

Retos tecnológicos

en la producción de etanol carburante

Carlos E. Rolz Asturias

Introducción

El empleo comercial del etanol como carburante vuelve a ser un elemento central en la agenda de desarrollo de varios países, dado al reciente aumento del precio unitario del petróleo. En forma paralela y debido a lo anterior, han aumentado los artículos científicos publicados sobre el tema, en especial, aquellos relacionados con la producción de etanol de materias primas o residuos de naturaleza lignocelulósica, como árboles y arbustos de rápido crecimiento, ciertas gramíneas, bagazos y desechos industriales y municipales (1). El propósito de este artículo es el de comentar algunos de los retos asociados a la tecnología de producción, y de paso, también, ciertos desarrollos científicos en el área de la biología molecular. No se pretende discutir las justificaciones sociales, ambientales, energéticas y económicas que con frecuencia esgrimen, tanto los que favorecen, como los que se oponen, al uso del etanol como carburante. A los lectores interesados los refiero a trabajos recientes en tales temas (2-4).

Brasil y Estados Unidos de Norte América producen la mayoría del etanol que en el presente se emplea en motores de combustión de encendido por chispa, tanto en mezcla con las gasolinas como también solo, o hidratado, como se acostumbra llamar en la práctica comercial, el cual contiene una proporción de agua fijada por la mezcla azeotrópica. El primero lo obtiene de la sacarosa presente en la caña de azúcar y el segundo, del almidón del maíz,. Para las compañías de ingeniería que diseñan, construyen y ponen en marcha las plantas industriales, la tecnología empleada es confiable, reproducible y no necesita mayores innovaciones, aunque para algunos, incluyéndome, lo último es debatible (5).

La biomasa del planeta contiene carbohidratos, los cuales son transformados a etanol y en CO₂ por levaduras en ausencia de aire. El rendimiento teórico de etanol es de 0.51 g de etanol por g de glucosa asimilada por la levadura. Algunas plantas acumulan sacarosa en su tallo, compuesto comúnmente llamado azúcar. Entre éstas están la caña de azúcar y el sorgo dulce. Otras, la acumulan en tubérculos como la remolacha y, el tupinambo (pataca o

aguaturma), que en lugar de sacarosa acumula fructosa. La sacarosa y la fructosa acumuladas en las plantas anteriores son utilizadas directamente por la levadura para producir etanol. Por otro lado, los cereales y algunos otros tubérculos, almacenan almidón. Este polímero tiene que hidrolizarse a glucosa, generalmente empleando enzimas, la cual, también, es empleada directamente por la levadura para producir etanol. La rigidez de las plantas la causa la presencia de dos polímeros, la celulosa y la hemicelulosa, que conjuntamente con la lignina, un pegamento natural, conforman una estructura química compleja. Al romper por hidrólisis los polímeros, ya sea por catálisis química o por enzimas, o por ambos, se genera de la celulosa, la glucosa, y por ende la levadura puede transformarla a etanol; pero también se genera la xilosa de la hemicelulosa, compuesto de cinco carbonos que pocas levaduras pueden transformar en etanol, y si lo realizan, lo hacen muy lento y con un bajo rendimiento.

Del párrafo anterior puede concluirse entonces, que en términos de menor complejidad del proceso, la caña de azúcar, o en su caso, el sorgo dulce, la remolacha y el tupinambo, son la materia prima preferida para producir etanol, debido a que sólo es necesario extraer de ellos los azúcares fermentables por la levadura. En contraposición, con los cereales, por ejemplo el maíz, y con cualquier arbusto, o gramínea, o residuo lignocelulósico, es necesario efectuar el proceso de hidrólisis de los polímeros naturales antes de llevar a cabo la fermentación. El almidón se hidroliza fácilmente, no así la lignocelulosa. Para una gran mayoría de expertos, es la lignocelulosa la materia prima del futuro.

Primer reto tecnológico:

Evitar que el etanol se produzca en un medio diluido.

En un tanque fermentador, de una planta que produzca etanol de mieles de purga o jugo de caña, la concentración final del etanol en el mismo es de 7-11% (peso/volumen). Por lo tanto, por cada litro de etanol separado en las torres de destilación se obtienen de 8 a 13 litros de aguas residuales, comúnmente denominadas vinazas¹. Al considerar un valor promedio de 9% de etanol al final de la tanda, o sean 90 g de etanol por litro, y suponiendo una tasa media de producción de etanol de 3 g etanol por litro por hora y un rendimiento real de 0.43 g etanol por g de azúcar fermentable consumida (6), el tiempo requerido por el lote es de 30 horas, partiendo de 209 g de azúcar por litro, o sea un 20.9% de azúcar (peso/volumen), la cual se ha alimentado al fermentador periódicamente o a una tasa constante. Para poder reducir el tiempo del lote, la tecnología actual, principalmente la brasileña, ha aumentado la cantidad de levadura presente en el tanque, a

¹Éste es un problema ambiental serio debido a la alta carga orgánica de las vinazas y la presencia de algunos compuestos persistentes en el ambiente y tóxicos hacia flora y fauna acuática.

través del reciclo de la misma. Por ejemplo, el tiempo del lote podría reducirse a solamente 9 horas, al aumentar la tasa media de producción de etanol en el fermentador, de 3 a 10 g etanol por litro por hora, manteniendo en el tanque por el reciclo una alta concentración de levadura, en el orden de 29 g de levadura (en base seca) por litro, y suponiendo que la tasa de producción de etanol por la levadura (6), la cual es el parámetro principal, estuviera alrededor de 0.35 g etanol por g de levadura (en base seca) por hora. Estos valores son alcanzables con mieles de purga como ha sido demostrado (7-8). Sin embargo, el valor promedio de etanol al final de la tanda todavía estaría en 9%. De lo anteriormente dicho se deduce que la tecnología actual no ha superado las expectativas del reto.

Segundo reto tecnológico:

Lograr que la levadura sea más tolerante al etanol.

Aunque la levadura es el microorganismo que más produce y tolera el etanol en el medio en donde ha crecido, la viabilidad de su célula, la tasa de crecimiento de la misma, y la tasa de producción de etanol, disminuyen rápidamente de acuerdo se incrementa la concentración de etanol en el medio. Para la mayoría de cepas de levadura es común que los parámetros anteriores se hayan reducido a cero cuando el etanol acumulado está entre 80 y 140 gramos por litro. La adición de ciertos nutrientes, como los minerales, las proteínas y las vitaminas, y en otros casos, la micro-aireación del medio en el tanque, han logrado mejorar la tolerancia y ha sido posible producir relativamente altas concentraciones de etanol (9-10). Por ejemplo, en el proceso del sake, en el cual se fermenta arroz previamente tratado, es común lograr 160 g de etanol por litro en 20 días (9); en el proceso VHG, en el cual se fermenta trigo previamente tratado, 159 gL⁻¹ en 7 días (11). Sin embargo, en ambos casos, el tiempo empleado en la fermentación es demasiado largo para ser industrialmente atractivo en la producción de etanol carburante. Existe evidencia que no es un gen el responsable de impartirle a un microorganismo tolerancia al etanol; por el contrario, es una característica multigénica, la cual seguramente será difícil de poder identificar molecularmente y manipular a voluntad, aunque se está abriendo brecha (12,13).

Tercer reto tecnológico:

Minimizar la producción de subproductos por la levadura.

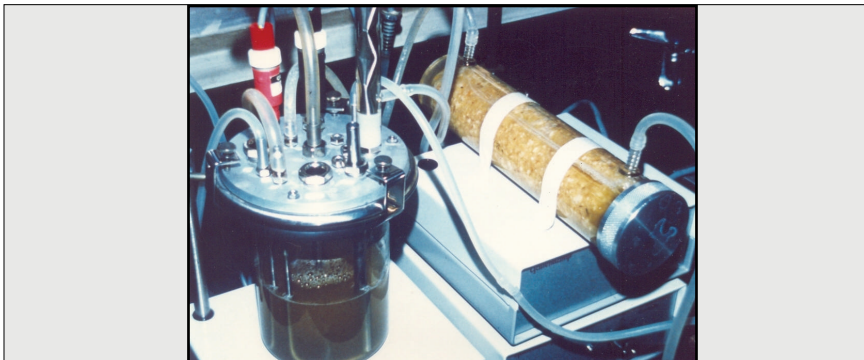
El glicerol es el principal subproducto elaborado por la levadura durante la producción de etanol. Se han empleado dos estrategias para buscar una menor producción de éste. La primera, es la de definir un programa de alimentación del azúcar al fermentador, basado en un modelo metabólico, que permita un control del cociente respiratorio (14). Y, la segunda, es la de

emplear cepas de levaduras genéticamente modificadas (15,16). En ambos casos se han logrado reducciones en la producción de glicerol, pero a costa de disminuir la tasa de producción de etanol y/o la viabilidad de la célula de levadura. De ésta manera el reto persiste.

Cuarto reto tecnológico:

mejorar la extracción de azúcar de la caña de azúcar o plantas similares.

La industria del etanol carburante a partir de la caña de azúcar emplea primordialmente las melazas como materia prima; también, están operando en Brasil destilerías independientes, es decir, aquellas que emplean caña directamente para producir el etanol. Estas fábricas no producen azúcar, pero la extraen de la caña de la misma manera que los ingenios tradicionales. La eficiencia de esta extracción, por molienda y reciclaje de jugos, está entre el 92 al 95% del azúcar originalmente en la caña. Es decir que desde un 5 a un 8% del azúcar queda en el bagazo, y ambos se envían a las calderas como combustible. El único proceso ensayado a escala de laboratorio que ha mejorado la cifra anterior es el denominado *ExFerm*, desarrollado en el Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial (ICAITI) en los años ochenta, tal como se describe en la Viñeta.



Viñeta El proceso ExFerm

Es un proceso patentado² descrito en la literatura científica (17,18). Brevemente consiste en lo siguiente: la caña de azúcar se muele hasta un tamaño de partícula alrededor de 1 cm. Se agrega un inóculo de levadura y agua hasta sumergir los pedazos de caña. Luego de 24 horas, se separan los sólidos del líquido. Los sólidos se prensan. La fase líquida puede emplearse como inóculo para un segundo ciclo de extracción-fermentación. En los experimentos realizados en frascos estáticos, la eficiencia de la extracción fue del 98-99% del azúcar original (19,20). En fermentadores de laboratorio de lechos empacados, tanto verticales como horizontales, con partículas de caña a través de los cuales se circulaba el líquido por 12 o 24 horas (21,22), la extracción fue del 97-98% y la concentración de etanol fue de aproximadamente 4.4% (peso/volumen). Fue posible operar tres ciclos de extracción-fermentación (23), sin embargo, la eficiencia de extracción disminuyó.

² U.S. Patent 4,560,659, 1985.

Quinto reto tecnológico:

lograr que el proceso de extracción y conversión de los azúcares proveniente de los materiales lignocelulósicos sea más eficiente.

La matriz sólida del material lignocelulósico contenida en la biomasa terrestre necesita de un tratamiento intensivo de naturaleza física, química, biológica o sus combinaciones, para ser accesible a las enzimas de origen microbiano que rompen los polímeros y generan los azúcares fermentables por las levaduras (1, 24, 25). No existe a la fecha un procedimiento definido para todas las posibles materias primas, y posiblemente no lo exista en el futuro. Más bien, el tratamiento escogido dependerá de la materia prima y de las circunstancias locales. Para las condiciones del país probablemente los tratamientos de interés serían los de explosión (reducción brusca de la presión). La presión puede lograrse con vapor de agua, con amoníaco, y por qué no, con el propio CO₂ generado en la fermentación.

Las enzimas que rompen los polímeros de carbohidratos se denominan celulasas. Las mismas han sido estudiadas con detalle (26,27) y recientemente su costo ha disminuido por la intervención de compañías privadas que han desarrollado cepas microbianas transgénicas altamente productivas.

Se ha observado experimentalmente que durante el pretratamiento de la matriz lignocelulósica, especialmente el pretratamiento con ácidos inorgánicos diluidos, se generan una serie de compuestos que son inhibitorios a la acción de las levaduras alcoholeras (28). Se ha observado que la tolerancia a estos compuestos difiere entre las cepas de levaduras, por lo que existe espacio para buscar, por diferentes estrategias, por ejemplo la evolución dirigida, una cepa resistente para un hidrolizado específico. Sin embargo, también conviene encontrar aquellas alternativas de tratamiento que generen la menor cantidad de compuestos inhibidores.

Las levaduras alcoholeras transforman con eficiencia la glucosa generada en la hidrólisis de la celulosa. No así con la xilosa, una pentosa, que se origina por la hidrólisis de la hemicelulosa. Aunque ha sido posible, como resultado de un gran esfuerzo de investigación, obtener por manipulación genética levaduras que produzcan etanol de este compuesto (28), el reto ahora, es el de trasladar las condiciones protegidas en los laboratorios, a una escala industrial. Los resultados están por verse. También se están haciendo esfuerzos por transformar a etanol, otros carbohidratos presentes en la biomasa, como la arabinosa, la ramnosa y el ácido galaturónico (28).

Sexto reto tecnológico:

desarrollar procesos con el objeto de aprovechar integralmente la biomasa.

La caña de azúcar, o en su caso, el sorgo dulce, pueden considerarse como productos agrícolas renovables para la producción de etanol carburante.

El proceso industrial de conversión no tiene que estar ligado a un ingenio de azúcar. Por lo tanto, es posible pensar en desarrollar zonas agrícolas fuera de la región cañera de la Costa Sur de Guatemala. Para esto, es necesario romper paradigmas y considerar una estrategia que permita la utilización integral de la biomasa en el cultivo. La hoja y el tallo de la caña deben emplearse en su totalidad, relegando a la lignina presente, el rol de combustible para destilar el alcohol. En esta visión no podría quemarse la hoja antes del corte y no debería quedar en el campo residuo alguno. Es posible diseñar estrategias de tratamientos optimizados específicamente para la caña de azúcar. El presente reto lo hemos tomado en la Universidad del Valle, y existe investigación en marcha al respecto.

Epílogo

Se han descrito seis retos tecnológicos aplicados a la producción de etanol carburante. A nivel mundial, la investigación básica y aplicada en marcha, busca afanosamente respuestas precisas a varios de los problemas acá mencionados. Algunos de los resultados promisorios fueron comentados y documentados. Se espera que este breve artículo de opinión haya cubierto el panorama, y que el lector, al consultar las referencias, quede informado.

Bibliografía

1. Hahn-Hagerdal, B. et al. *Bio-ethanol – the fuel of tomorrow from the residues of today* TRENDS in Biotechnology 24 (12): 549-555, 2006
2. Kim, S. & Dale, B.E. *Environmental aspects of ethanol derived from no-tilled corn grain: nonrenewable energy consumption and greenhouse gas emission* Biomass and Bioenergy 28: 475-489, 2005
3. Niven, R.K. *Ethanol in gasoline: environmental impacts and sustainability review article* Renewable and Sustainable Energy Reviews 9: 535-555, 2005
4. Hill, J., et al. *Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol biofuels* PNAS 103 (30): 11206–11210, 2006
5. Wheals, A.E. et al. *Fuel ethanol after 25 years* TRENDS in Biotechnology 17 (12): 482-487, 1999
6. Aldiguier, A.S. et al. *Synergistic temperature and ethanol effect on *Saccharomyces cerevisiae* dynamic behaviour in ethanol bio-fuel production* Bioprocess and Biosystems Engineering 26 (4): 217-222, 2004
7. Echegaray, O.F. et al. *Fed-batch culture of *Saccharomyces cerevisiae* in sugar-cane blackstrap molasses: invertase activity of intact cells in ethanol fermentation* Biomass and Bioenergy 19: 39-50, 2000
8. Converti, A. et al. *Simplified Modeling of Fed-Batch Alcoholic Fermentation of Sugarcane Blackstrap Molasses* Biotechnol. Bioeng. 84: 88–95, 2003
9. Alfenore, S., et al. *Improving ethanol production and viability of *Saccharomyces cerevisiae* by a vitamin feeding strategy during fed-batch process* Appl. Biochem. Biotechnol. 60: 67-72, 2002
10. Alfenore, S. et al. *Aeration strategy: a need for very high ethanol performance in *Saccharomyces cerevisiae* fed-batch process* Appl. Microbiol. Biotechnol. 63: 537-542, 2004
11. Jones, A.M. & Ingledew, W.M. *Fuel Alcohol Production: Optimization of Temperature for Efficient Very-High-Gravity Fermentation* Appl. Environ. Microbiol. 60 (3): 1048-1051, 1994
12. Alper, H., et al. *Engineering Yeast Transcription Machinery for Improved Ethanol Tolerance and Production* Science 314: 1565-1568, 2006
13. Stephanopoulos, G., *Challenges in engineering microbes for biofuels production* Science 315: 801-804, 2007
14. Bideaux, C. et al. *Minimization of Glycerol Production during the High-Performance Fed-Batch Ethanol Fermentation Process in *Saccharomyces cerevisiae*, Using a Metabolic Model as a Prediction Tool* Appl. & Environ. Microbiol. 72 (3): 2134-2140, 2006
15. Nissen, T.L. et al. *Optimization of Ethanol Production in *Saccharomyces cerevisiae* by Metabolic Engineering of the Ammonium Assimilation* Metabolic Engineering 2: 69-77, 2000

16. Kong, Q.-X. et al. *Overexpressing GLT1 in *gpd1Δ* mutant to improve the production of ethanol of *Saccharomyces cerevisiae** Appl. Microbiol. Biotechnol. 73: 1382-1386, 2007
17. Rolz, C., de Cabrera, S. & Garcia, R. *Ethanol from sugar cane: EX-FERM concept* Biotechnol. Bioeng. 12: 2347-2349, 1979
18. Rolz, C. *A new technology to ferment sugar cane directly: the EX-FERM process* Process Biochemistry 15 (6): 2-6, 1980
19. Rolz, C. & de Cabrera, S. *Ethanol from sugar cane: flask experiments using the EX-FERM technique* Appl. Environ. Microbiol. 40 (3): 466-471, 1980
20. Rolz, C. *Ethanol from sugar crops* Enzyme Microb. Technol. 3: 19-23, 1981
21. de Cabrera, S. et al. *EX-FERM ethanol production using peeled ground sugarcane in packed bed fermentors* J. Ferment. Technol. 60 (1): 77-86, 1982
22. de Cabrera, S. et al. *EX-FERM ethanol production using chipped sugarcane in bed fermentors* Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 14 (1): 21-28, 1982
23. de Cabrera, S. et al. *EX-FERM ethanol production in packed bed fermentors: a three cycle operation employing chipped sugarcane* Biotechnol. Lett. 3 (9): 497-502, 1981
24. Wyman, C.E. et al. *Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies* Bioresource Technology 96: 1959-1966, 2005
25. Mosier, N. et al. *Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass* Bioresource Technology 96: 673-686, 2005
26. Zhang, Y.-H.P. & Lynd, L.R. *Toward an Aggregated Understanding of Enzymatic Hydrolysis of Cellulose: Noncomplexed Cellulase Systems* Biotechnol. Bioeng. 88 (7): 797-824, 2004
27. Zhang, Y.-H.P., Himmel, M.E., & Mielenz, J.R. *Outlook for cellulase improvement: Screening and selection strategies* Biotechnology Advances 24: 452-481, 2006
28. Maris, A.J.A.v. et al. *Alcoholic fermentation of carbon sources in biomass hydrolysates by *Saccharomyces cerevisiae*: current status* Antonie van Leeuwenhoek 90: 391-418, 2006



— Carlos E. Rolz Asturias
 croz@uvg.edu.gt
 Decano del Instituto de
 Investigaciones
 de la Universidad del Valle
 de Guatemala