



REVISIÓN

Producción de bioetanol a partir de jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*) respecto a otros materiales lignocelulósicos

Bioetanol production from hyacinth water (Eichhornia crassipes) vs other materials regarding lignocellulosic

Karen Ospino Villalba

Ingeniera agroindustrial. Universidad Popular del Cesar. Universidad de Antioquia.
Grupo de Investigación Procesos Físicoquímicos Aplicados. Medellín, Antioquia, Colombia.
ingenierakov@gmail.com

Luis Alberto Ríos

Ingeniero químico. Ph.D. en Ciencias Naturales. Universidad Técnica de Aachen.
Docente de la Universidad de Antioquia. Grupo de Investigación Procesos Físicoquímicos Aplicados.
lariospfa@gmail.com

RESUMEN

Se realizó una revisión general sobre la disponibilidad de materias primas en Colombia y de las diversas etapas de transformación que se recomiendan para la producción de etanol lignocelulósico en la actualidad. A lo largo de la exploración teórica realizada, se hizo una comparación con reportes existentes sobre la *Eichhornia crassipes*, con la finalidad de exponer diferencias y similitudes que permitan exaltar la importancia de ampliar las opciones de materias primas a la hora de considerar producir bioetanol. En lo referente a pretratamientos y métodos de hidrólisis de biomasa lignocelulósica, se hizo énfasis en los principios que rigen estos procedimientos. En este trabajo igualmente se presentan resultados preliminares sobre el aprovechamiento del jacinto de agua proveniente de embalses de las Empresas Públicas de Medellín (EPM) para la producción de bioetanol. Este esfuerzo responde a la necesidad de agrupar información valiosa, que ofrezca una perspectiva sobre las tecnologías que existen para producir este tipo de biocombustible y de cómo se han aplicado a diferentes fuentes, en particular el jacinto de agua.

Palabras clave: etanol lignocelulósico, *Eichhornia crassipes*, pretratamiento de biomasa.

ABSTRACT

*A general review was conducted about the availability of raw materials in Colombia and processing steps recommended in lignocellulosic ethanol production currently. With theoretical exploration was made a comparison with existing reports about the *Eichhornia crassipes*, in order to explain differences and similarities that allow exalt the importance of expanding commodity options when considering producing bioethanol. Regarding pretreatment and hydrolysis methods lignocellulosic biomass, the emphasis was on the principles governing these procedures. This paper also presents results of the utilization of Water Hyacinth reservoirs of Empresas Públicas de Medellín (EPM) for the production of bioethanol. This effort responds to the need to bring together valuable information that provides an overview of the technologies available to produce this type of biofuel and how they have been applied to various sources, in particular the Water Hyacinth.*

Key Words: Lignocellulosic ethanol, *Eichhornia crassipes*, biomass pretreatment.

Introducción

La garantía de seguridad energética en el largo plazo y los cambios climáticos hacen imperiosa la sustitución de los combustibles derivados del petróleo, lo cual ha puesto la atención en el uso de azúcares fermentables provenientes de lignocelulosa, por ser la mayor fuente de carbohidratos renovables en el mundo (Singh, Pant *et al.*). Se dice que la lignocelulosa es el material más abundante en la naturaleza (Jeewon, 1997), este es un polímero complejo principalmente compuesto por celulosa, hemicelulosa y lignina, siendo sus proporciones en peso seco generalmente de 35 a 50 % para la celulosa, entre 20 y 35 % para la hemicelulosa y entre 10 y 25 % para la lignina (ZhiguangZhu, 2009).

El uso de materiales lignocelulósicos, producto de cultivos energéticos, residuos agroindustriales y forestales para producción de biocombustibles de segunda generación pueden disminuir las emisiones de gases de efecto invernadero al tiempo que no se compite con materias primas del sector alimentario (Singh, Pant *et al.*). Sin embargo, la bioconversión de estos materiales requiere la separación de la lignina, seguida de la hidrólisis de los principales azúcares que componen la holocelulosa (glucosa, galactosa, manosa, xilosa y arabinosa), lo cual hace que el proceso de producción de etanol lignocelulósico sea más costoso y complejo que el que se produce a partir de materiales

ricos en almidón y otros sacáridos más sencillos (Mabee, McFarlane *et al.*).

Los materiales lignocelulósicos pueden clasificarse en pastos, residuos agrícolas y forestales, cultivos energéticos, entre otros. Estos materiales cumplen un papel muy importante en la producción de etanol, en tanto su disponibilidad, variabilidad y sostenibilidad pueden afectar la planificación de la producción (Sukumaran; Surender *et al.*).

El jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*) es una planta acuática perteneciente a la familia *Pontederiaceae*, originaria de Brasil y Ecuador, de uso ornamental para la descontaminación de aguas. Esta planta se reproduce sexual y asexualmente y es de rápido crecimiento, lo cual la ubica como una de las malezas acuáticas más nocivas, debido al impacto ambiental que genera poreutrofización de aguas. En países en desarrollo ha sido vista como una opción viable para la producción de biocombustibles (Ganguly; Chatterjee *et al.*).

La composición de la biomasa del jacinto de agua es de aproximadamente 48 % de hemicelulosa, 18 % de celulosa y 3,5 % de lignina (J. N., 2002), que a pesar de presentar variaciones en diferentes reportes, se coincide en que presenta altos contenidos de hemicelulosa y bajos contenidos de lignina. El uso de estas malezas para su transformación en etanol presenta desventajas en cuanto a las dificultades de recolección y requerimientos técnicos para su disposición, para lo cual es necesario la adopción de métodos y costos efectivos de pretratamiento, desintoxica-

ción, sacarificación y fermentación para sus tecnologías de producción (Aswathy, Sukumaran *et al.*).

Este trabajo cuenta con una visión global sobre la producción de bioetanol a partir de diversas materias primas en comparación con el jacinto de agua, teniendo en cuenta su disposición, composición y diferentes técnicas de conversión y éste muestra resultados preliminares relacionados con el aprovechamiento de esta materia prima para la producción de etanol.

Materiales lignocelulósicos

Una de las principales ventajas que ofrece el uso de los materiales lignocelulósicos a la hora de producir biocombustibles como el etanol es su condición de ser renovable, podría por esto brindar un suministro de combustible sostenible en el largo plazo; igualmente se potenciaría la generación de empleo rural; entre otros aspectos (Mabee, McFarlane *et al.*). Esta situación ha llevado a que se realicen múltiples trabajos con diferentes materiales lignocelulósicos como tallos de alfalfa, mostaza de Etiopía, el álamo, el lino y el cáñamo, en donde se estudian las diferencias en el impacto ambiental (González-García, Moreira *et al.*); rastrojo de maíz y pasto varilla, con los cuales se ha trabajado en las tecnologías de conversión a etanol (Spatari; Bagley *et al.*); se han documentado estudios tecnoeconómicos del uso de paja, eucalipto, álamo

y pasto varilla (Gnansounou y Dauriat); métodos de conversión para caña de azúcar (Shields y Boopathy); incluso influencia de tratamientos fisicoquímicos en tapioca y jacinto de agua (Abraham y Kurup 1996); entre muchos otros.

Una visión general de las materias primas para producir bioetanol

Los biocombustibles reciben una clasificación de acuerdo a la naturaleza de su materia prima y las tecnologías de conversión utilizadas; de acuerdo a esto existen biocombustibles de primera, segunda y tercera generación. Los biocombustibles de primera generación en general se fabrican a partir de insumos de procedencia agrícola y están conformados por las partes alimenticias de las plantas, de manera que el etanol de primera generación se puede producir, por ejemplo, a partir de jugo la caña de azúcar, granos de maíz, jugo de la remolacha o betabel, entre otros; materiales que presentan una disponibilidad inmediata de azúcares reductores para su fermentación; este tipo de biocombustibles compiten directamente con productos del sector alimentario, lo cual genera un impacto social negativo.

Por su parte, los biocombustibles de segunda generación abarcan generalmente residuos agrícolas y forestales compuestos principalmente por celulosa. Para la producción de etanol pueden usarse diversos materiales, tales como el

bagazo de la caña de azúcar, el rastrojo de maíz (tallo, hojas y olote), la paja de trigo, el aserrín, las hojas y ramas secas de árboles, entre otros. En este caso, los procesos tecnológicos tienen mayor complejidad, lo cual puede ser desventajoso, pero no existe competencia con el sector alimentario. Finalmente, los biocombustibles de tercera generación comprenden vegetales no alimenticios de crecimiento rápido y con una alta densidad energética entre los cuales se encuentran pastos perennes, árboles y plantas de crecimiento rápido; estos materiales generan balances positivos en la emisión de gases, debido a su ciclo vital, a pesar de presentar la desventaja de competir con el frente agrícola de otros productos (Álvarez, 2009).

Una vez se conoce la naturaleza general de los diferentes tipos de biomasa que puede ser usada para producir etanol, se hace necesario como criterio de discusión conocer la disponibilidad de los diferentes tipos de materiales lignocelulósicos, como eje de esta revisión.

Disponibilidad de materias primas

La disponibilidad de materias primas está enfocada principalmente a los materiales lignocelulósicos con que se cuenta en América Latina, en especial Colombia, la cual goza de gran potencial productivo en materia de biocombustibles como el etanol, puesto que posee una alta disponibilidad y variedad de biomasa lignocelulósicos, lo que obedece a su rica biodi-

versidad y variedad climática.

Una de las materias primas que principalmente cuentan con un amplio potencial para la producción de etanol lignocelulósico en el país es el bagazo de caña de azúcar, cuyo rendimiento hacia el año 2003 fue de 123 toneladas por hectárea con alrededor de 206.000 Ha cultivadas, de las cuales se generaron en términos de residuos lignocelulósicos 23.1 toneladas por hectárea distribuidos en hojas verdes (13.3 %), hojas secas (64.2 %), cogollo (7.5 %) y caña remanente (15 %), los cuales representan el 25 % del peso de la caña limpia (Cardona *et al.*, 2005).

Otra de las materias primas importantes son los residuos generados por la cosecha de maíz con una producción en 2003 de alrededor de 1.195.000 toneladas de 565.000 hectáreas sembradas. Este cultivo genera gran cantidad de biomasa, de la cual el 50 % no es cosechada y está representada en estructuras de la planta como son caña, hojas, panoja, entre otras (Cardona *et al.*, 2005).

La cascarilla de arroz también puede considerarse como una alternativa lignocelulósica importante a la hora de producir biocombustibles. A nivel mundial la FAO reporta una producción de 607.000.000 Tm de arroz *paddy* en el año 2004, de los cuales Colombia aportó 27.209.081 Tm. Si se considera que la cascarilla de arroz representa alrededor del 20 % del peso de un grano de arroz completo, se puede pensar en una producción de residuo de 134.000.000 Tm y 544.182 Tm, a nivel mundial y de Colombia (Sánchez *et al.*, 2010).

Otras industrias de las cuales se pueden obtener materias primas prometedoras son la industria de jugos cítricos y la panelera, de las cuales se pueden obtener residuos con amplia disponibilidad. En el primer caso se puede dar aprovechamiento al bagazo y las cáscaras con una producción nacional de 305.000 Tm y suponiendo que el 50 % se destine a la industria de biocombustibles se generarían cantidades de desechos de alrededor de 76.250 Tm (Sánchez *et al.*, 2010).

Según datos publicados por el Ministerio del Medio Ambiente, hasta 2002 el área con plantaciones forestales comerciales en el país era de 174.241 hectáreas. Las especies plantadas con mayor área sembrada se destacan en la Tabla 1.

Por otra parte, está la visión de dar aprovechamiento a otro tipo de materiales que no compiten con el frente agrícola tradicional y que pueden tener un importante valor energético. En este caso se postula al jacinto de agua, que se introdujo en varios países hace más de un siglo como una planta ornamental, convirtiéndose pronto en una especie invasora gracias a su adaptabilidad a una amplia variedad de ecosistemas de agua dulce y a la interferencia humana, de manera que se han invertido grandes esfuerzos y dinero para su manejo.

Téngase en cuenta además que en muchos países no se cuenta con información precisa a cerca de su disponibilidad por su condición de planta invasora y

Tabla 1. Principales especies usadas en reforestación comercial en Colombia.

Nombre científico	Nombre común	Origen	Área (Ha)
<i>Cupresus lusitánica</i>	Ciprés	Exótica	9982.2
<i>Especies varias</i>	Varias	Exótica	6802.37
<i>Eucalyptus globulus</i>	Eucalipto	Exótica	5024.2
<i>Eucalyptus grandis</i>	Eucalipto	Exótica	15265.9
<i>Eucalyptus sp</i>	Eucalipto	Exótica	2155.49
<i>Gmelina arborea</i>	Melina	Exótica	5083.8
<i>Pachira quinata</i>	Ceiba tolúa	Nativa	6394
<i>Pinus caribaea</i>	Pino	Exótica	10365.7
<i>Pinus patula</i>	Pino	Exótica	53197.64

Fuente: Sitep (Sistema de Información Técnica de Plantaciones Forestales), 1999.

uso ornamental; sin embargo, se deben exaltar amplias ventajas frente a otros materiales lignocelulósicos como son: rápido crecimiento, altas concentraciones de celulosa con bajas concentraciones de lignina, la no competencia con cultivos herbáceos por espacio, luz y nutrientes, resistencia a plagas, insectos y enfermedades, entre otros aspectos (Anjanabha, Bhattacharya y Pawan Kumar, 2010).

A pesar de no contar con estadísticas generales sobre el crecimiento del jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*), en Colombia existen múltiples estudios que documentan su presencia en gran parte de sus ecosistemas acuáticos, como en Cundinamarca (Hernández *et al.*, Bustamante, 2010), Córdoba (Quirós *et al.*, 2009), Canal del Dique (Aguilera, 2006), Antioquia (EPM, 2010), entre otros.

Composición química de diferentes materias primas

En el caso de las maderas, se puede decir que existen dos componentes químicos mayoritarios en ésta: la lignina (18-35 %) y los carbohidratos (65-75 %). Ambos son materiales poliméricos complejos. Cantidades menores de otros materiales, principalmente en forma de extractivos orgánicos y minerales inorgánicos (cenizas) también están presentes en la madera (4-10 %). Generalmente, la madera tiene una composición elemental de (50 % carbono, 6 % hidrógeno, 44 % oxígeno y trazas de varios iones metálicos). En la Tabla 2 se presenta la composición de algunas de las principales especies forestales de Colombia.

Tabla 2. Composición química de las especies forestales en Colombia (Prota, 2010).

Nombre común Especie (Acosta, 2004)	Celulosa (%)	H-celulosa (%)	Lignina (%)
Ciprés <i>Cupresus lusitánica</i>	39-40	23	31-33
Eucalipto <i>Eucalyptuscamaldulensis</i>	41-50	14-19	18-34
Eucalipto <i>Eucalyptusglobulus</i>	45	23	27
Eucalipto <i>Eucalyptusgrandis</i>	41,2	28,3	23,2
Melina <i>Gmelinaarborea</i>	47	20	29
Pino <i>Pinuscaribaea</i>	48,06	18,95	29,51
Pino <i>Pinuspatula</i>	48,75	32,75	18,5

Tabla 3. Composición de diferentes materias primas (lignocelulósicos) para la industria.

Componentes	Materias primas (fracción en porcentajes)				
	Tallos de alfalfa	Mostaza de Etiopía	Álamo	Virutas de lino	Cáñamo
Lignina	15,8	18,7	21,3	26,6	18,0
Cellulosa	27,5	32,7	43,2	47,7	37,4
Hemicelulosa	23,0	21,9	26,6	17,0	27,6
Cenizas	8,1	5,2	1,5	1,0	5,2

Fuente: (González-García, Moreira et al.)

Tabla 4. Composición del jacinto de agua según diferentes autores.

Autores	Componentes en porcentaje base seca (%)			
	Lignina	Celulosa	Hemicelulosa	Cenizas
Anjanabha Bhattacharya y PawanKumar, 2010	10	25	35	20
Abdelhamid y Gabr (1991)	9,27	19,5	33,4	25,7
Bolenz et al. (1990)	7	31	22	15
Patel et al. (1993)	7,8	17,8	43,4	20,2
Sornvoraweat y Kongkiattikajorn (2010)	4,37	19,02	32,69	-
J. N. (2002)	3.50	18.20	48.7	-
Girisuta et al. (2008)	27.7		46.7	-
Poddar et al. (1991)	9.93	25.61	18.42	-
Chanakya et al. (1996)	26.36	33.97	18	-
Mukherjee et al. (2004)	15.2	36.5	22.0	-
Ahn et al. (2011)	12.22	34.19	17.66	-
Ma et al. (2010)	2.8	18.2	29.3	1.2

Los altos contenidos de celulosa y hemicelulosa pueden tomarse como un criterio para suponer que se puede disponer de mayor cantidad de azúcares fermentables a partir de un material lignocelulósico, sin embargo, la cantidad de lignina presente dificulta el acceso a estos polisacáridos.

Por otra parte, existen muchos otros materiales lignocelulósicos con potencial energético de los cuales se ha reportado su composición (González-García, Moreira *et al.*). A continuación, se presentan algunos ellos, a manera de dar a conocer una gama más amplia de opciones.

En la Tabla 3 se evidencia que materiales como el álamo, las virtutas de lino y el cáñamo son ricos en celulosa, sin embargo, sus altos contenidos de lignina representan un reto a la hora de liberar los azúcares contenidos en los polisacáridos.

Composición del jacinto de agua

En este aparte se presenta una tabla comparativa de la composición del jacinto de agua reportada por diferentes autores.

Si se parte de la Tabla 4, se puede ratificar que la mayoría de las veces se obtuvo un contenido mayor de hemicelulosa que de celulosa (salvo por el reporte de Bolenz *et al.*, 1990), presentándose a su vez bajos contenidos de lignina y cantidades significativas de celulosa, lo que ratifica que este tipo de biomasa, en cuanto a su composición, puede resultar prometedora para la producción de bioetanol.

El jacinto de agua como materia prima energética

Existen algunos criterios ideales a tener en cuenta a la hora de estudiar el potencial para la producción de biocombustibles de un cultivo o biomasa lignocelulósica en particular. Entre estos atributos biológicos algunos autores plantean, por ejemplo, que la vegetación sea de crecimiento natural, preferiblemente perenne, altos contenidos de celulosa y bajos contenidos de lignina de acuerdo a la materia seca, que sean de fácil degradabilidad, no competencia con cultivos herbáceos por espacio, luz y nutrientes, resistencia a plagas y enfermedades y, finalmente, que no sean propensos a la contaminación genética por hibridación con cultivos alimenticios (Anjanabha Bhattacharya y PawanKumar, 2010).

De acuerdo con la Tabla 4, se puede decir que la *Eichhornia crassipes* cuenta con una composición adecuada para la producción de biocombustibles como el etanol, por su potencial para producir azúcares reductores y contenidos bajos de lignina. Los bajos contenidos de lignina indican que se pueden usar métodos menos severos fisicoquímicamente para su separación. Por otra parte, esta planta acuática crece rápidamente y lo hace prácticamente en cualquier hábitat, con poco o ningún tipo de mantenimiento especial (Anjanabha Bhattacharya y Pawan Kumar, 2010). Otro punto a exaltar es el hecho de que el jacinto de agua no com-

pite por recursos terrestres con cultivos alimenticios y se ha demostrado que la capacidad de producir etanol a partir de éste es comparable con otros residuos agrícolas (Mishima, Tateda *et al.*, 2006).

Estudios previos han abordado la posibilidad de utilizar jacinto de agua como biomasa para biocombustibles (Rahman; Chowdhury *et al.*, 1986; Abraham y Kurup, 1996; J. N., 2002). Estos estudios indican que es una planta prometedora para la producción de etanol.

Bioetanol de materiales lignocelulósicos

La producción de biocombustibles como el etanol está encaminada a la optimización de procesos, en donde se opta por el uso de tecnologías costo efectivas y la materia prima juega un papel fundamental, razón por la cual se opta por el uso de sustratos baratos, lo cual ha motivado a probar diversos materiales lignocelulósicos (Ganguly, Chatterjee *et al.*).

A pesar de que la producción de etanol a partir de azúcares y almidón está muy desarrollada, tiene ciertas limitantes en términos de rendimiento, sin olvidar otras desventajas que se mencionaron en apartes anteriores, cuando se hacía referencia a biocombustibles de primera generación. Estas limitantes son básicamente los bajos rendimientos de etanol por hectárea de materia prima en comparación con otras formas más frecuentes de los azúcares en la naturaleza como los de origen lignocelulósico (Hamelinck,

Hooijdonk *et al.*, 2005). Sin embargo, los procesos para obtener etanol a partir de este tipo de fuentes (biomasa lignocelulósica) requieren etapas de transformación un poco más complejas para la hidrólisis –principalmente– de celulosa en azúcares y la fermentación de estos azúcares en etanol, teniéndose como punto crítico para el aumento de la eficiencia, y, por ende, para el mayor aprovechamiento del material, una etapa de pretratamiento que rompa las estructuras celulares, logre la remoción de la lignina (Jeewon, 1997) y facilite el acceso a los azúcares (Hamelinck, Hooijdonk *et al.*, 2005).

A continuación, se dará mayor profundidad a cada una de las etapas generales de producción de etanol lignocelulósico, de acuerdo a su naturaleza y la composición de los materiales empleados.

Pretratamientos de materia prima lignocelulósica

Cada tipo de materia prima requiere un método de pretratamiento en particular para minimizar la degradación del sustrato y maximizar el rendimiento en azúcares. Por lo tanto, establecer tecnologías costo-efectivas de pretratamiento de biomasa celulósica es un desafío para la producción de etanol (Graf y Koehler, 2000).

Para acondicionar la biomasa es posible que como fase inicial deban ser empleados pretratamientos mecánicos para la reducción de tamaños de partículas y

aumento de la superficie de contacto, encaminados a mejorar la interacción con catalizadores. Sin embargo, estas tecnologías van encaminadas a la búsqueda de mecanismos de bajo consumo energético (Hamelinck, Hooijdonk *et al.*, 2005).

En general, los métodos de pretratamiento se pueden clasificar en tres categorías, que incluyen los físicos, químicos, biológicos y combinaciones de éstas (Zheng *et al.*, 2009).

Para la comparación de estos pretratamientos en general existen diversos criterios que permiten evaluar su efectividad, como, por ejemplo, la preservación de las fracciones de hemicelulosa, la formación limitada de inhibidores debido a la degradación de productos, reducción al mínimo del consumo de energía y la rentabilidad; igualmente existen otros factores a considerar como son la recuperación de coproductos de alto valor (por ejemplo, la lignina y las proteínas), reciclado de los catalizadores y tratamiento de residuos (Zheng *et al.*, 2009).

Pretratamientos físicos

Para la aplicación de pretratamientos físicos no se hace uso de agentes químicos y se pueden mencionar algunos como la explosión de vapor no catalizada, pretratamiento con agua líquida caliente (liquid hot water pretreatment (LHW)), trituración mecánica y radiación de alta energía, siendo el primero el más utilizado (Zheng *et al.*, 2009).

La explosión con vapor no catalizada también es conocida como autohidrólisis y consiste en llevar la biomasa lignocelulósica a temperaturas elevadas (generalmente por encima de 150 °C) con agua presurizada, esto induce la formación de ácidos por la solubilización de compuestos de naturaleza ácida y la desesterificación en la hemicelulosa. La liberación de estos compuestos ácidos redundaría en la catálisis de la reacción (Yoon, 1998).

En el pretratamiento con agua líquida caliente (LHW), la presión se utiliza para mantener el agua en estado líquido a temperaturas elevadas (Rogalinski; Ingram *et al.*, 2008). Se ha reportado que este método tiene potencial para mejorar la digestibilidad de la celulosa, la extracción de azúcar y recuperación de pentosas, con la ventaja de producir toxicidad baja o nula (van Walsum; Allen *et al.*, 1996).

La trituración mecánica es capaz de alterar la cristalinidad de la celulosa, reducir el grado de polimerización y aumentar la superficie específica de la biomasa. Sin embargo, por los altos consumos energéticos que requiere y su ineficiencia para remover la lignina frente a otro tipo de pretratamientos hace que pocas veces se utilice como método exclusivo (Yoon, 1998).

Pretratamientos químicos

En este aparte se hará referencia a pretratamientos que hacen uso de agentes químicos para delignificar y liberar polisacáridos y azúcares de materiales ligno-

celulósicos. Se incluirán aquellos denominados pretratamientos fisicoquímicos, que combinan métodos físicos y químicos. Estos particularmente suelen ser los más eficientes y competitivos en términos económicos frente a los métodos biológicos y físicos (Brodeur; Yau *et al.*).

Como uno de los principales pretratamientos químicos que se encuentran son de tipo alcalino, los cuales implican el uso de bases, tales como sodio, potasio, calcio e hidróxido amonio. El mecanismo de acción de estos agentes químicos consiste en la degradación de cadenas de ésteres y glucosídicas, lo que desencadena la alteración estructural de la lignina, de la estructura cristalina de la celulosa y solvatación de la hemicelulosa (Brodeur; Yau *et al.*). Recientemente, se ha demostrado la eficacia del hidróxido de sodio para las maderas duras, paja de trigo, mijo y maderas blandas con contenidos de lignina inferiores al 26 % (Zhao, Wang *et al.*, 2008).

Por otro lado, están los pretratamientos con ácidos concentrados o diluidos, dentro de los cuales los más usados son el ácido sulfúrico, clorhídrico, fosfórico y nítrico. Este pretratamiento ha sido usado en pastos, rastrojo de maíz, maderas blandas entre otros, y se caracteriza por remover principalmente hemicelulosa (Brodeur, Yau *et al.*).

Los líquidos iónicos también han cobrado gran importancia para el tratamiento de biomasa lignocelulósica, en tanto solubilizan una amplia variedad de materiales. Típicamente son sales conformadas por un pequeño anión unido a una larga cadena orgánica catiónica y han

sido estudiados en una amplia gama de materiales como el rastrojo de maíz, algodón, bagazo de caña, *switch grass*, paja de trigo, entre otros (Brodeur; Yau *et al.*).

Pretratamientos biológicos

El tratamiento biológico se refiere al uso de organismos completos o enzimas en el pretratamiento de biomasa lignocelulósica. Para esto son usados tanto los hongos, como las bacterias. Actualmente se trabaja principalmente en residuos agrícolas para el mejoramiento de su digestibilidad. Existen reportes de trabajos con microorganismos como *Aspergillus terreus*, *Trichoderma Spp.*, *Cyathusstercoreus*, *Penicillium camemberti*, *Streptomyces griseus* y enzimas como peroxidasa, manganesa, lacasa, entre otros. Estos métodos requieren largos tiempos de residencia (Mtui, 2009).

Técnicas de hidrólisis y fermentación

Se han realizado considerables esfuerzos en cuanto a investigación para mejorar la hidrólisis de los materiales lignocelulósicos. Muchos métodos de pretratamiento se han implementado en miras de remover la lignina y la hemicelulosa para mejorar significativamente la hidrólisis de la celulosa. Se ha trabajado en la optimización de las enzimas celular a su carga aplicada, de la misma manera se ha trabajado en métodos de sacarificación y

fermentación simultáneas para regular eficazmente el consumo de glucosa en las reacciones de fermentación debido a su efecto inhibitorio de la actividad enzimática, aumentando así el rendimiento y la tasa de hidrólisis de la celulosa (Sun y Cheng, 2002).

Sacarificación enzimática

La celulosa, que es el polisacárido de principal interés en los procesos mencionados, por estar compuesto de azúcares fermentables a etanol, cuando es obtenido de madera tiene alrededor de diez mil unidades *glucosil* en la cadena que forman fibrillas de moléculas largas, que son estabilizados por numerosos y fuertes enlaces intermoleculares de hidrógeno entre los grupos hidróxilo de las moléculas adyacentes. Los materiales celulósicos presentan zonas que se disponen ordenadamente (cristalinas) separados por regiones menos ordenadas (amorfas) que son puntos susceptibles a ataques químicos y bioquímicos. Este polímero es degradado por las enzimas celulasas que se son capaces de hidrolizarlo a su forma monomérica, la glucosa, que se fermenta naturalmente a etanol por acción microbiana como la de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Bon y Ferrara, 2007).

Celulasas

La hidrólisis de la celulosa es catalizada por una clase de enzimas conocidas como

celulasas. La mayoría de éstas que se han investigado con fines comerciales son producidas por hongos, debido a que la mayoría de bacterias relevantes que las producen suelen ser de naturaleza anaerobia, de crecimiento lento (Talebnia; Karakashev *et al.*).

Las celulasas son un grupo de tres clases de enzimas que actúan de forma sinérgica para hidrolizar celulosa, como son las endo-beta-1,4-glucanasas que atacan la parte endógena de la cadena de celulosa, las celobiohidrolasas que atacan los extremos del polímero liberando celobiosa, que es en última instancia separada en dos moléculas de glucosa por beta-glucosidasas (Lynd; Weimer *et al.*, 2002). Además existen enzimas que ayudan en este proceso de despolimerización, como son las hemicelulasas y ligninas es que también pueden desempeñar un papel en la hidrólisis. A pesar de la funcionalidad de estos métodos, se puede considerar como punto crítico los altos costos de producción de enzimas y sus dosis excesivas necesarias para hidrolizar la biomasa pretratada (Margeot; Hahn-Hagerdal *et al.*, 2009).

Hidrólisis y fermentación separadas (SHF)

En este aparte se hace referencia al proceso general de fermentación para la producción de etanol, que no se hace en simultáneo con la fase de hidrólisis. En esta etapa pueden ser usados para la conversión de azúcares manoméricos a

etanol diversos microorganismos, entre hongos y bacterias, usándose industrialmente con frecuencia la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Axelsson, 2011).

Existen diversos factores que condicionan la eficiencia de la fermentación, dentro de los cuales se encuentran algunos como la elección de los microorganismos, tipo de materia prima, el método de pretratamiento, el método de hidrólisis; condiciones ambientales tales como el pH, la temperatura, concentración de sustrato y la concentración etanol. Los criterios comunes para la fermentación con *S.cerevisiae* son normalmente un pH de 5,0 y una temperatura de máximo 37 °C. Es importante aclarar que una de las principales desventajas de este método es la aparición de procesos inhibitorios de la acción microbiana por sustrato (Axelsson, 2011).

Una de las principales ventajas de realizar la hidrólisis de los azúcares poliméricos por separado de la fermentación es el hecho de que en cada unidad de proceso se puede trabajar en sus condiciones óptimas, teniendo en cuenta que las celulasas operan mejor a temperaturas más elevadas que los microorganismos que se usan habitualmente (Olsson; Soerensen *et al.*, 2006).

Sacarificación y fermentación simultáneas (SSF)

Este método ofrece ventajas frente a la hidrólisis y fermentación separadas (SHF) en cuanto a los problemas de inhibición por sustrato, debido a que una vez se pro-

ducen los azúcares producidos en la reacción enzimática, inmediatamente quedan dispuestos a la acción fermentativa de los microorganismos, al tiempo, es posible que exista un menor impacto de los inhibidores que se generan en los pretratamientos de las materias primas (Öhgren, Bura *et al.* 2007). Sin embargo, debido a que se combinan en una misma unidad de procesamiento, las enzimas y los microorganismos fermentadores suelen trabajarse en condiciones que no son precisamente las más adecuadas para uno u otro actor. De acuerdo a esto, se han reportado que prueban la baja tolerancia de la *Saccharomyces cerevisiae*, situación que obliga a trabajar en condiciones ambientales ineficientes en cuanto a productividad de azúcares y que también pueden afectar la viabilidad de las cepas por el aumento de la concentración de etanol en el medio (Zhao y Xia, 2009).

A pesar de que existen diferencias ventajosas y desventajosas entre los métodos de SHF y SSF, se han reportado trabajos con mejores resultados en términos de eficiencia y tolerancia a la toxicidad para este último (Zheng, Fang *et al.*, Öhgren, Bura *et al.*, 2007; Zhao y Xia, 2009).

Bioconversión de hemicelulosa

La hemicelulosa, que hace parte de la composición de biomasa lignocelulósica, actualmente representa la fracción más grande que se pierde del etanol celulósico, lo cual se debe principalmente a la naturaleza heterogénea de este polímero

y a la baja acción sobre ella que tienen los microorganismos utilizados a nivel industrial (Gario; Fonseca *et al.*).

Métodos como la hidrólisis ácida liberan la fracción de hemicelulosa, y ésta puede ser recuperada para aumentar los rendimientos de producción de etanol mediante el uso de *Pichia Stipitis*, que es una levadura prometedora para aplicaciones industriales por su capacidad para fermentar la xilosa (principal azúcar pentosa proveniente de la hidrólisis de hemicelulosa) y por no producir xilitol (J. N., 2001). Igualmente se han reportado trabajos en donde se hace uso de *Pachy solentannophilus*, levadura capaz de producir etanol a partir de xilosa (Cheng, Cai *et al.*, 2008).

Es importante aclarar que debido a la alta producción de sustancias inhibidoras mediante la hidrólisis ácida, se hace necesaria la implementación de métodos de detoxificación de los hidrolizados con el fin de aumentar la eficiencia en la producción de etanol (Gario; Fonseca *et al.*; J. N., 2001).

De acuerdo con los altos contenidos de hemicelulosa en el jacinto de agua, reportados por diversos autores las tecnologías encaminadas al aprovechamiento de hemicelulosa resultan muy atractivas (Anjanabha Bhattacharya y Pawan Kumar, 2010; Abdelhamid y Gabr, 1991; Bolenz *et al.*, 1990; Sornvoraweat y Kongkiattikajorn, 2010).

Se han realizado trabajos en donde los productos de la hidrólisis ácida de *Eichhornia crassipes* son detoxificados con tratamientos térmicos e hidróxido

de calcio y fermentados con *Pichia Stipitis*, obteniéndose hasta 76 % de azúcares convertidos a etanol y buena tolerancia a agentes inhibidores (J. N., 2002); igualmente se han obtenido rendimientos de conversión de xilosa generada a través de hidrólisis con ácido diluido de esta misma micrófita de 72,83 %, usando este mismo microorganismo (Kumar, Singh *et al.*, 2009).

En otros trabajos se han aplicado métodos similares de hidrólisis ácida combinando enzimas celulasas y xilanasas para liberar la mayor cantidad de azúcares fermentables (xilosa y glucosa), sometiéndolos posteriormente a la acción fermentativa de diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae* y cocultivos con *Candidatropicalis*, obteniéndose finalmente sacarificación en un nivel de 76,8 % y rendimientos teóricos de etanol de 96,07 % (Sornvoraweat y Kongkiattikajorn, 2010), también se han usado para la conversión de xilosa en etanol, usando como biomasa jacinto de agua, *Candidashehatae* (Isarankura *et al.*, 2007).

Microorganismos empleados en la fermentación

En apartes anteriores se ha hecho mención a una amplia gama de microorganismos útiles para la conversión de azúcares a etanol. Sin embargo, en esta oportunidad se hará mención a otros que han sido utilizados, tal es el caso del uso de *Can-*

didatropicalis y *Candidalusetaniae* sobre algas para producir etanol (Lee y Lee); *Saccharomyces cerevisiae*, como levadura tradicional para producir etanol (Takeshige y Ouchi 1995); se han usado también *Pichiastipitis* (KCTC7228), *Pachysolentanopilus* (KCTC7229) y *Kloeckerasporaosmophila* (KCCM50548) sobre diferentes algas como sustrato (Lee y Lee); en otros trabajos se ha fermentado con *Kluyveromycesfragilis* (Dragone; Mussatto *et al.*), entre otros.

Materiales y métodos

Se escogieron dos pretratamientos para la biomasa del jacinto de agua con condiciones basadas en la literatura. Se evaluó tanto la producción de azúcares reductores después del proceso de hidrólisis enzimática como la productividad a etanol mediante el sistema SSF (sacarificación y fermentación simultáneas).

Evaluación de pretratamientos

Los pretratamientos evaluados en jacinto de agua para su posterior transformación en azúcares reductores y etanol fueron explosión con vapor y peróxido alcalino. El objetivo de esta selección preliminar es determinar el tipo de pretratamiento más adecuado para el material. Las condiciones empleadas en la evaluación experimental de cada pretratamiento corresponden a condiciones reportadas en

la literatura bajo las cuales se obtienen altos rendimientos de recuperación de celulosa, hemicelulosa y posteriormente en la conversión de éstos en azúcares fermentables. Las condiciones y modo de operación empleados en la evaluación de cada pretratamiento fueron: peróxido alcalino (temperatura: 35 °C; pH: 11,5; tiempo: tres horas; relación peso/peso: 5 %; concentración de la solución (v/v): 2 %) y explosión con vapor (temperatura: 180 °C; tiempo: cinco minutos; presión: 1 MPa; catalizador H₂SO₄ al 2 % (v/v) con 30 % de humidificación).

Producción de azúcares reductores y etanol

Se realizaron pruebas de fermentabilidad mediante el método de sacarificación y fermentación simultáneas (SSF) en las fracciones sólidas generadas. Se caracterizó el material antes y después de cada pretratamiento, determinando los porcentajes de humedad, cenizas, lignina, celulosa, hemicelulosa y extractivos según lo recomendado por el Renewable Energy Laboratory (NREL).

En la producción de etanol a partir del sistema de hidrólisis y fermentación simultánea (SSF), la enzima usada en este estudio fue la Accellerase 1500® de Genencor y la levadura comercial *Saccharomyces cerevisiae* Ethanol Red®. En este proceso se esterilizó el material lignocelulósico a 0.5 atm por 15 min, para la hidrólisis se montaron los sistemas en un *shaker* a una temperatura de 50 °C (reco-

mendada por Genecor), 150 rpm y *buffer* citrato 0.05M, pH: 4.8 para amortiguar cambios en acidez o alcalinidad del sistema. Simultáneamente, transcurridas 12 horas se inocula la levadura bajando la temperatura a 37 °C y aumentando la agitación a 180 rpm. En esta fase, al erlenmeyer se le acopló un respirómetro, en el cual se asegura que el CO₂ liberado de la reacción se disuelva en la trampa de agua y pesando cada 2 horas el sistema, se calculó la conversión teórica del material en etanol; este SSF fue monitoreado por 72 horas aproximadamente.

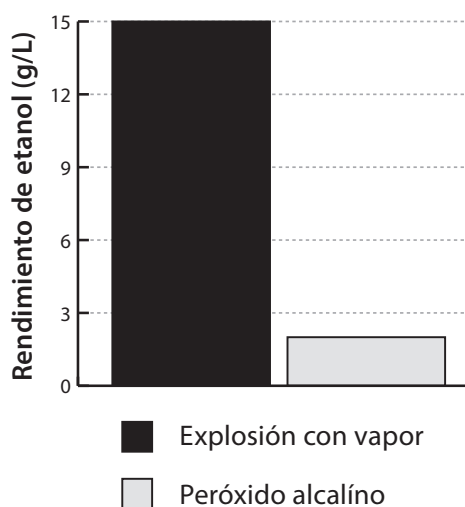
Resultados y discusión

Se obtuvieron los siguientes resultados de porcentajes de humedad, cenizas, lignina, celulosa, hemicelulosa y extractivos, en su orden fueron: para peróxido alcalino 10,7 %, 7,3 %, 15,7 %, 26,7 %, 36,8 % y 2,8 %; para explosión con vapor 7,8 %, 10,9 %, 11,7 %, 24,7 %, 38,6 % y 6,4 %, considerando que el material antes de ser pretratado presentó 9,6 %, 12,2 %, 14,5 %, 23,0 %, 32,7 % y 7,9 % de los componentes antes mencionados (ver Tabla 5). La fermentabilidad en gramos por litro de etanol encontrada para el material pretratado en cada caso fue: 1,57 para el pretratamiento con peróxido alcalino y 15,21 para la explosión con vapor. Los resultados en términos de caracterización encajan con algunos reportados por otros autores y de acuerdo al parámetro de fermentabilidad se evidencia que explosión con vapor arroja los mejores resultados (ver Gráfica 1).

Tabla 5. Caracterización de la biomasa del jacinto de agua.

Biomasa del jacinto de agua			
Composición en porcentajes (%)	Sin pretratar	Pretratamientos	
		Peróxido alcalino	Explosión con vapor
Humedad	9,6	10,7	7,8
Cenizas	12,2	7,3	10,9
Lignina	14,5	15,7	11,7
Celulosa	23,0	26,7	24,7
Hemicelulosa	32,7	36,8	38,6
Extractivos	7,9	2,8	6,4

Gráfica 1. Fermentabilidad en gramos por litro de etanol de biomasa de jacinto de agua.



El porcentaje de cenizas hallado, que es del 12,2 %, se encuentra por debajo del 20 % reportado por Bhattacharya y Kumar (2010); incluso el de Bolenz *et al.*, 1990, que corresponde al 15 %. En el caso de la celulosa, hemicelulosa y lignina, se obtuvieron resultados del 23 %, 32,7 % y 14,5 % respectivamente, se puede decir que estos son bastante cercanos a los reportados en la literatura (Sornvoraweat y Kongkiattikajorn, 2010; Patel *et al.*, 1993; Bolenz *et al.*, 1990; Abdelhamid y Gabr, 1991; Bhattacharya y Kumar, 2010).

Conclusiones

A partir de la revisión realizada, se pudo evidenciar que el jacinto de agua, por su no competencia por recursos ambientales como tierra, luz, nutrientes y su escasa necesidad de requerimientos de mantenimiento de cultivo, asociada a su condición de planta invasiva, puede resultar muy atractivo para la producción de etanol, en comparación con otras materias primas. Sin embargo, se evidencia la falta de información concreta acerca de la disponibilidad de este material para garantizar estabilidad en la producción de combustibles a partir de ésta.

Entre otras cosas, es posible considerar a la *Eichhornia crassipes* como un excelente candidato para la producción de combustibles, como una solución de múltiples vías, puesto que mitigaría el impacto ambiental y efecto económico colateral de su crecimiento desmesurado

(indeseable) en cuerpos de agua, al tiempo que puede ser usado en la descontaminación de medios acuáticos y podría entrar en la gama de opciones industriales para producir bioetanol.

Es importante afirmar que la industria del bioetanol para ser económicamente viable requiere gozar de un abanico amplio de opciones en términos de materias primas, en donde se debe apuntar a la estandarización de métodos, que permita el aprovechamiento integral de éstas.

Los resultados preliminares sobre la composición de biomasa del jacinto de agua y su comportamiento ante la biotransformación a etanol demuestran que es susceptible de ser utilizado para este fin y que el pretratamiento de explosión con vapor es capaz de liberar azúcares que son utilizados por la *Saccharomyces cerevisiae*. El pretratamiento con peróxido alcalino bajo las condiciones estudiadas no exhibe buenos resultados debido a que pueden resultar de baja severidad. Las concentraciones en caldo de 15,21 g/L de etanol a partir de biomasa de jacinto de agua son promisorias en comparación con otros trabajos (Ganguly, A. *et al.*, 2013; Aswathy, U. S. *et al.*, 2010).

Por esta razón, básicamente, los estudios comparativos de materiales lignocelulósicos deben generar aportes para conocer su comportamiento y diseñar alternativas que aumenten la efectividad en los procesos, mas no deben estar direccionados a desechar por completo las opciones existentes.

Referencias bibliográficas

- Abraham, M. y G. M. Kurup** (1996). Bioconversion of tapioca (*Manihotesculenta*) waste and water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). Influence of various physico-chemical factors. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 82 (3),: 259-263.
- Aswathy, U. S., Sukumaran, R. K. et al.** Bio-ethanol from water hyacinth biomass: An evaluation of enzymatic saccharification strategy. *Bioresource Technology*, 101 (3), 925-930.
- Aswathy, U. S., Sukumaran, R. K., Devi, G. L., Rajasree, K. P., Singhania, R. R., y Pandey, A.** (2010). Bio-ethanol from water hyacinth biomass: an evaluation of enzymatic saccharification strategy. *Bioresource technology*, 101 (3), 925-930.
- Brodeur, G., E. Yau, et al.** (2011). "Chemical and Physicochemical Pretreatment of Lignocellulosic Biomass: A Review." *Enzyme Research*. 2011.
- Cheng, K. -K., B. -Y. Cai, et al.** (2008). "Sugar-cane bagasse hemicellulose hydrolysate for ethanol production by acid recovery process." *Biochemical Engineering Journal*, 38 (1),: 105-109.
- Dragone, G., S. I., Mussatto, et al.** "Optimal fermentation conditions for maximizing the ethanol production by *Kluyveromycesfragilis* from cheese whey powder". *Biomass and Bioenergy*, 35 (5),: 1977-1982.
- Ganguly, A., Halder, S., Laha, A., Saha, N., Chatterjee, P. K. y Dey, A.** (2013). Effect of Alkali Pretreatment on Water Hyacinth Biomass for Production of Ethanol. *Advanced Chemical Engineering Research*, 2 (2).
- Ganguly, A., P. K., Chatterjee, et al.** "Studies on ethanol production from water hyacinthae." A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (0)".
- Gario, F. M., Fonseca, C. et al.** Hemicelluloses for fuel ethanol: A review. *Bioresource Technology*, 101 (13), 4775-4800.
- Gnansounou, E. y A. Dauriat.** "Techno-economic analysis of lignocellulosic ethanol: A review. " *Bioresource Technology*, 101(13): 4980-4991.
- Golias, H., Dumsday, G. J., et al.** (2002). "Evaluation of a recombinant *Klebsiella-oxytoca* strain for ethanol production from cellulose by simultaneous saccharification and fermentation: comparison with native cellobiose-utilising yeast strains and performance in co-culture with thermotolerant yeast and *Zymomonasmobilis*." *Journal of Biotechnology*, 96(2): 155-168.
- González-García, S., M. T. Moreira, M. T., et al.** "Comparative environmental performance of lignocellulosic ethanol from different feedstocks. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14 (7): 2077-2085.
- Hamelinck, C. N., G. v. Hooijdonk, G. V. et al.** (2005). "Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle-and long-term". *Biomass and Bioenergy*, 28 (4): 384-410.
- J. N., N.** (2001). "Ethanol production from wheat straw hemicellulose hydrolysate by *Pichiastipitis*." *Journal of Biotechnology*, 87 (1),: 17-27.
- J. N., N.** (2002). "Bioconversion of water-hyacinth (*Eichhornia crassipes*) hemicellulose acid hydrolysate to motor fuel ethanol by xylose a "fermenting yeast." *Journal of Biotechnology*, 97 (2),: 107-116.
- Jeewon, L.** (1997). "Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol." *Journal of Biotechnology*, 56 (1),: 1-24.
- Kumar, A., L. K. Singh, L. K., et al.** (2009). "Bioconversion of lignocellulosic fraction of water-hyacinth (*Eichhornia crassipes*) hemicellulose acid hydrolysate to ethanol by *Pichiastipitis*. *Bioresource Technology*, 100(13),: 3293-3297.
- Laser, M., D. Schulman, D., et al.** (2002). "A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse

- for bioconversion to ethanol." *Bioresource Technology*, 81(1);: 33-44.
- Lee, S. --M. y J.-H. Lee, J. H.** "Ethanol fermentation for main sugar components of brown-algae using various yeasts." *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* (0).
- Lee, S. -M. a y nd J.-H. Lee, J. H.** "The isolation and characterization of simultaneous saccharification and fermentation microorganisms for *Laminaria japonica* utilization." *Bioresource Technology*, 102 (10);: 5962-5967.
- Lynd, L. R., Weimer, P. J. et al.** (2002). "Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology." *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66 (3), (3): 506-577.
- Mabee, W. E., P. N. McFarlane, P. J., et al.** "Biomass availability for lignocellulosic ethanol production." *Biomass and Bioenergy*, (0).
- Margeot, A., B. R. Hahn-Hagerdal, B. R. et al.** (2009). "New improvements for lignocellulosic ethanol." *Current Opinion in Biotechnology*, 20 (3);: 372-380.
- Mishima, D., M. Tateda, M., et al.** (2006). "Comparative study on chemical pretreatments to accelerate enzymatic hydrolysis of aquatic macrophyte biomass used in water purification processes." *Bioresource Technology*, 97 (16);: 2166-2172.
- Öhgren, K., R. Bura, et al.** (2007). A comparison between simultaneous saccharification and fermentation and separate hydrolysis and fermentation using steam-pretreated corn stover. *Process Biochemistry*, 42 (5), 834-839.
- Olsson, L., H. R. Soerensen, H. R. et al.** (2006). Separate and Simultaneous Enzymatic Hydrolysis and Fermentation of Wheat Hemicellulose With Recombinant Xylose Utilizing *Saccharomyces cerevisiae*. *Twenty-Seventh Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals, Humana Press*;: 117-129.
- Rahman, M. M., Chowdhury, A. A. et al.** (1986). "Microbial production of biogas from organic wastes." *Journal of Fermentation Technology*, 64(1);: 45-49.
- Rogalinski, T., T. Ingram, T., et al.** (2008). "Hydrolysis of lignocellulosic biomass in water under elevated temperatures and pressures." *The Journal of Supercritical Fluids*, 47(1);: 54-63.
- Shields, S. y R. Boopathy, R.** "Ethanol production from lignocellulosic biomass of energy cane." *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65(1);: 142-146.
- Singh, A., D. Pant, D. et al.** "Key issues in life cycle assessment of ethanol production from lignocellulosic biomass: Challenges and perspectives." *Bioresource Technology*, 101 (13);: 5003-5012.
- Spatari, S., Bagley, D. M., et al.** "Life cycle evaluation of emerging lignocellulosic ethanol conversion technologies." *Bioresource Technology*, 101(2);: 654-667.
- Srilekha Yadav, K., S. Naseeruddin S., et al.** "Bioethanol fermentation of concentrated rice straw hydrolysate using co-culture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis*." *Bioresource Technology*, 102 (11);: 6473-6478.
- Sukumaran, R. K., Surender, V. J., et al.** "Lignocellulosic ethanol in India: Prospects, challenges and feedstock availability." *Bioresource Technology*, 101(13);: 4826-4833.
- Sun, Y. y J. Cheng, J.** (2002). "Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review." *Bioresource Technology*, 83 (1);: 1-11.
- Swain, M. R., S. Kar, S. et al.** (2007). "Ethanol fermentation of mahula (*Madhuca latifolia* L.) flowers using free and immobilized yeast *Saccharomyces cerevisiae*." *Microbiological Research*, 162 (2);: 93-98.
- Takeshige, K. y K. Ouchi, K.** (1995). "Reconstruction of ethanol fermentation in per-

meabilized cells of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*." *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 79(1); 11-16.

Talebniya, F., D. Karakashev, D. et al.

"Production of bioethanol from wheat straw: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation." *Bioresource Technology*, 101 (13);: 4744-4753.

Unrean, P. y F. Srienc, F. "Continuous production of ethanol from hexoses and pentoses using immobilized mixed cultures of *Escherichia coli* strains." *Journal of Biotechnology*, 150 (2);: 215-223.

Van Walsum, G., S. Allen, S. et al. (1996).

"Conversion of lignocellulosics pretreated with liquid hot water to ethanol." *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 57-58(1);: 157-170.

Xu, L. y U. Tschirner, U. "Improved ethanol production from various carbohydrates through anaerobic thermophilic co-culture." *Bioresource Technology*, 102(21);: 10065-10071.

Yang, C., Z. Shen, Z. et al. (2008). "Effect and aftereffect of irradiation $\dot{\Gamma}^3$ radiation pretreatment on enzymatic hydrolysis of wheat straw." *Bioresource Technology*, 99 (14);: 6240-6245.

Yoon, H. (1998). "Pretreatment of lignocellulosic biomass by autohydrolysis and aqueous ammonia percolation." *Korean Journal of Chemical Engineering*, 15(6);: 631-636.

Zhao, J. y L. Xia, L. (2009). Simultaneous saccharification and fermentation of alkaline-pretreated corn stover to ethanol using a recombinant yeast strain. *Fuel Processing Technology*, 90 (10), 1193-1197.

Zhao, Y., Y. Wang, Y. et al. (2008). Enhanced enzymatic hydrolysis of spruce by alkaline pretreatment at low temperature. *Biotechnology and bioengineering*, 99 (6), 1320-1328.

Zheng, P., L. Fang, L. et al. "Succinic acid production from corn stover by simultaneous saccharification and fermentation using *Actinobacillus succinogenes*." *Bioresource Technology*, 101 (20);: 7889-7894.

Zhiguang Zhu. (2009). Investigating biomass saccharification for the production of cellulosic ethanol. Disponible en: www.scholar.lib.vt.edu/theses/available/etd-05042009-143825/unrestricted/zhiguangzhumsthe-sis-2.pdf