

Producción enzimática de biodiesel con biomasa lignocelulósica

Enzymatic production of biodiesel from lignocellulosic biomass

MSc. Diana D. Alcalá-Galiano Morell, diana.galiano@reduc.edu.cu, MSc. Mario C. Cujilema-Quitío, Ing. Gualberto León-Revelo, MSc. Linnet Baryolo-González, Dr. Luis B. Ramos-Sánchez

Departamento de Ingeniería Química. Universidad de Camagüey, Cuba

Resumen

El aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica disponible en el país es una fuente de energía renovable (FRE) significativa para el desarrollo planificado en los próximos años. La relevancia del trabajo en esta dirección ha quedado refrendada en la nueva política que sobre FRE fue aprobada en el 2014. Dentro de las diversas rutas químicas a seguir para producir energía, se destaca la producción de biocombustibles, de gran importancia para dar respuesta a la creciente demanda del sector del transporte. En el presente trabajo se discute la estrategia de investigación y desarrollo tecnológico para crear condiciones que permitan la producción a escala piloto de bioetanol y biodiesel lignocelulósicos. Se muestra, como el desarrollo de biocombustibles lignocelulósicos es la vía más amigable con el medioambiente y constituye además una dirección de trabajo que permitirá desarrollar varios productos de alto valor agregado que pudieran ser fuente de exportaciones o sustituciones de importaciones. La producción de aceite microbiano, de licores fermentables y de biocatalizadores de lipasas y celulasas de residuos lignocelulósicos contribuye a la reducción de los costos de materia prima, principal costo del bioetanol y el biodiesel por lo que resulta muy atractivo y genera la creación de biorrefinerías de incalculable potencial económico para el país. La propuesta de estrategia de trabajo puede ser el punto de partida de numerosas investigaciones que contribuirán al éxito de la estrategia nacional de fuentes renovables de energías.

Palabras clave: *enzimas, fermentación en estado sólido, biodiesel, residuos agroindustriales, estrategia productiva.*

Abstract

The use of the available lignocellulosic biomass in our country is a significant source of renewable energy (SRE) for the socio-economic development planned for the next years. The relevance of the work in this direction has been countersigned in the national SRE policy approved by our state in 2014. Within the chemical diverse routes to follow for producing useful energy, the biofuels production stands out of great importance face the growing demand of the transport sector. In this work we discuss the research strategy and technological development necessary to create conditions allowing the production of lignocellulosic bioethanol and biodiesel. It is shown, how the development of lignocellulosic biofuels it is the friendliest way to environment and it also constitutes a work that will allow developing several products of added high value that could be

source of exports or substitutions of imports. The production of microbial oil, of fermentable liquors, of lipase biocatalysts and cellulose from lignocellulosic residuals contributes to the reduction of the raw material costs, main component of the cost of bioethanol and the biodiesel. Due to this reality it is very attractive work in the development of Biorefineries, of invaluable economic potential for the country. The proposal of research strategy can be the starting point of numerous investigations that will contribute to the success of the national strategy of renewable sources of energies.

Keywords: *enzymes, solid state fermentation, biodiesel, agroindustrial residues, productive strategy.*

Introducción

Desde el advenimiento de la era industrial a fines del siglo XIX, el consumo de energía fósil, principalmente petróleo, no deja de aumentar de manera exponencial. Según la agencia Internacional de energía (AIE), el consumo diario mundial es actualmente superior a 86 millones de barriles y alcanzará un nivel estimado de más de 116 millones de barriles por día en el 2030. Este enorme consumo de petróleo ha generado una dependencia energética creciente de los países no productores de este rubro. El aumento de este consumo es multifactorial e incluye: la industrialización de los nuevos países emergentes como China e India que representan juntos un cuarto de la población mundial, la creciente población mundial, estimada en 9 billones de individuos en el 2050, así como también la expansión del sector del transporte debido a la internacionalización de la economía y del comercio [1].

Estos hechos han producido consecuencias para la vida de nuestro ecosistema global. En unas pocas décadas el hombre habrá vertido en la atmósfera, en forma de dióxido de carbono, las reservas de petróleo acumuladas durante más de 400 millones de años. Así desde 1965, son más de 900 billones de barriles que se han consumido globalmente y se han transformado en dióxido de carbono. Esta cantidad gigantesca de anhídrido carbónico no se recicló y representa actualmente más del 50 % de los gases de efecto invernadero que es mayormente el responsable del calentamiento climático global [1].

Al margen de estos aspectos ecológicos, nadie puede pasar por alto los impactos socio-económicos y geopolíticos de esta dependencia de las fuentes energéticas fósiles. De hecho, la posesión de la mayoría de los recursos petrolíferos por una

minoría de estados hizo del petróleo un material muy estratégico, por lo que frecuentemente ha estado asociado a conflictos internacionales y guerras de rapiña desde principios del siglo de XX. Es indiscutible también que la reducción de los recursos petroleros mundiales en las próximas décadas va a producir inevitablemente un incremento notable de su precio de venta y de la volatilidad de éste, amenazando así el acceso de los estados más pobres a esta fuente de energía. Esta escasez también generará un crecimiento de los riesgos de la provisión de energía para las grandes potencias económicas no productoras de este recurso y aumentará la dependencia de los países pobre. En este escenario, diversas causas impulsan la necesidad de la búsqueda de fuentes renovables de energía (FRE) que contribuyan a mitigar a corto y mediano plazo las consecuencias que se avizoran del obligado cambio de matriz energética global.

Cuba, país que actualmente tiene una producción de petróleo que apenas cubre la mitad de sus necesidades actuales anuales y que tiene pendiente un gran potencial de desarrollo económico, es muy sensible a los cambios que se esperan en los próximos 30 años. Dentro de las FRE más extendidas en la actualidad en nuestro país se encuentran: el aprovechamiento de la biomasa, de la energía eólica y de la energía fotovoltaica [2]. En todos los casos predomina como salida principal la generación de energía eléctrica, la que tiene algunas limitaciones estratégicas: primero, en alto grado se basa en la compra de tecnologías establecidas internacionalmente que marcan un cierto grado de dependencia foránea que habría que analizar hacia el futuro, segundo, es una energía que resulta difícil de almacenar eficientemente, tercero no puede ser empleada directamente en el sector del transporte automotor actualmente disponible en nuestro país y, cuarto, en el caso de la biomasa; quemarla directamente para generar energía implicaría dejar de producir una gran cantidad de productos que son de vital importancia para el futuro, un error que ya la humanidad cometió con el petróleo, tal como se prevé actualmente [2].

Las necesidades del desarrollo del sector del transporte en el país precisan de una solución para sustituir su base energética. Internacionalmente existen ya varias direcciones de trabajo: el uso de biocombustibles como el bioetanol y el biodiesel, el uso del hidrógeno obtenido por diversas vías, el cambio hacia

motores eléctricos autónomos, ya sea con funcionamiento por baterías, energía fotovoltaica o celdas de hidrógeno, entre otras estrategias [3]. Los biocombustibles que sus propiedades físico-químicas sean análogas a los derivados del petróleo tienen la ventaja de que pueden ser utilizados directamente o con ligeras modificaciones en el parque automotor disponible en la actualidad [4], sin embargo, en la nueva política de desarrollo de las (FRE) casi no se hace referencia a ellos y sólo el biogás es mencionado.

Como parte del trabajo del proyecto “Desarrollo de una tecnología para la producción de biodiesel de residuos agroindustriales lignocelulósicos” ha sido necesario estudiar, reflexionar y juzgar sobre el desarrollo de los biocombustibles como alternativa futura para la matriz energética del país. El objetivo de este trabajo es presentar algunas ideas relacionadas con la estrategia de desarrollo tecnológico, en el ámbito científico, para aprovechar los recursos nacionales como fuentes renovables de energía.

El bioetanol y el biodiesel como alternativas energéticas

Es el momento propicio para liberarse de las fuentes energéticas fósiles, no renovables. Se necesita encontrar, a corto plazo, alternativas universales, económicamente factibles y más compatibles con el desarrollo sostenible. Los biocombustibles, fuentes de energías renovables obtenidas de la biomasa, constituyen una alternativa interesante para contribuir a sustituir el petróleo como alternativa energética básica, sobre todo por lo que se refiere a la sostenibilidad [5].

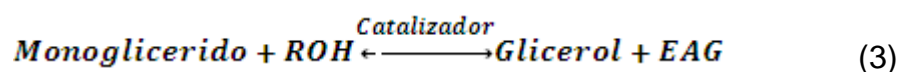
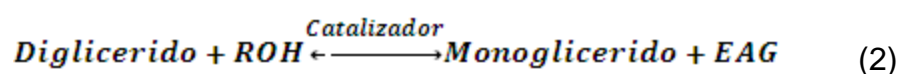
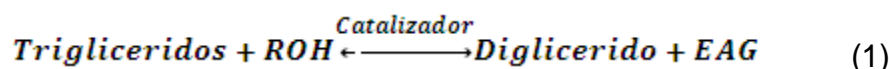
Los biocombustibles más extendidos en la actualidad son el biodiesel obtenido de aceite de plantas y el bioetanol producido por fermentación alcohólica de cereales o plantas azucareras como la remolacha y la caña de azúcar [6]. El biodiesel posee varias cualidades positivas. El biodiesel no requiere ninguna modificación ni ajustes de los componentes del sistema de alimentación de los motores o el sistema de almacenamiento de combustible [7]. Además, puede usarse puro y como combustible mixto, en proporciones apropiadas con el diesel de petróleo [4]. Otro aspecto atractivo del biodiesel, que comparte con el bioetanol, es que es obtenido de fuentes renovables, principalmente de plantas, cuyo aceite contribuye muy poco al aumento de la proporción del anhídrido

carbónico atmosférico. Según la "Comisión Europea de Biodiesel", el uso de este combustible permite reducir entre un 65 y un 95 % las emisiones de anhídrido carbónico respecto al petrodiesel. Además, el biodiesel permite la reducción de emisiones de partículas finas y de contaminantes como el monóxido de carbono, el dióxido de azufre y los óxidos de nitrógeno [1].

A pesar de las ventajas del uso del biodiesel, el bioetanol no deja de ser atractivo si se tiene en cuenta que su uso, aunque demanda modificaciones en el parque automotor, no requiere de ser sometido a un segundo proceso para llegar a convertirse en el biodiesel. Por otro lado, la obtención de bioetanol proporciona un combustible de mejor calidad, además de aprovechar las posibilidades que brinda la alcoquimia como ruta de desarrollo de nuevos productos a partir del etanol [8].

Proceso de síntesis del biodiesel

Industrialmente, el biodiesel es obtenido de triglicéridos y/o ácidos grasos que son los componentes mayoritarios de los aceites vegetales. Se realiza para esto un proceso químico o bioquímico de transesterificación. Estos triglicéridos se hacen reaccionar con un alcohol, generalmente metanol o etanol, en presencia de un catalizador, consiguiéndose así, ésteres metílicos o etílicos de aceite vegetal, según el alcohol que se emplee. Estos son los ésteres de ácidos grasos (EAG) que constituyen el biodiesel como tal. A continuación se muestra de forma esquemática el proceso de transesterificación.



Como se muestra anteriormente la transesterificación ocurre en un sistema de tres reacciones serie. Es necesario partir del hecho que el glicerol es el producto no deseado y se obtiene en la última reacción. Por tanto, el rendimiento en los

productos deseados (ésteres etílicos) dependerá de varios factores como: los perfiles de concentración en el reactor, la temperatura y el grado de extensión de la reacción [9]. En la literatura se reporta el uso de diferentes sistemas de contactos pero sin que se explique el porqué de la elección. Ejemplo Kiril [10] utiliza un reactor de tanque agitado discontinuo. En el trabajo de Jakeline [11], donde se hace un estudio de los diferentes reactores reportados para la reacción de transesterificación, muestra el uso de reactores de tanque agitado discontinuos, discontinuos con recirculación de la enzima y continuos y reactores tubulares de lecho empacado y lecho fluidizado. De aquí se infiere la necesidad de identificar modelos cinéticos robustos que permitan escoger y diseñar el mejor sistema de contacto entre los reactantes.

Seguidamente se discuten alternativas para los tres componentes principales: los triglicéridos, el catalizador y el alcohol a ser utilizado.

Fuentes tradicionales de triglicéridos para la síntesis de biodiesel

La producción de biodiesel en la actualidad se basa en el uso de aceites de plantas, grasas de animales y aceites de algas [12-15]. Actualmente el aceite vegetal más usado para la producción de biodiesel es el aceite de soya, el aceite de girasol o el de *Jatropha curcas* [16]. Además, en la síntesis de biodiesel se han usado con éxito los residuos de la industria de aceites y grasas, la cachaza de la caña de azúcar [4] así como el aceite comestible rechazado luego de su uso. Es por consiguiente posible producir biocombustibles de los residuos industriales [17].

De esta manera, otra línea problemática para la síntesis de biodiesel en Cuba es la elección de las fuentes de triglicéridos más convenientes. La producción en Cuba de semillas oleaginosas para la fabricación de aceites vegetales es escasa y, en sentido general, la existencia de fuentes de grasas que sirvan para una industria de combustibles es despreciable [18]. Dentro de las posibles fuentes de aceites vegetales a competir en nuestro contexto pueden citarse, entre otros [19]: *Jatropha curcas*, *Moringa oleífera* y *Azadirachta indica*.

La producción de aceite *Jatropha curcas* parece ser una buena alternativa para Cuba debido a las características de sus suelos y a la facilidad que tiene esta planta para crecer en terrenos semiáridos, de baja calidad y con una

productividad superior al doble que la soya [19, 20]. Una evaluación reciente de la calidad de los aceites producidos en dos regiones distantes de Cuba arrojan una composición semejante y una buena calidad de los aceites para la síntesis de biodiesel [18]. Por otro lado, se ha reportado que la síntesis de biodiesel con este aceite y etanol, catalizada con lipasas permite obtener muy buenos resultados [21].

La *Moringa oleífera* es una planta también virtuosa para crecer con buenos rendimientos en diferentes terrenos y en condiciones de secano [22, 23]. La calidad de su aceite es muy buena, con un contenido predominante de ácido oleico, cercano al 70 %, muy superior a otras especies evaluadas en Cuba [19]. El aceite de *Moringa* puede tener diversos usos para la síntesis de compuestos de gran interés [19] y se ha reportado su uso satisfactorio para la síntesis de biodiesel [24].

Fuentes alternativas: aceite unicelular

Más recientemente, un área que ha marcado gran interés internacional es la producción de aceite unicelular (AUC), usando microorganismos oleaginosos heterotróficos [25, 26]. Se considera una ventaja que una cierta cantidad de especies puedan crecer en biomasa lignocelulósica debido a la gran disponibilidad de estos recursos [25, 26] que podrían dedicarse a la producción del biodiesel todos los años de forma renovable. De hecho, estos microorganismos son capaces de sintetizar estos ácidos grasos usando como substrato fuentes de carbono lignocelulósicas como la madera, la paja u otros residuos agroindustriales o, directamente del dióxido de carbono atmosférico, en el caso de las micro-algas y las cianobacterias por el proceso de fotosíntesis [26].

Probablemente, los aceites provenientes de microorganismos que crecen sobre substratos lignocelulósicos, puedan competir como materia prima para la producción de biodiesel en Cuba.

Esto será posible si se consigue implementar las siguientes condiciones [12]: (i) se utilizan sustentablemente recursos baratos basados en fuentes biológicas como los residuos lignocelulósicos; (ii) se consiguen altos rendimientos de los microorganismos oleaginosos heterotróficos (MOH); y (iii) se consigue una

producción con una calidad reproducible, alta, y de manera sostenible. Los esfuerzos de investigación en curso han apuntado al cumplimiento de estas tareas determinando los factores fundamentales que controlan la acumulación de lípidos en las especies oleaginosas [12, 27, 28], comparándolos para modelar a estos microorganismos y tratar de modificar [29] y optimizar las condiciones del cultivo [12, 25, 30, 31].

En este momento, como parte del proyecto de biodiesel lignocelulósico se trabaja en el aislamiento e identificación de cepas oleaginosas. En la figura 1 se muestran las hifas de una cepa de *Rizhopus sp.* aislada en la Universidad de Camagüey en las que se aprecia la abundancia de glóbulos de aceite unicelular en su interior luego de crecer en una fermentación sólida de residuos lignocelulósicos. Los glóbulos de aceite fueron teñidos con colorante liposoluble Sudan III. Esta fuente de aceite pudiera contribuir a reducir notablemente el costo del biodiesel [7].

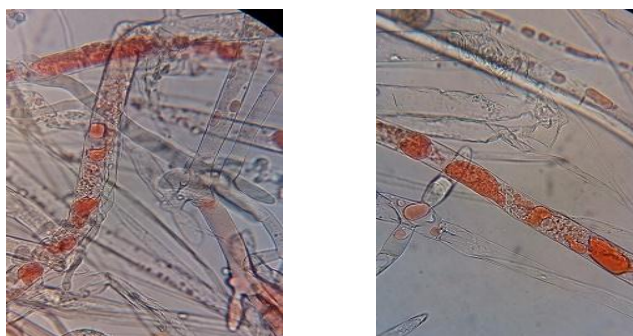


Fig. 1 Hifas del hongo *Rizhopus sp.* con glóbulos de aceite unicelular en su interior.

Catalizador enzimático (Lipasa)

Una alternativa prometedora al uso de la catálisis en ambiente básico consiste en el uso de biocatalizadores enzimáticos como las lipasas [17]. Estas enzimas permiten, por un lado, no tener que acudir más al uso del carbonato sódico cáustico y a grandes cantidades de agua. De hecho, la catálisis biológica puede conducir, según las condiciones operativas, a la síntesis de una molécula de triglicérido, de dos moléculas de éster de ácido graso y a una molécula de monoglicérido (éster de ácido graso inocuo para los motores).

En general las ventajas de la producción de biodiesel enzimático han sido resumidas en las siguientes [7]: proceso que opera a temperatura ambiente, se eliminan los costos asociados a la recuperación del catalizador químico precipitado, la posibilidad del re-uso de la enzima, alta especificidad de la enzima por el sustrato, la habilidad de la enzima de esterificar no sólo ácido grasos libres sino también triglicéridos directamente en un solo paso, uso de una menor relación alcohol/aceite, la eliminación de reacciones colaterales y la minimización de impurezas, la más fácil separación y recuperación del producto, la degradabilidad del biodiesel y su compatibilidad medioambiental.

Las lipasas son enzimas importantes en los sistemas biológicos. Se obtienen de microorganismos y también de plantas y animales. Desde un punto de vista fisiológico, estas enzimas catalizan las reacciones de catabolismo de triglicéridos en ácidos grasos y glicerol. Sin embargo, según las condiciones operativas (en ausencia de agua), las lipasas son capaces de catalizar otras reacciones industrialmente muy usadas, como las reacciones de transesterificación. La producción de lipasas constituye en la actualidad un creciente mercado internacional que resulta muy atractivo para la industria biotecnológica cubana. A esto contribuye su amplia aplicación en la elaboración de detergentes y la gran versatilidad de estas enzimas en la síntesis orgánica [32, 33]. Dentro de éstas se destacan las reacciones de transesterificación [34], de renovado interés actual para la industria de biocombustibles [35, 36].

La producción de lipasas está extendida en numerosos géneros y especies de microorganismos que abarcan bacterias, levaduras y hongos filamentosos. La selección del microorganismo apropiado para la producción de estas enzimas es un aspecto clave para el éxito tecnológico y va a depender del tipo de tecnología fermentativa a utilizar [37, 38]. Los microorganismos más frecuentemente utilizados son los hongos filamentosos [39], los cuales tienen un mejor compartimiento en la fermentación sólida.

La aplicación de estas enzimas está limitada actualmente por los altos costos de producción [40]. De esta manera, además de desarrollar procesos de fermentación muy productivos, se procura aplicar técnicas de purificación que permitan recuperar al máximo las enzimas producidas, al tiempo que afecten

poco su estabilidad y actividad [41]. En la figura 2 se muestran los resultados de la actividad lipolítica reportadas en la literatura para hongos filamentosos.

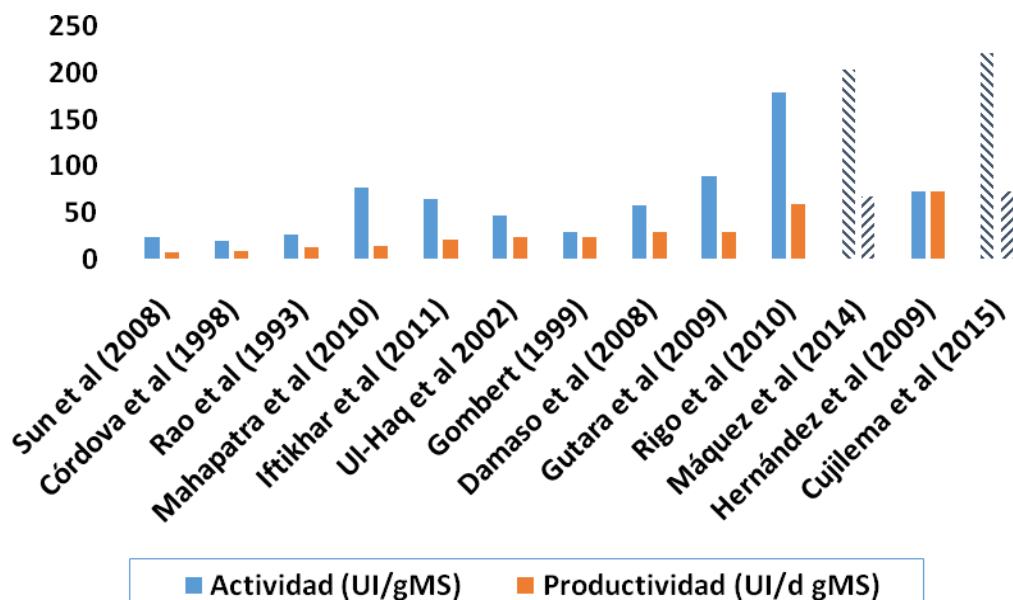


Fig. 2 Actividad y productividad lipolítica reportadas para hongos filamentosos.

En trabajos no publicados sobre el tema, que se llevan a cabo en esta universidad se utiliza un medio semisintético, que se basa en el empleo de un soporte natural (cáscara de cacao) y reactivos químicos como fuentes de nitrógeno orgánico inorgánico, fosfatos y otro macro y microelementos. En este caso la actividad máxima alcanzada fue cercana a 200 UI/g_{MS} a las 72 h de fermentación, un resultado notorio si se compara con lo publicado en literatura hasta la fecha. Por otra parte, y como parte de esta investigación, también se ha empleado un medio complejo en el que se usan materias primas como la harina de moringa, suero de leche, miel final de caña de azúcar, sin otra suplementación. En este medio hasta la fecha la actividad máxima alcanzada es cercana a 80 UI/g_{MS}, en un período también de 72 h como puede apreciarse en la figura 2.

En el caso del medio semisintético se alcanza una actividad 2,5 veces mayor que el medio complejo. No obstante, el costo de materias primas en el segundo es mucho menor que el primero y, ese es un factor clave a considerar en las decisiones tecnológicas que se tomen. El trabajo aún no ha concluido, hacia el

futuro debe encontrarse una solución intermedia en entre estos dos medios de cultivo, la cual minimice el costo unitario.

Otra cuestión importante en ese sentido es formular el producto terminado de manera que pueda ser reutilizado varias veces [42]. Para ello se utilizan diferentes técnicas de inmovilización en las que se logra, muchas veces, mantener o aumentar la actividad y estabilidad de la enzima, aparte de ofrecer la posibilidad de aplicarlas a procesos continuos con recuperación del biocatalizador [40].

Obtención del bioetanol

El origen del uso de etanol como carburante se remonta al siglo XIX, en los inicios del transporte motorizado. Aunque el posterior desarrollo de la industria petrolífera relegó su utilización y la de otros carburantes de origen vegetal, el etanol fue el combustible empleado en el primer motor de combustión interna desarrollado por Nicholas Otto y también en el primer automóvil de cuatro tiempos fabricado por Henry Ford [43]. La crisis del petróleo en los 70 evidenció la dependencia de los países exportadores y resurgieron las iniciativas para desarrollar y promover otros tipos de combustibles. Ya en el siglo XXI, la producción mundial de bioetanol a partir de biomasa azucarada y amilácea aumentó notablemente, llegándose a triplicar en sólo siete años, entre 2000 y 2007 [44].

El etanol tiene un algunas características interesantes [45]: contiene un menor contenido de energía (aproximadamente 45 % menos que el diesel), bajo precio y una menor emisión de contaminantes que la gasolina y el petrodiesel. El etanol tiene un número de octano alto (99), por regla mayor que el de las gasolinas (80-100) lo que hace que no ocurra la pre-ignición al ser usado directamente. Todo esto hace que hasta la fecha sea usado más frecuentemente como un aditivo competitivo de la gasolina que como combustible puro.

La producción de etanol a partir de la caña de azúcar y los cereales compite con la alimentación humana y debido a esto se ha generado una fuerte tendencia a producirlo de fuentes no sólo renovables sino, además, de los residuos agroindustriales. Múltiples son las dificultades a enfrentar en la producción de etanol lignocelulósico, pero principalmente la reducción de los costos

enzimáticos que son los más elevados. En esta dirección resulta primordial la búsqueda de cepas super productoras, estables y resistentes al proceso de producción.

En la figura 3 se muestra una comparación de las productividades en la producción de celulasas conseguidas en este proyecto de investigación con sendos esfuerzos de optimización de un medio de cultivo para la actividad de una cepa de *Aspergillus niger*.

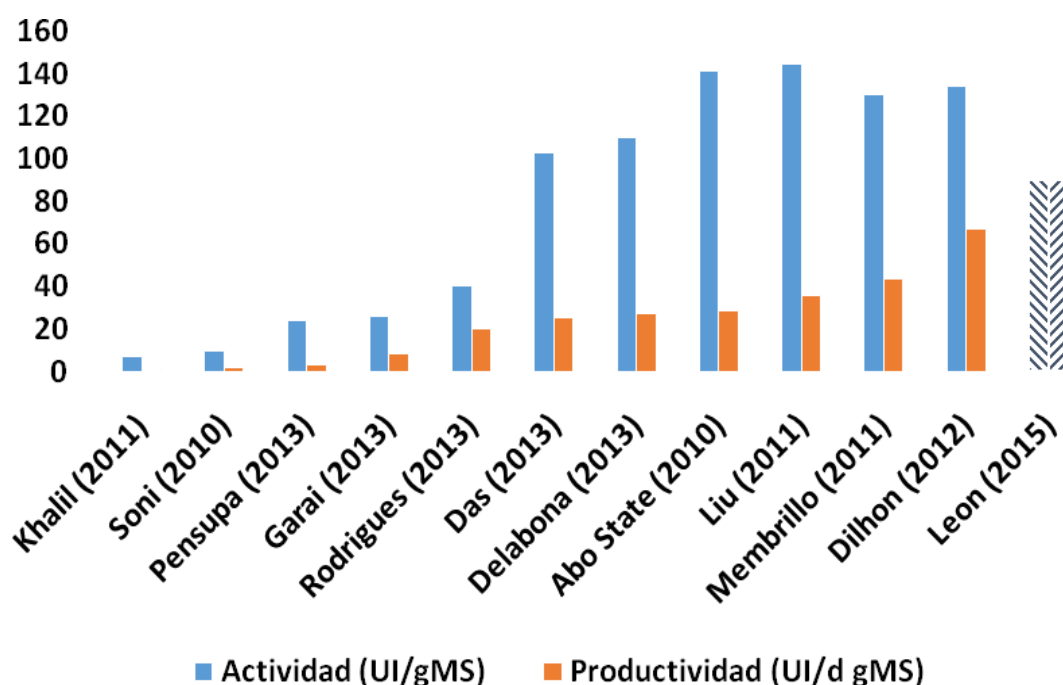


Fig. 3 Comparación de la actividad y productividad de celulasas reportadas.

La productividad conseguida, aun cuando el trabajo de optimización no ha concluido, está entre las más altas reportadas en la literatura hasta fecha, con un valor de actividad de alrededor de los 50 UI/g_{MS}. Este valor de actividad está dentro de la media reportada, pero se obtuvo a las 24 h, lo cual es un gran paso de avance hacia los objetivos de hacer competitivo el etanol lignocelulósico.

Fundamentos de la elección de los biocombustibles

La escasa información disponible en nuestro país sobre estudios propios para el desarrollo de tecnologías de avanzada para la fabricación de biodiesel no permite hacer un análisis a priori sobre la eficiencia esperada de procesos inversionistas en este sector. De cualquier modo, el análisis de la literatura

reciente sobre este tema permite dibujar un escenario sobre la conveniencia de invertir recursos en la investigación de estas tecnologías.

Importancia del desarrollo de tecnologías para biocombustibles de la biomasa

El desarrollo de esta tecnología traerá como resultado el desarrollo de varios productos que son de gran interés práctico para la industria y para el comercio. Dentro de estos productos podemos citar la enzima lipasa, de enormes aplicaciones en la síntesis orgánica, detergentes biodegradables, tratamiento de aguas residuales, entre otras. Las lipasas son enzimas lipolíticas y pertenecen al grupo de enzimas hidrolíticas que ocupan el 75 % del mercado industrial de enzimas [46]. Estas enzimas catalizan un gran número de reacciones tales como: la hidrólisis, la esterificación, la transesterificación, la interesterificación, la acidólisis y la aminólisis [47-50]. A partir de esta enzima se llega a un biocatalizador compuesto por la enzima lipasa inmovilizada en un soporte sólido de gran interés para la transesterificación de grasas con etanol, pero con muchas otras aplicaciones potenciales. Algo semejante sucede con las enzimas celulasas de múltiples aplicaciones también en la industria textil, de extracción de jugos, tratamiento de residuales, detergentes, etcétera.

Si se avanza por la vía celulolítica para la síntesis del biodiesel, también se llegará a una tecnología para producir aceite unicelular, de interés para la producción de biodiesel, pero con otras numerosas aplicaciones potenciales en la industria alimentaria y la cosmética.

En nuestro país existe una gran necesidad de biodiesel en la actualidad y más aún hacia el futuro debido a la tendencia que se observa en el crecimiento del precio del petróleo al nivel mundial y su agotamiento durante este siglo. Este producto tiene la ventaja a su vez de que puede ser aplicado sin necesidad de hacer muchas modificaciones a los motores que actualmente consumen este carburante proveniente del petróleo.

La tecnología en la que se está trabajando contribuye a resolver la contradicción producida por la utilización de productos agropecuarios que compiten con la alimentación humana; ya sea por su consumo directo, por el aumento que producen en sus precios por el incremento en su demanda [51, 52], como por la competencia que se genera por la disponibilidad de tierras para su cultivo.

El mejor ejemplo del incremento del interés por parte de la comunidad científica internacional por estos biocombustibles, se puede observar en la producción mundial de etanol y biodiesel hasta el año 2009, según [52], lo cual muestra valores en el 2009 de producción de bioetanol en el orden de los 75 billones de litros y de 17 billones de litros de biodiesel. Según estos valores la producción de estos carburantes muestran una tendencia a incrementarse de forma exponencial, indicativo de lo positivo que está resultando la inversión en este tipo de productos.

Propuesta de estrategia de desarrollo tecnológico

Según lo que se ha discutido hasta ahora, la estrategia que debería aplicarse en Cuba para el desarrollo de tecnologías de biocombustibles debe basarse en el aprovechamiento de la biomasa generada en los procesos agroindustriales existentes. Esto equivale a rechazar la política que promueve el uso de productos que compiten con la alimentación humana y que ha sido asociada al desmedido incremento de los índices de precios de los alimentos desde el año 2007.

La estrategia que se propone se basa en el concepto de *biorrefinería*, actualmente en desarrollo por parte de la comunidad científica internacional y pretende desarrollar toda una variedad de materias primas que sirven de punto de partida para la síntesis de numerosos productos derivados que tienen un enorme potencial económico.

En la figura 4 se muestra de forma simplificada la ruta química que hemos adoptado en el proyecto en la que las salidas, como se ha dicho antes son varias; no sólo bioetanol y biodiesel sino, además biocatalizadores y licores azucaradas de gran potencial económico.

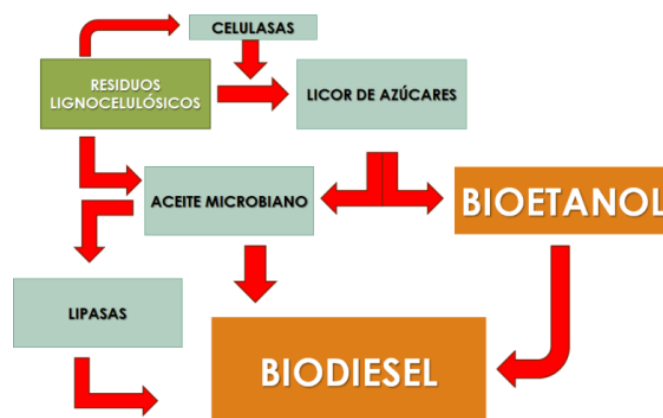


Fig. 4 Estrategia de desarrollo tecnológico de los biocombustibles.

Conclusiones

1. *Se considera que el desarrollo más extensivo y diverso de los biocombustibles es una dirección estratégica para el desarrollo económico para el país, en la que vale la pena invertir en investigación y desarrollo. El desarrollo de biocombustibles lignocelulósicos es la vía más amigable con el medioambiente y constituye además una dirección de trabajo que permitirá desarrollar varios productos de alto valor agregado que pudieran ser fuente de exportaciones o sustituciones de importaciones. La producción de aceite microbiano, de licores fermentables y de biocatalizadores de lipasas y celulasas de residuos lignocelulósicos contribuye a la reducción de los costos de materia prima, principal costo del bioetanol y el biodiesel por lo que resulta muy atractivo y genera la creación de biorrefinerías de incalculable potencial económico para el país. La propuesta de estrategia de trabajo puede ser el punto de partida de numerosas investigaciones que contribuirán al éxito de la estrategia nacional de fuentes renovables de energías.*

Bibliografía

1. PÁSZTOR, A. "Advanced biofuel production: Engineering metabolic pathways for butanol and propane biosynthesis". Ph. D. Thesis, University of Turku, 2015.
2. SINGH, A. [et al.]. "Comparative study on ethanol production from pretreated sugarcane bagasse using immobilized *Saccharomyces cerevisiae* on various matrices". *Renewable Energy*. 2013, vol. 50, p. 488-493.
3. SATTARI, S., VAHABZADEH, F., y AGHTAEI, H.K. "Performance of loofa-immobilized *rhizopus oryzae* in the enzymatic production of biodiesel with use of oleic acid in n-hexane medium". *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 2015, vol. 32, núm. 2, p. 367-376.
4. MARINKOVIĆ, D.M. [et al.]. "The synthesis of CaO loaded onto Al₂O₃ from calcium acetate and its application in transesterification of the sunflower oil". *Advanced Technologies*. 2015, vol. 4, núm. 1, p. 23-32.
5. KOH, M.Y. y GHAZI, T.I.M. "A review of biodiesel production from *Jatropha curcas* L. oil". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2011, vol. 15, p. 2240–2251.
6. BABAKIA, M. [et al.]. "Preparation of highly reusable biocatalysts by immobilization of lipases on epoxy-functionalized silica for production of biodiesel from canola oil". *Biochemical Engineering Journal*. 2015, vol. 101, p. 23-31.
7. CHRISTOPHER, L.P., KUMAR, H., y ZAMBARE, V.P. "Enzymatic biodiesel: Challenges and opportunities". *Applied Energy*. 2014, vol. 119, p. 497–520.
8. MESA-GARRIGA, L. "Estrategia investigativa para la tecnología de obtención de etanol y coproductos del bagazo de la caña de azúcar". Tesis en opción al título de Doctor en Ciencias Técnicas. Especialidad, Ingeniería Química, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, 2010.
9. FOGLER, H.S. *Elements of Chemical Reaction Engineering*. 4 ed. Massachusetts, USA: Prentice Hall, 2005. p. 1080, ISBN 0-13-047394-4.
10. KAZANCEV, K., SENDZIKIENE, E., y KAZANCEVA, I. "Application of enzymatic process for biodiesel synthesis from vegetable oil with high fatty

- acid content using butanol". *Engineering for Rural Development*. 2015, vol. 20, núm. 5, p. 302-306.
11. POPPE, J.K. [et al.]. "Enzymatic reactors for biodiesel synthesis: Present status and future prospects ". *Biotechnology Advances*. 2015, vol. 33, p. 511-525.
 12. KOSA, M. y RAGAUSKAS, A.J. "Lipids from heterotrophic microbes: advances in metabolism research". *Trends in Biotechnology*. 2011, vol. 29, núm. 2, p. 53-61.
 13. VASUDEVAN, P.T. y BRIGGS, M. "Biodiesel production-current state of the art and challenges". *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2008, vol. 35, p. 421–430.
 14. CHISTI, Y. "Biodiesel from microalgae beats bioethanol". *Trends Biotechnol.* 2008, vol. 26, p. 126–131.
 15. RATLEDGE, C. y COHEN, Z. "Microbial and algal oils: Do they have a future for biodiesel or as commodity oils?". *Lipid Techn.* 2008, vol. 20, p. 155–160.
 16. NANDI, S. y BHATTACHARYYA, R. "Production of biodiesel from *Jatropha curcas* oil with recycling of enzyme". *International Journal on Applications in Civil and Environmental Engineering*. 2015, vol. 1, núm. 1, p. 1-5.
 17. GO, A.W. [et al.]. "Developments in-situ (trans) esterification for biodiesel production: A critical review". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2016, vol. 60, p. 284-305.
 18. RODRÍGUEZ, R.P. [et al.]. "Characterization of *Jatropha curcas* oils and their derived fatty acid ethyl esters obtained from two different plantations in Cuba". *Biomass and Bioenergy*. 2011, vol. 35, p. 4092-4098.
 19. MARTÍN, C. [et al.]. "Fractional characterisation of jatropha, neem, moringa, trisperma, castor and candlenut seeds as potential feedstocks for biodiesel production in Cuba". *Biomass and Bioenergy*. 2010, vol. 34, p. 533–538.
 20. LORA, E.E.S. [et al.]. "Issues to consider, existing tools and constraints in biofuels sustainability assessments". *Energy*. 2011, vol. 36, p. 2097-2110.
 21. KOH, M.Y., MOHD, T.I., y GHAZI. "A review of biodiesel production from *Jatropha curcas L.* oil". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2011, vol. 15, p. 2240–2251.
 22. MOSER, B.R. "Biodiesel production, properties, and feedstocks". *In Vitro Cell.Dev.Biol.—Plant*. 2009, vol. 45, p. 229–266.

23. BORUGADDA, V.B. y GOUD, V.V. "Biodiesel production from renewable feedstocks: Status and opportunities". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2012, vol. 16, p. 4763–4784.
24. BORGES, M.E. y DÍAZ, L. "Recent developments on heterogeneous catalysts for biodiesel production by oil esterification and transesterification reactions: A review". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2012, vol. 16, p. 2839–2849.
25. LI, Q. "Perspectives of microbial oils for biodiesel production". *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2008, vol. 80, p. 749–756.
26. MENG, X. "Biodiesel production from oleaginous microorganisms". *Renewable Energy*. 2009, vol. 34, p. 1–5.
27. ZHANG, Y. y RATLEDGE, C. "Multiple isoforms of malic enzyme in the oleaginous fungus, *Mortierella alpina*". *Mycol. Res.* 2008, vol. 112, p. 725–730.
28. BEOPOULOS, A. "*Yarrowia lipolytica*: A model and a tool to understand the mechanisms implicated in lipid accumulation". *Biochimie*. 2009, vol. 91, p. 692–696.
29. ZHANG, Y. "Malic enzyme: the controlling activity for lipid production? Overexpression of malic enzyme in *Mucor circinelloides* leads to a 2.5-fold increase in lipid accumulation". *Microbiology*. 2007, vol. 153, p. 2013–2025.
30. BEOPOULOS, A. "*Yarrowia lipolytica* as a model for bio-oil production". *Prog. Lipid Res.* 2009, vol. 48, p. 375–387.
31. WU, S. "Phosphate-limitation mediated lipid production by *Rhodospiridium toruloides*". *Bioresour. Technol.* 2010, vol. 101, p. 6124–6129.
32. CORZO, G. y REVAH, S. "Production and characteristics of the lipase from *Yarrowia lipolytica* 681". *Bioresource Technology*. 1999, vol. 70, p. 173-180.
33. SHARMA, R., CHISTI, Y., y BANERJEE, U.C. "Production, purification, characterization, and applications of lipases ". *Biotechnology Advances*. 2001, vol. 19, p. 627–662.
34. RODRÍGUEZ, R.C. y FERNÁNDEZ-LAFUENTE, R. "Lipase from *Rhizomucor miehei* as an industrial biocatalyst in chemical process". *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 2010, vol. 64, p. 1-22.

35. MA, F. y HANNA, M.A. "Biodiesel production: a review". *Bioresource Technology*. 1999, vol. 70, p. 1-15.
36. SHAHID, E.M. y JAMAL, Y. "A review of biodiesel as vehicular fuel". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2008, vol. 12, p. 2484–2494.
37. COCA, J. [et al.]. "Producción y Caracterización de las lipasas de *Aspergillus niger* y *A. fumigatus*". *Biotecnología Aplicada*. 2001, vol. 18, p. 216-220.
38. UL-HAQ, I., IDREES, S., y RAJOKA, M.I. "Production of lipases by *Rhizopus oligosporus* by solid-state fermentation". *Process Biochemistry* 2002, vol. 37, p. 637-641.
39. ELLAIAH, P. [et al.]. "Production of lipase by immobilized cells of *Aspergillus niger*". *Process Biochemistry*. 2004, vol. 39, p. 525-528.
40. WANG, F. [et al.]. "Magnetic mesoporous silica nanoparticles: Fabrication and their laccase immobilization performance". *Bioresource Technology*. 2010, vol. 101, p. 8931-8935.
41. SAXENA, R.K. [et al.]. "Purification strategies for microbial lipases". *Journal of Microbiological Methods*. 2003, vol. 52, p. 1-18.
42. KIMA, M.I. [et al.]. "Inmobilization of *Mucor javanicus* lipase on effectively functionalized silica nanoparticles". *Journal of Molecular Catalysis B*. 2006, vol. 39, p. 62–68.
43. ALVIRA-IRÁIZOZ, P. "Estudio y formulación de nuevos cócteles enzimáticos para la mejora de la producción de etanol a partir de paja de trigo". Tesis en opción al título de Doctor en Ciencias Técnicas. Especialidad, Ingeniería Química, Universidad Complutense, Madrid. 2012.
44. SIMS, R. [et al.]. "From 1st to 2nd generation biofuel technologies: an overview of current industry and RD&D activities". International Energy Agency, 2008.
45. MUTREJA, R. [et al.]. "Bioconversion of Agricultural Waste to Ethanol by SSF Using Recombinant Cellulase from *Clostridium thermocellum*". *Enzyme Research*. 2011, vol. 2011, p. 1-6.
46. BASHEER, S.A. y M.THENMOZHI. "Reverse micellar separation of lipases: a critical review.". *Int. J. Chem. Sci*. 2010, vol. 8, núm. 5, p. 57-67.

47. SRIMHAN, P. [et al.]. "Selection of lipase producing yeasts for methanol-tolerant biocatalyst as whole cell application for palm-oil transesterification.". *Enzyme and Microbial Technology*. 2011, vol. 48, p. 293-298.
48. DALLA-VECCHIA, R., NASCIMENTO, M.d.G., y SOLDI, V. "Aplicações sintéticas de lipases imobilizadas em polímeros". *Quim. Nova*. 2004, vol. 27, núm. 4, p. 623-630.
49. PATIL, K.J., CHOPDA, M.Z., y MAHAJAN, R.T. "Lipase biodiversity". *Indian Journal of Science and Technology*. 2011, vol. 4, núm. 8, p. 28-37.
50. XU, Y. "Process Technology for Immobilized Lipase Catalyzed Reactions". Ph. D. Thesis, 2012.
51. LEE, S.U. [et al.]. "Bioprocessing aspects of fuels and chemicals from biomass". *Korean J. Chem. Eng.* 2012, vol. 29, núm. 7, p. 831-850.
52. TIMILSINA, G.R. y SHRESTHA, A. "How much hope should we have for biofuels?". *Energy*. 2011, vol. 36, p. 2055-2069.