres configuraciones usando como función objetivo el consumo energético. Los resultados mostraron que el esquema de recompresión del vapor con enfriamiento del extracto y eliminación del agua y la pre-concentración de la alimentación son alternativas competitivas en comparación

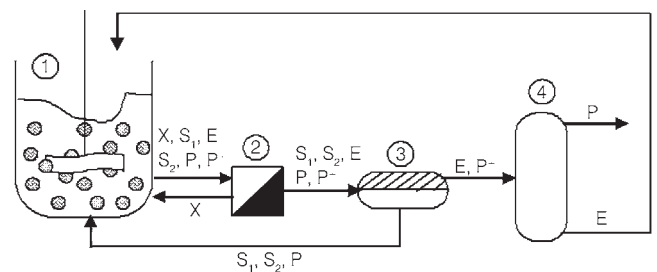


Figura 5. Esquema del proceso de fermentación extractiva para la producción de bioetanol a partir de biomasa lignocelulósica. 1: biorreactor, 2: filtro de membrana, 3: decantador, 4: unidad de evaporación instantánea, X: células, S_1 : glucosa, S_2 : xilosa, P: etanol en la fase acuosa, P^* : etanol en la fase del solvente, E: solvente. Tomado de Gutiérrez *et al.* (2005).

con la destilación azeotrópica. Cabe destacar la aplicación de la tecnología de membranas para la integración de diferentes esquemas de separación y purificación de EtOH. Mediante estudios en planta piloto se ha logrado la integración del proceso de destilación de alcohol con la pervaporación, el cual ha dado buenos resultados en términos de ahorro de energía debido a los bajos costos de operación de la pervaporación y al alto rendimiento de etanol deshidratado (Tsu-yomoto y Mearns, 1997). La comparación entre la destilación azeotrópica usando benceno y el sistema de pervaporación utilizando múltiples módulos de membranas ha arrojado que a una misma tasa de producción de etanol e idéntica calidad del producto (99% p/p), los costos energéticos son aproximadamente 1/5 de los correspondientes para la destilación azeotrópica.

Integración energética

Los tipos de integración descritos se refieren a la integración de corrientes materiales, ya sea para su transformación o para la separación de sus componentes. Sin embargo, es posible la integración energética de las diferentes etapas para la obtención de alcohol carburante. Esta integración busca la mejor utilización de los flujos de energía (calor, energía mecánica o eléctrica) generados y consumidos dentro del proceso con el fin de reducir el consumo de fuentes externas de energía, como la electricidad y los combustibles fósiles utilizados para la generación de vapor, así como disminuir el consumo de agua de enfriamiento. Uno de los enfoques más aplicados para la integración térmica en la industria de procesos, en especial en la petroquímica, lo constituye la tecnología *pinch* (literalmente pellizco o pizca, indicando una aproximación muy pequeña). Esta tecnología suministra las herramientas necesarias para diseñar la red de intercambiadores de calor y de servicios de una planta. Durante el diseño preliminar de esta red, la tecnología permite obtener los mejores valores de muchos parámetros del proceso, como los tipos de servicios y sus especificaciones, el número mínimo de unidades de intercambio de calor y sus áreas de transferencia, y la estimación de los costos de capital y de operación de dichas unidades. Estos valores se obtienen sin necesidad de realizar un diseño detallado de la topología de la red de intercambiadores de calor y solo se requiere conocer los datos térmicos de las corrientes de proceso (Shenoy,

1985). La integración térmica de procesos se ha perfilado como una de las directrices de la integración de procesos que más puede aportar en la síntesis de esquemas tecnológicos de diversa índole (Ríos *et al.*, 2004).

Para el caso de la obtención de alcohol a partir de melazas se ha simulado y optimizado el diagrama de proceso a través de su integración térmica, haciéndose énfasis en el esquema de separación de alcohol por destilación (Sobočan y Glavič, 2000). Grisales *et al.* (2005) emplearon el enfoque de la integración térmica para el análisis de las etapas de fermentación, destilación y evaporación del proceso de obtención de alcohol carburante a partir de biomasa lignocelulósica que utiliza la destilación azeotrópica para la deshidratación del EtOH. A través de una representación gráfica de los requerimientos de energía del proceso, se identificaron las posibilidades de intercambio de calor entre las corrientes frías y calientes, empleando las reglas de la tecnología *pinch*. Esta metodología permitió diseñar una red de intercambiadores de calor diferente a la del diagrama de proceso original, con reducción en los fluidos de servicios (vapor y agua de enfriamiento) y la consiguiente disminución en los costos de operación.

Conclusiones

El desarrollo de la industria de producción de alcohol carburante demuestra que aún falta resolver complejos problemas técnicos que influyen sobre los indicadores económicos del proceso global, así como sobre su desempeño ambiental. El costo creciente de la energía, el diseño de procesos más intensivos y compactos, y la preocupación creciente por el medio ambiente, han hecho surgir la necesidad de emplear enfoques nuevos para el diseño y operación de procesos de obtención de bioetanol. Conceptos como sostenibilidad y amigabilidad ambiental van ahora de la mano con los tradicionales indicadores tecno-económicos utilizados para valorar los procesos productivos.

La diversificación del portafolio energético de los países a través de la producción y consumo masivo de bioetanol tiene serias y profundas consecuencias sobre sus economías y, en particular, sobre la de sus comunidades rurales. Los tres tipos principales de materia prima utilizados para obtener etanol corresponden a recursos con los que prácticamente todos los países

cuentan. Virtualmente todas las regiones pobladas del mundo disponen de grandes cantidades de biomasa lignocelulósica representada no solo en cultivos de plantas herbáceas o de madera, sino en una gran diversidad de residuos forestales, agroindustriales, industriales y urbanos. Prácticamente, cada país puede producir su propio biocombustible. De esta manera, la materia prima para la obtención de etanol está “descentralizada” y no coincide con los centros de suministro de combustibles fósiles. Lo anterior hace que la dependencia energética de los países con respecto al petróleo pueda disminuir considerablemente, y los indicadores de desarrollo humano pueden mejorar desde dos puntos de vista: la creación de nuevos empleos y la reducción de emisiones de gases con efecto invernadero.

Los costos de producción del bioetanol son mayores que los de los combustibles fósiles, particularmente en el caso del etanol que se pudiera producir a partir de biomasa, pero durante los últimos dos años los precios del petróleo han subido sostenidamente. Los precios de la gasolina y de otros derivados del petróleo tienen un subsidio que pagamos todos los contribuyentes y que no necesariamente se hace efectivo en las gasolineras. Este “subsidio” está destinado a compensar la inversión que hacen los gobiernos, el sector privado, las compañías transnacionales y los grupos de interés en general, para mantener el *status quo* de las relaciones internacionales caracterizadas por desbalances comerciales, dependencia tecnológica, flujos de capital hacia los centros de desarrollo económico, políticas migratorias restrictivas, deterioro del medio ambiente y alianzas militares que eventualmente adelantan operaciones militares a escala local y global. Lógicamente, también pagamos las consecuencias de las medidas que se toman para “compensar” este estado de cosas: inestabilidad social y, desafortunadamente, terrorismo.

Se plantea pues el reto de la reducción de los costos de producción de etanol. En la búsqueda de la solución la integración de procesos es clave para la generación, diseño, análisis e implementación de tecnologías que mejoren los indicadores del proceso global o que impliquen una reconversión de los bioprocesos empleados. La intensificación de los procesos a través de la integración entre diferentes etapas (reacción-reacción, reacción-separación, etc.) y la implementación de procesos de bioconversión directa de la materia prima en alcohol, de la mano de la tec-

nología de obtención de microorganismos recombinantes, se constituyen en la llave para abrir la puerta de la competitividad del etanol como alcohol carburante frente a los combustibles fósiles.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos al Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología (Colciencias), a la Universidad Nacional de Colombia sede Manizales y a la Universidad de Caldas, por su apoyo durante la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

- Aristodou A, Penttilä M (2000) Metabolic engineering applications to renewable resource utilization. *Curr. Opin. Biotechnol.* 11: 187-198.
- Borrero MAV, Pereira JTV, Miranda EE (2003) An environmental management method for sugar cane alcohol production in Brazil. *Biomass Bioenerg.* 25: 287-299.
- Budich N, Brunner G (2003) Supercritical fluid extraction of ethanol from aqueous solutions. *J. Supercrit. Fluid* 25: 45-55.
- Cardona C, Sánchez O (2004) Analysis of integrated flow sheets for biotechnological production of fuel ethanol. En *PRES 2004 - 16th Internat. Cong. Chemical and Process Engineering (CHISA 2004)*. Praga, República Checa. (Formato CD).
- Cardona CA, Marulanda VF, Young D (2004) Analysis of the environmental impact of butylacetate process through the WAR algorithm. *Chem. Eng. Sci.* 59: 5839-5845.
- Cardona CA, Sánchez OJ, Montoya MI, Quintero JA (2005) Analysis of fuel ethanol production processes using lignocellulosic biomass and starch as feedstocks. En *7th World Congress of Chemical Engineering*. Glasgow, Escocia, RU. (Formato CD).
- Chianese A, Zinamosca F (1990) Ethanol dehydration by azeotropic distillation with a mixed-solvent entrainer. *Chem. Eng. J.* 43: 59-65.
- Chin PM, Ingledew WM (1994) Effect of lactic acid bacteria on wheat mash fermentations prepared with laboratory backset. *Enzyme Microb. Technol.* 16: 311-317.
- Chotani G, Dodge T, Hsu A, Kumar M, LaDuca R, Trimbur D, Weyler W, Sanford K (2000) The commercial production of chemicals using pathway engineering. *Biochim. Biophys. Acta* 1543: 434-455.
- Gauss WF (1976) *Manufacture of alcohol from cellulosic materials using plural ferments*. Patent US3990944.
- Grisales R, Cardona CA, Sánchez OJ, Gutiérrez LF (2005) Heat integration of fermentation and recovery steps for fuel ethanol production from lignocellulosic biomass. En *2nd Mercosur Cong. Chemical Engineering and 4th Mercosur Cong. Process Systems Engineering*. Río de Janeiro, Brasil. (Formato CD).
- Gros HP, Díaz S, Brignole EA (1998) Near-critical separation of aqueous azeotropic mixtures: process synthesis and optimization. *J. Supercrit. Fluid* 12: 69-84.
- Gulati M, Kohlmann K, Ladisch MR, Hespell R, Bothast RJ (1996) Assessment of ethanol production options for corn products. *Bioresour. Technol.* 58: 253-264.
- Gutiérrez LF, Sánchez OJ, Cardona CA (2005) Modeling of batch extractive fermentation for the fuel ethanol production. En *8th Conf. Process Integration, Modelling and Optimisation for Energy Saving and Pollution Reduction, PRES 2005*. Giardini Naxos, Italia. (Formato CD).
- Gyamerah M, Glover J (1996) Production of ethanol by continuous fermentation and liquid-liquid extraction. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 67: 145.
- Jansen AE, Versteeg WF, van Engelenburg B, Hanemaaijer JH, ter Meulen BPh (1992) Methods to improve flux during alcohol/water azeotrope separation by vapor permeation. *J. Membrane Sci.* 68: 229-239.
- Kadam KL (2002) Environmental benefits on a life cycle basis of using bagasse-derived ethanol as a gasoline oxygenate in India. *Energ. Policy* 30: 371-384.
- Laplace JM, Delgenes JP, Moletta R, Navarro JM (1993) Cofermentation of glucose and xylose to ethanol by a respiratory-deficient mutant of *Saccharomyces cerevisiae* co-cultivated with a xylose-fermenting yeast. *J. Ferment. Bioeng.* 75: 207-212.
- Leeper SA, Tsao GT (1987) Membrane separations in ethanol recovery: An analysis of two applications of hyperfiltration. *J. Membrane Sci.* 30: 289-312.
- Ligero E, Ravagnani T (2003) Dehydration of ethanol with salt extractive distillation - a comparative analysis between processes with salt recovery. *Chem. Eng. Process.* 42: 543-552.
- Lynd LR (1996) Overview and evaluation of fuel ethanol from cellulosic biomass: Technology, Economics, the Environment, and Policy. *Annu. Rev. Energ. Env.* 21: 403-465.
- Madson PW, Monceaux DA (1995) Fuel ethanol production. En Lyons TP, Kelsall DR, Murtagh JE (Eds.) *The Alcohol Textbook*. Nottingham University Press. Nottingham, Reino Unido. pp. 257-268
- McAloon A, Taylor F, Yee W, Ibsen K, Wooley R (2000) *Determining the cost of producing ethanol from corn starch and lignocellulosic feedstocks*. National Renewable Energy Laboratory. Golden, CO, EEUU. 35 pp.
- Meirelles A, Weiss S, Herfurth H (1992) Ethanol dehydration by extractive distillation. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 53: 181-188.
- Merrick (1998) *Wastewater treatment options for the biomass-to-ethanol process*. Merrick Project. Merrick & Co. Aurora, CO, EEUU. 29 pp.
- Montoya MI, Quintero JA, Sánchez OJ, Cardona CA (2005) Efecto del esquema de separación del producto en la producción biotecnológica de alcohol carburante. En *II Simposio Sobre Biofábricas. Avances de la Biotecnología en Colombia*. Medellín, Colombia. (Formato CD).
- Navarro AR, Sepúlveda M del C, Rubio MC (2000) Bio-concentration of vinasse from the alcoholic fermentation of sugar cane molasses. *Waste Manag.* 20: 581-585.
- Nguyen MH (2003) Alternatives to spray irrigation of starch waste based distillery effluent. *J. Food Eng.* 60: 367-374.
- O'Brien D, Roth L, McAloon A (2000) Ethanol production by continuous fermentation-fermentation: A preliminary economic analysis. *J. Membrane Sci.* 166: 105-111.
- Olgún EJ, Doelle HW, Mercado G (1995) Resource recovery through recycling of sugar processing by-products and residuals. *Resour. Conserv. Recy.* 15: 85-94.
- Prakash R, Henham A, Bhat IK (1998) Net energy and gross pollution from bioethanol production in India. *Fuel* 77: 1629-1633.
- Ríos CM, Grisales R, Cardona CA (2004) Integración térmica de procesos a través de tecnología pinch. *Rev. Noos* 18: 25-32.
- Sánchez OJ, Cardona CA (2004) Perspectivas de la aplicación de la ingeniería química y la biotecnología en la industria de procesamiento de frutas. En Giraldo C (Ed.) *Memorias del V Seminario Nacional e Internacional de Frutales*. Manizales, Colombia. pp. 402-421.
- Sánchez OJ, Cardona CA (2005) Producción biotecnológica de alcohol carburante I: Obtención a partir de diferentes materias primas. *Interciencia* 30: 671-678.
- Sánchez OJ, Cardona CA, Cubides DC (2005) Modeling of simultaneous saccharification and fermentation process coupled with pervaporation for fuel ethanol production. En *2nd Mercosur Congress on Chemical Engineering and 4th Mercosur Congress on Process Systems Engineering*. Río de Janeiro, Brasil. (Formato CD).
- Sander U, Soukup P (1988) Design and operation of a pervaporation plant for ethanol dehydration. *J. Membrane Sci.* 36: 463-475.
- Seiler M, Köhler D, Arlt W (2003) Hyperbranched polymers: new selective solvents for extractive distillation and solvent extraction. *Separ. Purif. Technol.* 30: 179-197.
- Shenoy UV (1995) *Heat Exchanger Network Synthesis: The Pinch Technology-Based Approach*. Gulf Publishing Company. Houston, TX, EEUU. 642 pp.
- Sobočan G, Glavič P (2000) Optimization of ethanol fermentation process design. *Appl. Therm. Eng.* 20: 529-543.
- Tanaka B, Otten L (1987) Dehydration of aqueous ethanol. *Energ. Agr.* 6: 63-76.
- Tsuyomoto M, Meares ATP (1997) Dehydration of ethanol on a pilot plant scale, using a new type of hollow-fiber membrane. *J. Membrane Sci.* 133: 83-94.
- Ülgen KÖ, Saygili B, Önsan ZI, Kirdar B (2002) Bioconversion of starch into ethanol by a recombinant *Saccharomyces cerevisiae* strain YPG-AB. *Process Biochem.* 37: 1157-1168.
- Wooley R, Ruth M, Glassner D, Sheehan J (1999a) Process design and costing of bioethanol technology: a tool for determining the status and direction of research and development. *Biotechnol. Progr.* 15: 794-803.
- Wooley R, Ruth M, Sheehan J, Ibsen K, Majdeski H, Gálvez A (1999b) *Lignocellulosic biomass to ethanol process design and economics utilizing co-current dilute acid prehydrolysis and enzymatic hydrolysis. Current and futuristic scenarios*. National Renewable Energy Laboratory. Golden, CO, EEUU. 123 p.
- Wyman CE (1994) Ethanol from lignocellulosic biomass: Technology, economics, and opportunities. *Bioresour. Technol.* 50: 3-16.
- Wyman CE, Spindler DD, Grohmann K (1992) Simultaneous saccharification and fermentation of several lignocellulosic feedstocks to fuel ethanol. *Biomass Bioenerg.* 3: 301-307.