

MATERIAS PRIMAS USADAS PARA LA PRODUCCIÓN DE ETANOL DE CUATRO GENERACIONES: RETOS Y OPORTUNIDADES

FOUR GENERATIONS OF RAW MATERIALS USED FOR ETHANOL PRODUCTION: CHALLENGES AND OPPORTUNITIES

L. Alexis **Alonso-Gómez**, L. Arturo **Bello-Pérez***

Instituto Politécnico Nacional- CEPROBI, Carretera Yautepec-Jojutla Km 6, Calle Ceprobi 8, Colonia San Isidro, 62731 Yautepec, Morelos, México. labellop@ipn.mx

RESUMEN

El problema de disminución de las reservas de combustibles fósiles y la generación de contaminantes debido a su combustión, han provocado la búsqueda de combustibles alternativos como el etanol. En varios países se usa el etanol producido desde caña de azúcar y maíz, mezclado con la gasolina, como combustible para los vehículos de transporte. Esto ha disminuido la generación de contaminantes y la dependencia de los precios internacionales del petróleo, sobre todo en países que no lo producen. Para producir etanol se buscan materias primas de bajo costo como los residuos lignocelulósicos, cultivos agrícolas con alto contenido de almidón, algas y otras fuentes. En este ensayo se hace un análisis de las cuatro generaciones de materias primas para producir etanol, se mencionan los intereses actuales de investigación en los procesos de transformación, así como las alternativas para mejorar procesos de producción, con la finalidad de tener etanol carburante a menor costo.

Palabras clave: etanol, almidón, combustible, energía.

INTRODUCCIÓN

El mundo afronta el hecho de que la población aumenta vertiginosamente y en la misma medida crece el nivel de industrialización, y el consumo de recursos no renovables como petróleo y sus derivados. Con el uso de los derivados del petróleo se genera impacto ambiental y presión sobre los recursos naturales renovables. Para desligar el crecimiento económico del uso de combustibles fósiles, así como la contaminación ambiental debida a su combustión,

ABSTRACT

The problem of depletion of fossil fuel reserves and the generation of pollutants from their combustion has sparked a search for alternative fuels such as ethanol. In several countries, ethanol produced from sugarcane and maize is mixed with gasoline and used as fuel for transport vehicles. This has decreased generation of pollutants and dependence on international oil prices, especially in countries that do not produce oil. To produce ethanol, low-cost raw material, such as lignocellulosic residues, agricultural crops with a high starch content, algae and others have been tested. In this essay, we analyze four generations of raw material for ethanol production. We mention current research interest in transformation processes and alternatives to improve production processes to yield ethanol fuel at a lower cost.

Key words: ethanol, starch, fuel, energy.

INTRODUCTION

The world faces the fact that population increases vertiginously and industrialization, as well as consumption of unrenovable resources such as oil and its derivatives, grows in the same measure. To make economic growth independent of the use of fossil fuels and environmental pollution from combustion, interest has increased in using renewable resources to obtain energy, known as alternative energy sources (Plaza Castillo *et al.*, 2015). A renewable resource is biomass generated by photosynthetic organisms (autotrophs) that store energy in the form of sugars, which can be transformed into ethanol for use as biofuel through the process of fermentation. To reduce the competition for crop land that may exist between renewable resources and food production, non-

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: mayo, 2017. Aprobado: marzo, 2018.

Publicado como ENSAYO en *Agrociencia* 52: 967-990. 2018.

ha aumentado el interés en el aprovechamiento de los recursos renovables para la obtención de energía, lo que se conoce como energías alternativas (Plaza Castillo *et al.*, 2015). Un recurso renovable es la biomasa generada por los organismos fotosintéticos (autótrofos), que almacenan la energía en forma de azúcares que se pueden transformar a etanol para uso como biocombustible por medio del proceso de fermentación. Para disminuir la competencia por las tierras de cultivo que pueda existir entre los recursos renovables y la agricultura para alimentos, se buscan fuentes no convencionales (de bajo costo), subproductos y materias primas no usadas para alimentación humana o animal, con alto contenido de almidón o azúcares fermentables (Hernández-Uribe *et al.*, 2014; Hoyos-Leyva *et al.*, 2017).

A escala comercial, Brasil y EUA han implementado de manera masiva y exitosa el etanol como combustible alternativo y han mostrado que puede ser competitivo con la gasolina en precio y energía (Chandel *et al.*, 2014). En EUA, el 96 % del mercado de gasolina es E10 (10 % v/v de etanol con 90 % v/v de gasolina) y el etanol generado desde almidón de maíz comprende cerca de tres cuartas partes de la producción de biocombustibles del país, pero el inconveniente es provenir desde una materia prima de uso alimenticio (Schwab *et al.*, 2016). Para los Vehículos Flex Fuel (VFF) existe la mezcla E85 que contiene 51 a 85 % de etanol, según la estación y la zona geográfica. Hasta marzo del 2016 habían 3101 estaciones de servicio que vendían E85, y 16.8×10^6 VFF registrados en todo EUA (US Department of Energy, 2016). Brasil obtiene la mayor parte del etanol desde caña de azúcar y en el 2014 había 448 unidades funcionales de producción de etanol de primera generación (1G). El 80 % de los vehículos livianos de Brasil son VFF y la producción de etanol en el 2014 satisfacía toda la mezcla E25 (25 % v/v con 75 % v/v de gasolina) por lo que se redujo la importación de 550×10^6 barriles de petróleo (ANP, 2014).

Las políticas regionales y tratados internacionales para mitigar los efectos del cambio climático reflejan el esfuerzo de los gobiernos para impulsar la producción y uso de etanol. Por lo tanto, hay un aumento en la producción de este biocombustible, debido en parte a sus balances energéticos positivos y la neutralidad en cuanto a la generación de CO_2 , que son ventajas demostradas en las tecnologías de primera generación. Entre 2007 y 2010 la producción de

conventional (low-cost) byproducts and raw material not used for human food or animal feed with a high content of fermentable starch or sugars are sought (Hernández-Uribe *et al.*, 2014; Hoyos-Leyva *et al.*, 2017).

On a commercial scale, Brazil and the US have successfully and massively implemented ethanol as an alternative fuel and have shown that it can be competitive with gasoline in terms of price and energy (Chandel *et al.*, 2014). In the US 96 % of the gasoline market is E10 (10 % v/v ethanol with 90 % V/V gasoline) and ethanol produced from corn starch comprises nearly three fourths of the biofuel produced in the country. Its disadvantage is that it comes from a raw material used for food (Schwab *et al.*, 2016). For Flex Fuel Vehicles (FFV), there is an E85 mixture that contains 51 to 85 % ethanol, depending on the season and the geographic location. As of March 2016, there were 3101 service stations that sold E85, and 16.8×10^6 FFV registered throughout the USA (US Department of Energy, 2016). Brazil obtains most of its ethanol from sugarcane, and in 2014 there were 448 functional first generation (1G) ethanol production units. In Brazil, 80 % of the light vehicles are FFV and the production of ethanol in 2014 satisfied all the E25 mixture (25 % ethanol v/v with 75 % gasoline v/v), thus reducing import of 550×10^6 barrels of oil (ANP, 2014).

Regional policies and international treaties aimed to mitigate climate change reflect the effort of governments to promote ethanol production and use. As a result, production of this biofuel increased due partly to its positive energy balance and its neutrality in terms of generating CO_2 , proven advantages of first-generation technologies. Between 2007 and 2010, ethanol production almost doubled (Table 1). Since the 1970s, Brazil has been the leader with sugarcane, but was surpassed by the US where maize is processed by dry milling as well as other cereals such as sorghum in a lower proportion (Linton *et al.*, 2011).

In 2012, average world production of fuel ethanol was $232,000 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$, of which $138,408 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ (59.5 %) was produced in the USA and $63,374 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ (27.4 %) in Brazil (ANP, 2014). Production of ethanol in the USA in 2013 was $134,588 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$, $145,818 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ in 2014 and $151,649 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ in 2015. In 2015, US ethanol consumption was $143,780 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$, and for

etanol casi se ha duplicado (Cuadro 1), lo que está liderado desde la década de 1970 por Brasil con la caña de azúcar, pero fue superado por EUA donde se usa maíz procesado por molienda seca y en menor proporción otros cereales como el sorgo (Linton *et al.*, 2011).

En 2012, la producción promedio de etanol combustible en el mundo fue $232,000 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$, de los cuales $138\,408 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ (59.5 %) se producían en EUA, y $63\,374 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ (27.4 %) en Brasil (ANP, 2014). La producción de etanol en EUA en 2013 fue $134,588 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$, en 2014 fue $145,818 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$, y en 2015 fue $151\,649 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$. En 2015, el consumo de etanol en EUA fue $143\,780 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$, y para 2016 y 2017 se pronosticó un consumo de $156\,240 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ el cual se estima asumiendo una mezcla del 10.0 % en esos años (U.S. Energy Information Administration, 2016b), con base en la tendencia reportada por el Petroleum Supply Monthly de que la mezcla de etanol aumentó de 9.8 % en 2013 a 9.9 % en 2015 (U.S. Energy Information Administration, 2016a).

Otra razón del uso del etanol como combustible para el transporte mezclado con las gasolinas, es que esa mezcla no necesita la adición de Metil Terbutil Éter (MTBE), cuya función es actuar como oxígeno (Solomon *et al.*, 2007). El MTBE está asociado con problemas de salud, ya que la combustión de la gasolina con MTBE provoca irritación de los ojos y daño en las vías respiratorias. Esto ha llevado al estudio de producción de etanol en las diferentes etapas de su producción, que incluye las diferentes materias primas y los microorganismos.

2016 and 2017 a consumption of $156,240 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ was predicted; this amount is estimated assuming a mixture of 10.0 % during those years (U.S. Energy Information Administration, 2016b), based on the trend reported by Petroleum Supply Monthly that the mixture of ethanol increased 9.8 % in 2013 to 9.9 % in 2015 (U.S. Energy Information Administration, 2016a).

Another reason for using ethanol as a fuel for cars mixed with gasolines it that this mixture does not need addition of Methyl Tertbutyl Ether (MTBE) whose function is to act as an oxygenator (Solomon *et al.*, 2007). MTBE is associated with health problems; combustion of gasoline with MTBE causes irritation to eyes and damage to the respiratory tract. This has led to the study of ethanol production in the different stages of its production, which includes different raw material and microorganisms. Of 9659 documents found in Scopus from 2007 to 2017 with the key words ethanol and biomass, 1063, 1071, 970, 979 and 1014 correspond to 2013, 2014, 2015, 2016 and 2017, respectively. Moreover, the US, China, Brazil and India are the countries that have published the most, with 2737, 1236, 791, 605 documents, respectively, in this period. Nearly 740 results on patents contain the words *ethanol*, *anhydrous*, *biomass* and *fermentation* from 2010 to 2017.

The raw material used for fuel ethanol can vary depending on the plant structure and the way it stores energy. Sugarcane stems store it in the form of sucrose, and for this use in 2013 almost 8.6 million ha were cultivated in Brazil with an average yield of

Cuadro 1. Producción anual de bioetanol por país o región ($\text{m}^3 \times 10^6$).

Table 1. Annual production of bioethanol by country or region ($\text{m}^3 \times 10^6$).

País	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
EUA	24.7	35.2	41.4	50.3	52.7	50.3	50.3	54.1	56.0	59.6
Brasil	18.9	24.5	24.9	26.2	21.1	21.1	23.7	23.4	26.8	28.2
Europa	2.1	2.7	3.9	4.5	4.4	4.4	5.2	5.5	5.2	5.3
China	1.8	1.9	2.0	2.0	2.1	2.1	2.6	2.4	3.1	3.2
Canadá	0.8	0.8	1.1	1.3	1.7	1.7	1.9	1.9	1.6	1.7
Resto del mundo	1.2	1.5	3.5	3.7	2.6	2.8	2.7	5.6	4.3	5.0
MUNDO	49.6	66.7	76.8	88.2	84.8	82.5	86.6	93.0	97.0	103.1

Adaptada de: U.S. Energy Information Administration (2017) ♦ Adapted from: U.S. Energy Information Administration (2017).

De 9659 documentos encontrados en Scopus desde el 2007 hasta el 2017 con las palabras claves *ethanol* y *biomass*, 1063, 1071, 970, 979 y 1014 corresponden a 2013, 2014, 2015, 2016 y 2017, respectivamente. Además, EUA, China, Brasil e India, son los países que más han publicado con 2737, 1236, 791, 605 documentos en este mismo periodo, respectivamente. Cerca de 740 resultados sobre patentes contienen las palabras *ethanol*, *anhydrous*, *biomass* y *fermentation* desde el 2010 hasta el 2017.

Las materias primas utilizadas para la producción de etanol carburante pueden variar, lo cual depende de la estructura vegetal y la forma en que almacenan la energía: los tallos de la caña de azúcar la almacenan en forma de sacarosa, y para su uso en el 2013 se cultivaron cerca de 8.6 millones ha en Brasil con un rendimiento promedio de 70 t ha⁻¹, con un total anual de 596 millones t de caña para producir etanol (Alves *et al.*, 2018). Los granos de maíz almacenan la energía en forma de almidón; en el 2017 el uso de etanol combustible a partir de maíz en EUA fue de 57 mil millones L año⁻¹ (Liu *et al.* 2017). Los residuos de cultivos como la paja del trigo o los tallos del maíz (rastreo), almacenan la energía en forma de carbohidratos complejos como la celulosa y hemicelulosa. Así, las características de las materias primas determinan los pretratamientos y tratamientos necesarios para la obtención de los azúcares fermentables y su conversión a etanol por microorganismos.

La mayoría de los documentos revisados muestran resultados de investigación y avances en rendimientos de etanol desde materias primas lignocelulósicas (2^a generación, 2G), o con organismos con rápida generación de biomasa (3^a generación, 3G), o con microorganismos genéticamente modificados (4^a generación, 4G). Existe incertidumbre sobre la probabilidad de que los procesos usados para producir biocombustibles 2G, 3G y 4G cumplan con los rendimientos esperados. Ahora hay barreras técnicas y económicas no superadas, sobre todo para los biocombustibles 2G en adelante, ya que estos serán competitivos con los combustibles fósiles cuando se puedan producir a gran escala y con menores costos por unidad de energía. Según Cheng y Timilsina (2011), la principal barrera para el desarrollo de los biocombustibles 2G son los costos de producción altos en la etapa de pretratamiento, el costo alto de las enzimas usadas para hidrolizar los materiales lignocelulósicos y la dificultad para realizar la conversión de los azúcares de 5 carbonos a etanol. Para el etanol 3G,

70 t ha⁻¹ and an annual total of 596 million t of sugarcane for ethanol production (Alves *et al.*, 2018). Maize grains store energy in the form of starch; in 2017 fuel ethanol from maize used in the US was 57 billion L year⁻¹ (Liu *et al.* 2017). Crop residues, such as wheat straw or maize stover store energy in the form of complex carbohydrates such as cellulose and hemicellulose. Thus, the characteristics of the raw materials determine the pretreatments and treatments necessary to obtain fermentable sugars, which are converted to ethanol by microorganisms.

Most of the documents reviewed report studies and advances in ethanol yield from lignocellulosic raw material (2nd generation, 2G), or with organisms that rapidly produce biomass (3rd generation, 3G), or with genetically modified microorganisms (4th generation, 4G). There is uncertainty on the likelihood that the processes used to produce 2G, 3G and 4G biofuels meet expected yields. To date, there are technical and economic barriers that have not been overcome, especially for 2G and later biofuels since they will be competitive with fossil fuels when they can be produced on a large scale and when costs per unit of energy are lower. According to Cheng and Timilsina (2011), the main obstacle to developing 2G biofuels are high production costs in the pre-treatment stage, the high cost of enzymes used to hydrolyze lignocellulosic material, and the difficulty of converting 5-carbon sugars to ethanol. For 3G ethanol, the difficulty for its commercialization lies in the cost of harvesting the algae and the problems that contaminating algae cause (Cheng and Timilsina 2011). For 4G ethanol, there are gaps in knowledge for predicting the behavior of genetically modified microorganisms, to potentiate their desirable characteristics and maintain them unchanged over time (Peralta-Yahya *et al.*, 2012).

The objective of this essay is to show, analyze and discuss information on ethanol production, specifically on the diverse generations of raw material used in its production. Particularly, the advantages and disadvantages are highlighted, as well as the evolutionary trends of this biotechnological process.

Raw material

First generation

Alcohol is obtained by the process of fermentation of the sugars present in the different raw materials,

la dificultad para su comercialización está en el costo de la cosecha de las algas y los problemas que generan las algas contaminantes (Cheng y Timilsina 2011). Para etanol 4G hay vacíos en el conocimiento acerca de predecir el comportamiento de los microorganismos genéticamente modificados, potenciar sus características deseables y mantenerlas sin cambio con el tiempo (Peralta-Yahya *et al.*, 2012).

El objetivo de este ensayo es mostrar, analizar y discutir la información para la producción de etanol, en específico sobre las materias primas utilizadas en las diversas generaciones de su producción. En particular, se resaltan las ventajas y desventajas, así como las tendencias evolutivas de este proceso biotecnológico.

Materias primas

Primera generación

La obtención del alcohol es mediante el proceso de fermentación de los azúcares presentes en diferentes materias primas, que puedan ser metabolizados por microorganismos del género *Saccharomyces*, *Zymomonas*, *Kluyveromyces*, y *Zygosaccharomyces* (Cuadro 2).

Materias primas con azúcares fermentables disponibles.

Estos azúcares están presentes en la caña de azúcar, la remolacha azucarera y el sorgo dulce. El uso de estas materias primas solo requiere la molienda, la fermentación, la destilación, y la desnaturalización (para que no sea apto para consumo humano); además, para su utilización en mezclas con gasolina se debe deshidratar (Solomon *et al.*, 2007), lo cual es necesario para desplazar su punto azeotrópico. Los métodos de deshidratación son la adsorción con tamices moleculares, la pervaporación, la destilación al vacío, la destilación extractiva con solventes o con sales o con ambos a la vez. El etanol también se deshidrata con procesos híbridos que combinan dos o más de los procesos anteriores (Uyazán *et al.*, 2004).

En Brasil se investiga la disminución de los costos de producción del etanol mediante integración en el uso de la energía y sistemas de cogeneración en las plantas de producción (Cortes-Rodríguez *et al.*, 2018), y la disminución en gastos de vapor y agua (Pina *et al.*, 2017), o el uso del bagazo de la caña en la

which can be metabolized by microorganisms of the genera *Saccharomyces*, *Zymomonas*, *Kluyveromyces*, and *Zygosaccharomyces* (Table 2).

Raw materials with available fermentable sugars

These sugars are present in sugarcane, sugar beets and sweet sorghum. Use of these raw materials requires only milling, fermentation, distillation and denaturalization (so that it is not apt for human consumption). Moreover, for its use in mixtures with gasoline, it must be dehydrated (Solomon *et al.*, 2007), which is necessary to displace its azeotropic point. Methods of dehydration include adsorption with molecular meshes, pervaporation, vacuum distillation, extractive distillation with solvents or with salts or with both at the same time. Ethanol is also dehydrated with hybrid processes that combine two or more of the above processes (Uyazán *et al.*, 2004).

In Brazil, they are researching how to reduce ethanol production costs through integration in the use of energy and systems of co-generation in production plants (Cortes-Rodríguez *et al.*, 2018) and decreasing expenditures of vapor and water (Pina *et al.*, 2017), or the use of sugarcane bagasse in the integration of first generation (1G) and second generation (2G) ethanol production processes; 2G processes involve the use of lignocellulosic substrates (as will be discussed below) and the use of sweet sorghum as complementary raw material, grown in areas neighboring the sugarcane and harvested between cycles of the main crop (Jonker *et al.*, 2015). Also studied is the sustainable development and updating of the technologies of biorefineries for producing bioelectricity (Khawwaja *et al.*, 2016). After more than 50 years of experience with 1G ethanol, progress was oriented more toward optimization of the integral use of raw materials and the byproducts of the processes, integration of first generation processes with second generation processes, analysis of the effects of the varieties of the same raw material, crop conditions, harvest seasons and methods, and storage time of the raw material on ethanol yields (Gumienna *et al.*, 2016; Dos Passos Bernardes *et al.*, 2016). One important aspect is mechanized harvest of sugarcane, which increases the presence of inorganic compounds such as potassium, calcium, silica, iron and copper, relative

Cuadro 2. Microorganismos utilizados en la producción de etanol.
Table 2. Microorganisms used in ethanol production.

Microorganismo empleado	Sustrato	Referencia
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> and <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Melazas, jugo de caña, remolacha azucarera, naranja y arroz	(Jayaraman <i>et al.</i> , 2017)
<i>Zymomonas mobilis mutant</i>	Jugo de caña	(Rofiqah <i>et al.</i> , 2017)
<i>Saccharomyces Diasticus</i>	Jugo de anacardo	(Karuppaiya <i>et al.</i> , 2012)
<i>Pichia stipitis</i> NRRL-Y-7124 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> RL-11 <i>Kluyveromyces fragilis</i> Kf1	Residuos de la industria del café	(Mussatto <i>et al.</i> , 2012)
<i>Aspergillus awamori</i> <i>Rhizopus japonicus</i> <i>Zymomonas mobilis</i>	Almidón de papa	(Liu y Lien, 2016)
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i> <i>Kluyveromyces marxianus</i> <i>Ogataea (Hansenula)</i> <i>polymorpha</i> Dekkera <i>bruxellensis</i> <i>Pichia kudriavzevii</i> <i>Zygosaccharomyces bailii</i>	N/A	(Radecka <i>et al.</i> , 2015)

integración de los procesos de producción de etanol de primera generación (1G) y de segunda generación (2G), que es con el uso de sustratos lignocelulósicos (como se discutirá más adelante), y el uso del sorgo dulce como materia prima complementaria, sembrado en zonas aledañas a la caña y cosechado entre los ciclos del cultivo principal (Jonker *et al.*, 2015); así como el desarrollo sostenible y la actualización de las tecnologías de biorefinerías para producir bioelectricidad (Khatiwada *et al.*, 2016). Después de más de 50 años de experiencia con etanol 1G, los avances se orientan más en la optimización del uso integral de las materias primas y los subproductos de los procesos, en la integración de los procesos de primera generación con los de segunda generación, en el análisis de los efectos de las variedades de una misma materia prima, las condiciones del cultivo, las épocas y los métodos de cosecha, y los tiempos de almacenamiento de la materia prima, sobre los rendimientos del etanol (Gumienna *et al.*, 2016; Dos Passos Bernardes *et al.*, 2016). Un aspecto importante es la recolección mecanizada de la caña de azúcar, la cual aumenta la presencia de compuestos inorgánicos como potasio,

to the traditional process of burning and manual cutting. Thai *et al.* (2012) report increases of 13 % calcium, 32 % magnesium and 7.6 % silica in the sugarcane juice after mechanical harvesting, relative to traditional burning and cutting. These minerals affect fermentation because magnesium increases ethanol yield, but an excess of copper reduces yields to 0.35 g g⁻¹ (Costa *et al.*, 2015).

Interest in sweet sorghum and other sorghum types for ethanol production has increased. This crop can be grown with little water (compared with other cereals) and is highly efficient photosynthetically for conversion of CO₂ to biomass. Moreover, total sugar content of the juice of the sweet sorghum stem is comparable with that of sugarcane juice (Chuck-Hernandez *et al.*, 2012). Sugarcane processing machinery has been adapted to harvest and mill sweet sorghum. Peralta-Contreras *et al.* (2013) proposed designing machinery specifically for sorghum stems to improve juice extraction indexes. Sorghum has many qualities, but its high moisture content (70 %) and the low bulk density limit the distances within which transporting it after harvest is profitable

calcio, silicio, hierro y cobre, comparado con el proceso tradicional de quema y corte manual. Thai *et al.* (2012) reportaron un aumento de 13 % en calcio, 32 % en magnesio y 7.6 % en silicio en el jugo de la caña de recolección mecanizada con respecto a la quema y corte tradicionales. Estos minerales afectan la fermentación, porque el magnesio aumentó los rendimientos de etanol, pero el exceso de cobre lo disminuyó a 0.35 g g^{-1} (Costa *et al.*, 2015).

El interés en el sorgo dulce y otros tipos de sorgo para la producción de etanol ha aumentado. Este cultivo se desarrolla con poca cantidad de agua (comparado con otros cereales) y tiene una elevada eficiencia fotosintética para la conversión de CO_2 a biomasa; además, el contenido de azúcares totales del jugo del tallo del sorgo dulce es comparable con los del jugo de caña de azúcar (Chuck-Hernandez *et al.*, 2012). En la cosecha y la molienda del sorgo dulce se ha adaptado la maquinaria del proceso de la caña de azúcar, por lo que Peralta-Contreras *et al.* (2013) propusieron el diseño de maquinaria específica para los tallos del sorgo dulce que mejore los índices de extracción de jugo. El sorgo tiene muchas cualidades, pero el alto contenido de humedad (70 %) y la baja densidad aparente limitan las distancias en las que es rentable su transporte después de la cosecha (Chuck-Hernandez *et al.*, 2012; Zegada-Lizarazu y Monti 2012). Además, la conservación de los azúcares en los tallos de sorgo se dificulta porque las bacterias autóctonas del cultivo como el *Leuconostoc*, degradan gran proporción de azúcares durante el transporte y almacenamiento, y se han probado inhibidores del crecimiento de *Leuconostoc* durante el transporte del sorgo, uno de ellos es el gas de SO_2 ; sin embargo, el almacenamiento del gas en tanques herméticos en los lugares de acopio del sorgo, así como su eliminación al llegar a la planta de procesamiento, lo convierten en un sistema costoso (Lingle *et al.*, 2012).

Los jugos dulces ya extraídos pierden 20 % de su contenido de azúcares fermentables en 3 días a temperatura ambiente y de 40-50 % en 7 días (De Oliveira Filho *et al.*, 2016). Otros aspectos afectados son la disminución del pH, el aumento en la acidez total y en la cantidad de azúcares reductores. Además, la presencia de acetato de etilo, acetaldehído y carbamato de etilo en los jugos dulces tienen un efecto negativo en la fermentación, lo que produce rendimientos bajos (De Oliveira Filho *et al.*, 2016). Los jugos con el uso de molinos deben ser filtrados, clarificados y

(Chuck-Hernandez *et al.*, 2012; Zegada-Lizarazu and Monti 2012). Also, conservation of the sugars in the stems is difficult because the native bacteria of the crop, such as *Leuconostoc*, degrade a large proportion of sugars during transport and storage. Inhibitors of *Leuconostoc* growth during transport, such as SO_2 gas, have been tested. However, storing the gas in hermetic tanks at the sorghum collection sites, as well as its elimination when it arrives at the processing plant, make it an expensive system (Lingle *et al.*, 2012).

Extracted sweet juices lose 20 % of their fermentable sugar content in three days at ambient temperature and 40 % to 50 % in seven days (De Oliveira Filho *et al.*, 2016). Other affected aspects are decreased pH, increase in total acidity and quantity of reducing sugars. Furthermore, the presence of ethyl acetate, acetaldehyde and ethyl carbamate in sweet juices have a negative effect on fermentation, causing low yields (De Oliveira Filho *et al.*, 2016). Juices from milled material must be filtered, clarified and pasteurized. Filtering removes lignocellulosic fractions, leaves, dirt and other contaminants from the collection stage. Clarifying is done to eliminate inorganic compounds, and pasteurization eliminates the microorganisms present. For clarification, the processes of sedimentation, sulfation, and carbonation generate byproducts known as sludge. To generate less contaminating sludge from clarification, natural products are used, such as extracts from leaves and seeds of *Moringa oleifera* Lam., which remove more iron and calcium than synthetic polymers (Costa *et al.*, 2015). High-pressure treatment ($600 \text{ MPa } 6 \text{ min}^{-1}$) is an alternative to high temperatures for elimination of microorganisms and inactivating enzymes from sweet juices (Huang *et al.*, 2015). Also, ohmic heating for 1 min and 32 V cm^{-1} has been tested to inactivate polyphenol oxidase and reduce microorganisms (Saxena *et al.*, 2016). High-pressure methods and ohmic heating maintain juice quality stable and inhibit enzymatic activity, thus increasing its useful life in storage. Therefore, the search for methods of conserving raw materials and sweet juices for long periods without loss of fermentable sugars requires further study.

First generation technology has been applied industrially for 40 years. For this reason, besides the studies mentioned, there are many studies related to analysis of environmental problems this technology

pasteurizados. La filtración es para retirar fracciones lignocelulósicas, hojas, tierra y otros contaminantes de la etapa de recolección. La clarificación se hace para eliminar los compuestos inorgánicos, y la pasteurización elimina los microorganismos presentes. En la clarificación se usa sedimentación, sulfatación y carbonatación, que generan subproductos conocidos como lodos. Para generar lodos de clarificación menos contaminantes se utilizan productos naturales como los extractos de hojas y semillas de *Moringa oleífera Lam.*, los cuales producen una mayor remoción de hierro y calcio en comparación con los polímeros sintéticos (Costa *et al.*, 2015). El tratamiento con altas presiones (600 MPa 6 min⁻¹) es otro método para eliminar microorganismos e inactivar enzimas de los jugos dulces sin usar temperaturas altas (Huang *et al.*, 2015), así como el calentamiento óhmico por 1 min y 32 V cm⁻¹, el cual se probó para la inactivación de la polifenoloxidasas y la reducción de microorganismos (Saxena *et al.*, 2016). Los métodos de altas presiones y calentamiento óhmico mantienen estable la calidad del jugo e inhiben la actividad enzimática, lo que aumentó su vida útil en condiciones de almacenamiento. Por lo tanto, la búsqueda de métodos de conservación de materias primas y los jugos dulces por largos periodos, sin pérdida de los azúcares fermentables, requieren estudios adicionales.

La tecnología de primera generación se aplica industrialmente desde hace 40 años, por lo que además de los estudios ya mencionados, hay muchos relacionados con el análisis de los problemas ambientales que esta tecnología genera. Entre estos problemas está la biomasa producida, separada en el proceso de destilación y conocida como vinaza, y se genera una relación de 12 L vinaza L⁻¹ etanol (Silva *et al.* 2007). La vinaza es un líquido con partículas en suspensión, con pH ácido y alta demanda química de oxígeno (DQO) por la materia orgánica presente. Hace 40 años la vinaza era un residuo líquido muy contaminante que causaba serios problemas ambientales en los mantos acuíferos donde se descargaba, y su disposición final era un problema por la poca tecnología para tratarlo y los altos costos; esto cambió porque surgieron nuevas tecnologías con mejores resultados que disminuyeron los costos de operación. Para el tratamiento de los residuos de la fermentación alcohólica se han probado métodos fisicoquímicos, químicos y biológicos, y los últimos son los más apropiados por la gran cantidad de compuestos orgánicos

generates. Among these problems is the biomass produced, separated in the process of distillation and known as vinasse, which is produced at a ratio of 12 L vinasse L⁻¹ ethanol (Silva *et al.* 2007). Vinasse is a liquid with suspended particles, acid pH and high chemical oxygen demand (COD) because of the organic matter present. Forty years ago, vinasse was a highly contaminating liquid residue that caused serious environmental problems in the aquifers where it was discharged. Its final disposal was a problem because there was little technology to treat it and costs were high. This situation changed because of new technologies with better results that decreased operation costs. To treat residues of alcoholic fermentation, physicochemical, chemical and biological methods were tested. The biological methods are the most appropriate due to the large quantity of organic biodegradable compounds present in their composition (Sheehan and Greenfield, 1980). Several alternatives were proposed for the treatment or reuse of vinasses, among which is feeding chickens (Hidalgo *et al.* 2009), production of biogas (Cruz-Salomón *et al.*, 2017), and fertigation (Mijangos *et al.*, 2014). In addition, standardized methods were created to analyze life cycles to determine entrance and exits of energy, evaluate generation of byproducts and residues in the entire supply chain, and minimize impacts from crop establishment to consumption of fuel ethanol (Cavalett *et al.*, 2012; Gallejones *et al.*, 2015; Miret *et al.*, 2016).

From the above, it can be inferred that the main interests concerning raw materials with high fermentable sugar content are increasing yields, improving energy balances, diversifying raw materials, and diminishing environmental impact.

Raw materials with high starch content

Other first-generation sources used to obtain ethanol are raw materials that have a high starch content, such as cereals, tubers and rhizomes. For these raw materials, the following steps are used for ethanol production: milling, liquification, saccharification, fermentation, distillation and dehydration. The country with more published studies on ethanol from starch between 2012 and 2015 was China, the US and India with 187, 181 and 74 published documents, respectively. The main research topics center in three fundamental

biodegradables presentes en su composición (Sheehan y Greenfield, 1980). Varias alternativas se han propuesto para el tratamiento o reutilización de las vinazas entre los que se encuentra su uso para alimentación de pollos (Hidalgo *et al.* 2009), producción de biogás (Cruz-Salomón *et al.*, 2017), o fertirriego (Mijangos *et al.*, 2014). Además, se han creado métodos estandarizados de análisis de ciclo de vida para determinar las entradas y salidas de energía, evaluar la generación de subproductos y residuos en toda la cadena de suministro, y minimizar los impactos desde el establecimiento del cultivo hasta el consumo del etanol combustible (Cavalett *et al.*, 2012; Gallejones *et al.*, 2015; Miret *et al.*, 2016).

De lo anterior, se infiere que los principales intereses con las materias primas con un contenido alto de azúcares fermentables son el incremento de los rendimientos, la mejora de los balances energéticos, la diversificación de materias primas y la disminución en el impacto ambiental.

Materias primas con contenido alto de almidón

Otras fuentes usadas para obtener etanol, consideradas de primera generación, son las materias primas con contenido alto de almidón, como los cereales, tubérculos y rizomas. Para estas materias primas se deben utilizar las siguientes etapas en la producción de etanol: molienda, licuefacción, sacarificación, fermentación, destilación y deshidratación. Los países con más estudios publicados desde el 2012 hasta 2015, en el tema de etanol a partir de almidón, son China, EUA, y la India con 187, 181 y 74 documentos publicados, respectivamente. Los principales temas de investigación se centran en tres áreas fundamentales: la comprensión de los aspectos agronómicos y su efecto en los rendimientos de etanol, nuevas operaciones en los procesos industriales, y nuevas técnicas de laboratorio para predecir contenidos de almidón y rendimiento de etanol.

En agronomía resalta el estudio de maíz y sorgo con varios enfoques, sobre todo en el rendimiento final del etanol; por ejemplo, los efectos del déficit de irrigación (Liu *et al.*, 2013), el contenido de humedad al momento de la cosecha (Huang *et al.*, 2012), infecciones fúngicas y la madurez de cosecha (Dien *et al.*, 2012). En otros cereales se analizó el arroz transgénico con contenido alto de carbohidratos para evaluar sus rendimientos en etanol (Kim *et al.*, 2015).

areas: understanding agronomic aspects and their effect on ethanol yields, new operations in industrial processes, and new laboratory techniques to predict starch contents and ethanol yields.

In agronomy, the study of maize and sorghum with several focuses is highlighted, especially on final ethanol yield, for example effects of deficient irrigation (Liu *et al.*, 2013), content of moisture at harvest (Huang *et al.*, 2012), fungus infections and harvest maturity (Dien *et al.*, 2012). In other cereals, transgenic rice with high carbohydrate content was analyzed to evaluate its ethanol yields (Kim *et al.*, 2015).

In industry, the method most used to fragment the cereals is dry milling (Orts and McMahan 2016), in which whole cereal grains are converted into flour, which is processed without separating the grain components. The flour is mixed with water to form a paste and α -amylase, pullulanase and amyl glycosidase are added to convert the starch into glucose. Ammonia is added to the process as a nitrogen source for the yeast and to control system pH. This high-glucose mixture is converted to ethanol by action of the yeast, while the solid residue, which has high fiber, lipid and protein contents, is toasted and converted into a byproduct known as distillers degraded grain soluble (DDGS). DDGS are mixed with syrup from the process and sold as a supplement for livestock. Wet milling is less used because of its high cost and water consumption, but starch from the grains is isolated and ethanol yield is higher (Kandil *et al.*, 2011). Dry milling begins the process with starch, which is mixed with lipids and proteins, and in the processes of liquefaction and saccharification these macromolecules decrease enzyme activity because they act as inhibitors of the process (Srichuwong *et al.*, 2010). For this reason, we recommend investigating the interactions of the non-starch components (lipids and proteins) with starch and their effects during hydrolysis. To understand whether pigments are also inhibitors of the process Wang *et al.* (2016) validated the use of pigmented sorghum and determined that the high content of anthocyanins had no effect on ethanol yield.

In the industrial stage there are innovative methods for extracting fermentable sugars and non-structured carbohydrates with a diffusion process that uses biomass from chopped sweet sorghum stems and grains (Appiah-Nkansah *et al.*, 2016).

En la industria, el método más usado para fragmentar los cereales es la molienda seca (Orts y McMahan 2016), en la cual los granos de cereales enteros son convertidos en harinas, que son procesadas sin separar todos los componentes del grano. Las harinas son mezcladas con agua para formar una masa y se agregan α -amilasa, pululanasa y amiloglucosidasa para convertir el almidón en glucosa, a este proceso se adiciona amoníaco como fuente de nitrógeno para la levadura y para controlar el pH del sistema. Esta mezcla con alto contenido de glucosa es convertida en etanol por acción de la levadura, mientras el residuo sólido, con alto contenido de fibra, lípidos y proteína, es tostado y convertido en un subproducto conocido como granos gastados de destilería (DDG, por sus siglas en inglés) o granos gastados de destilería con solubles (DDGS, por sus siglas en inglés). Los DDG son mezclados con jarabe del proceso y se venden como suplemento para especies pecuarias. La molienda húmeda es un método menos usado por sus altos costos y consumo de agua, pero se aísla el almidón de los granos y el rendimiento de etanol es mayor (Kandil *et al.*, 2011). La molienda seca aborda el proceso con almidón que está mezclado con lípidos y proteínas, y en los procesos de licuefacción y sacarificación estas macromoléculas disminuyen la actividad de las enzimas porque actúan como inhibidores del proceso (Srichuwong *et al.*, 2010). Por esta razón se recomienda investigar las interacciones de los componentes no amiláceos (lípidos y proteínas) con el almidón y sus efectos durante su hidrólisis. Para entender si los pigmentos también pueden ser inhibidores del proceso, Wang *et al.* (2016) validaron el uso de sorgo pigmentado y determinaron que el alto contenido de antocianinas no tuvo efecto en el rendimiento de etanol.

En la etapa industrial hay métodos innovadores para extraer azúcares fermentables y carbohidratos no estructurales mediante el proceso de difusión a partir de biomasa de sorgo dulce picado y sus granos (Appiah-Nkansah *et al.*, 2016). El proceso de molienda y la eliminación de barreras físicas que limiten la interacción de las enzimas con el almidón se ha estudiado y, según Chuck *et al.* (2012), el rendimiento de etanol se mejora mediante decorticación del grano de sorgo. En los estudios mencionados se comparan tecnologías de tratamiento de los cereales y los rendimientos de etanol, disminuyen los gastos energéticos y aumentan los rendimientos de etanol; pero el análisis

The process of milling and elimination of physical barriers that limit interaction of enzymes with the starch was studied and, according to Chuck *et al.* (2012), ethanol yield improves when the sorghum grains are decorticated. In the studies mentioned, cereal treatment technologies and ethanol yield are compared; energy expenditures decrease and ethanol yields increase. However, quantitative analysis of expenditures and comparison of different process proposals should be studied. It is also necessary to evaluate water balances and economic analyses of the process before initiating industrial scaling.

In the laboratory, development of a practical method of detecting approximate starch and ethanol contents using spectroscopy FT-NIR is highlighted (Li *et al.*, 2015). This could speed up industrial scale analysis to control the ethanol production process systematically.

Fruits, rhizomes, roots and tubers are non-conventional sources of starch used particularly in tropical countries. Graefe *et al.* (2011) analyzed ethanol production from bananas in Costa Rica and Ecuador. Bananas have an advantage over tubers because of their ripening and, because they are climacteric, they naturally hydrolyze starch and thus no enzyme treatment is required to reach the fermentable sugars (Asiedu, 1987; Bugaud *et al.*, 2009). Production of ethanol from bananas at different stages of ripeness showed that the highest ethanol yield was from green bananas, immediately after harvesting. Ethanol yield from overripe bananas was 23 % less than with immature bananas. This result is attributed to a decrease in dry-base matter because of the metabolic activity during ripening (Hammond *et al.*, 1996). Due the higher yields, it is recommended to used green bananas to produce ethanol. However, technical problems exist, such as peeling the fruit because the shape of the bananas makes automatizing the process difficult, and the peel is strongly attached to the pulp at that physiological stage of the fruit.

One problem of biotechnological processes is inhibition by the end-product. In the measure that alcoholic fermentation occurs, ethanol is produced, which inhibits the metabolic pathway and the process of bioconversion is detained until it causes cell death. A method used to decrease this inhibition is to ferment the sugars immediately after their release. This is achieved by simultaneous saccharification

cuantitativo de los gastos energéticos y su comparación entre las diferentes propuestas de proceso debe ser estudiado. También es necesario evaluar los balances de agua y análisis económicos del proceso, para iniciar su escalamiento industrial.

En técnicas de laboratorio resalta el desarrollo de un método práctico para la detección aproximada del contenido de almidón y de etanol mediante espectroscopia FT-NIR (Li *et al.*, 2015). Esto podrá agilizar los análisis a escala industrial para controlar el proceso de producción de etanol de forma sistemática.

Los frutos, rizomas, raíces y tubérculos son fuentes no convencionales para extracción de almidón, usados sobre todo en países tropicales. Graefe *et al.* (2011) analizaron la producción de etanol a partir de plátano en Costa Rica y Ecuador. El plátano tiene ventaja sobre los tubérculos debido a su maduración y por ser climatérico, hidroliza naturalmente el almidón, por lo cual no requiere tratamiento enzimático para llegar a los azúcares fermentables (Asiedu, 1987; Bugaud *et al.*, 2009). La producción de etanol de plátano en los estados de maduración mostró que el máximo rendimiento de etanol fue con plátanos totalmente inmaduros, inmediatamente después de cosechar; el rendimiento de etanol de plátanos sobremaduros fue 23 % menor que el de los inmaduros, lo que se atribuyó a la disminución de materia en base seca, debida a la actividad metabólica durante la maduración (Hammond *et al.*, 1996). Debido a los resultados de mayor rendimiento se recomienda usar plátano inmaduro (verde) para producir etanol, pero hay problemas técnicos como el pelado del fruto porque la forma de los plátanos dificulta la automatización del proceso y, además, la cáscara está muy adherida a la pulpa por el estado fisiológico del fruto.

Un problema de los procesos biotecnológicos es la inhibición por producto. A medida que se realiza la fermentación alcohólica se produce etanol, el cual inhibe la ruta metabólica y se detiene el proceso de bioconversión hasta ocasionar la muerte celular. Un método usado para disminuir esta inhibición es fermentar los azúcares inmediatamente después de su liberación. Esto se logra mediante sacarificación y fermentación simultánea (SSF, por sus siglas en inglés), se producen los azúcares fermentables mediante la hidrólisis del almidón y se realiza la fermentación por la levadura en el mismo reactor. Varias materias primas se han procesado así y los resultados son mejores

and fermentation (SSF). Fermentable sugars are produced by starch hydrolysis, and fermentation is carried out in the same reactor. Several raw materials were processed in this way, and the results are better than separate saccharification and fermentation. With green bananas, theoretic ethanol efficiencies above 95 % were obtained in an enzyme SSF system and the use of glucoamylases, pectinolytic enzymes and yeast (Bello *et al.*, 2012). Feasibility of a non-domesticated variety of mandioca (*Manihot glaziovii*), as a non-food raw material with a high starch content, was evaluated for production of ethanol by SSF. Ethanol concentrations of 190 g L⁻¹ were obtained. Another technological development in inhibitors is *Zimomonas mobilis* bacteria isolated from the African palm and Mexican pulque. They are osmotolerant and resistant to high concentrations of ethanol and permit fermentation at high concentrations, or very high gravity (VHG). The advantage is that at high sugar concentrations (up to 360 g L⁻¹) there is no contamination by other bacteria. In these conditions, ethanol concentration from sweet sorghum was 17.6% v/v (Deesuth *et al.*, 2016). Process integration can produce better yields than individual processes. Chu-ky *et al.* (2016) tested simultaneous very high gravity liquefaction, saccharification and fermentation (SLSF-VHG) in rice by-products (broken rice grain) and obtained a theoretical 83.2% ethanol.

In Brazil and Colombia new sources and methods for ethanol production are being sought. Soccol (1997) achieved degradation of raw mandioca starch granules during fermentation in solid state with amyloglucosidase from *Rhizopus oryzae*. Cinelli *et al.* (2015) described the method of cold hydrolysis of starches in which the process' energy demand decreases because of starch hydrolysis at temperatures below its gelling temperature, that is, with starch in its granular form. This technology generates another perspective of the process as an alternative method that can be carried out without the liquefaction stage, which is achieved through amylolytic enzyme complexes composed of endo-amylases, exo-amylases and debranching enzymes. In Indonesia, Jusuf and Ginting (2014) and Kusmiyati (2015) studied sweet potato (*Ipomoea batatas L.*) and the tuber Iles Iles (*Amorphophalus campanulatus*), respectively, as sources for ethanol production. These tubers have high potential for transformation because of their

que con la sacarificación y fermentación por separado. Con plátanos verdes se consiguieron eficiencias teóricas de etanol superiores al 95 % en un sistema enzimático de SSF y uso de glucoamilasas, enzimas pectinolíticas y levadura (Bello *et al.*, 2012). Como materia prima no alimentaria, se evaluó la factibilidad de una variedad de yuca no domesticada (*Manihot glaziovii*), con alto contenido de almidón, para la producción de etanol por medio de SSF y se obtuvieron concentraciones de etanol de 190 g L⁻¹. Otro desarrollo tecnológico en inhibidores es la bacteria *Zimomonas mobilis* aislada del vino de palma africana y del pulque mexicano, presenta osmotolerancia y resistencia a las altas concentraciones de etanol, permite la fermentación a altas concentraciones, o fermentación de alta densidad (VHG, por sus siglas en inglés), cuya ventaja es tener concentraciones altas de azúcares (hasta 360 g L⁻¹) por lo cual no presenta contaminación por otras bacterias; en estas condiciones la concentración de etanol fue 17.6 % v/v desde sorgo dulce (Deesuth *et al.*, 2016). La integración de procesos puede presentar mejores rendimientos que los procesos individuales; así, Chu-ky *et al.* (2016) probaron la licuefacción, sacarificación y fermentación de alta densidad simultáneas (SLSF-VHG por sus siglas en inglés) en subproductos del arroz (arroz quebrado) y obtuvieron 83.2 % del etanol teórico.

En Brasil y Colombia se buscan nuevas fuentes y métodos para la producción de etanol. Soccol (1997) logró la degradación de gránulos de almidón crudo de yuca durante la fermentación en estado sólido con glucoamilasa de *Rhizopus oryzae*. Además, Cinelli *et al.* (2015) describieron el método de hidrólisis fría de almidones, en el cual disminuye la demanda de energía del proceso por una hidrólisis del almidón a temperaturas inferiores a su temperatura de gelatinización, es decir, con el almidón en su forma granular. Esta tecnología genera otra perspectiva del proceso por ser un método alternativo que se puede realizar sin la etapa de licuefacción, lo que se logra mediante complejos enzimáticos amilolíticos compuestos de endoamilasas, exoamilasas y enzimas desramificantes. En Indonesia, Jusuf y Ginting (2014) y Kusmiyati (2015) estudiaron la papa dulce (*Ipomoea batatas* L.) y el tubérculo Iles Iles (*Amorphophalus campanulatus*), respectivamente, como fuentes para la producción de etanol. Estos tubérculos tienen gran potencial para su transformación a etanol por su rendimiento alto por unidad de área cultivada; la papa dulce tiene un

high yield per unit of cultivated area. Sweet potatoes yield more than 30 t ha⁻¹ of tubers, which are 22.5 % starch, wet base, while Iles Iles has the advantage of being cheap and not used for human food. As an alternative source, ethanol yield of starch extracted from Taro corm (*Colocasia esculenta*), a perennial plant of the Araceae family was evaluated. Taro is cultivated in the tropics and subtropics of South America, Asia, Oceania and Africa (Wu *et al.*, 2016). With this raw material, theoretic yields of 94.2% ethanol were achieved, an attractive yield for ethanol production.

Second generation

In the last decade, most of the research in liquid fuels evaluated the commercialization of ethanol produced with farm residues (cereal straw, leaves and dry branches of forest crops) or industrial residues (sugarcane bagasse and DDGS), composed mainly of cellulose, hemicellulose and lignin; these biofuels are 2G.

The amount of residue generated by an industry and that can be used to produce 2G ethanol is illustrated by Brazilian ethanol production units, which processed more than 602 x10⁶ t of sugarcane and produced 24 x 10⁹ L of ethanol from 2013 to 2014. Each ton of sugarcane processed generates 270 to 280 kg of bagasse (Canilha *et al.*, 2012), demonstrating the high potential of residual biomass for 2G ethanol production with these lignocellulosic residues.

These residues are the source for cogeneration of heat and electricity in distilleries through thermochemical processes, such as direct combustion, pyrolysis or gasification (Henrique *et al.*, 2014), but their biochemical transformation has certain technical limitations due to the chemical nature of the lignocellulosic residues, which is heterogeneous and different pretreatments, or modifications to the raw material, must be applied. It is necessary to conduct laboratory studies that show the technical feasibility of bioconversion of lignocellulosic residues to ethanol.

Enzyme hydrolysis of cellulose is a limiting step in 2G ethanol production because it needs complex enzymatic cocktails to de-polymerize the residues, in addition to the complexity of the structural arrangement of the components of the lignocellulosic

rendimiento mayor a 30 t ha⁻¹ de tubérculo con 22.5 % almidón en base húmeda, mientras que el *Iles Iles* tiene la ventaja de ser económico y no se usa en la alimentación humana. Como fuente alternativa se evaluó el rendimiento de etanol desde almidón extraído del cormo del Taro (*Colocasia esculenta*), planta perenne de la familia Araceae, cultivada en el trópico y el subtropical en Sudamérica, Asia, Oceanía y África (Wu *et al.*, 2016). Con esta materia prima se lograron rendimientos de 94.2 % del etanol teórico, lo cual es atractiva para la producción de etanol.

Segunda generación

En la década pasada, la mayor parte de la investigación en combustibles líquidos fue para evaluar la comercialización de etanol producido con residuos agrícolas (rastrajo de los cultivos de cereales, hojas y ramas secas de cultivos forestales) o residuos industriales (bagazo de caña y granos gastados de destilería), compuestos principalmente por celulosa, hemicelulosa, y lignina, y estos biocombustibles son de 2G.

Una muestra de la cantidad de residuos generados por una industria y que se pueden usar para producir etanol 2G, es que las unidades de producción de etanol de Brasil procesaron de 2013 a 2014 más de 602 x10⁶ t de caña de azúcar y produjeron 24 x 10⁹ L de etanol. Cada tonelada de caña de azúcar procesada genera 270-280 kg de bagazo (Canilha *et al.*, 2012), lo cual muestra el gran potencial de biomasa residual para producir etanol 2G con estos residuos lignocelulósicos.

Estos residuos son fuente para la cogeneración de calor y electricidad en las destilerías mediante procesos termoquímicos como combustión directa, pirólisis o gasificación (Henrique *et al.*, 2014), pero su transformación bioquímica tiene ciertas limitaciones técnicas debido a la naturaleza química de los residuos lignocelulósicos, la cual es heterogénea y se tienen que aplicar pretratamientos diferentes o con ciertas modificaciones para cada materia prima. Por eso, es necesario realizar estudios en laboratorio que demuestren la factibilidad técnica de realizar la bioconversión de los residuos lignocelulósicos a etanol.

La hidrólisis enzimática de la celulosa es un paso limitante en la producción de etanol 2G, debido a que se necesitan cocteles enzimáticos complejos para su despolimerización, aunado a la complejidad del

residues that make hydrolysis difficult. Lignin is a main component of these residues, forming a structural arrangement together with the cellulose and the hemicellulose that makes it difficult for cellulases to access the cellulose hydrolyze it to glucose. Moreover, some cellulolytic enzymes are often adsorbed by the hydrophobic surface of lignin that, therefore, prevents them from acting on cellulose (Huron *et al.*, 2016). Phenolic compounds (tannins) of lignin, when de-polymerized, also become inhibitors of fermentation, so that the effects and interactions of the inhibitors of the processes of fermentation should be analyzed and understood to enable improvement of production yields.

As mentioned in the section about the first generation, green or immature banana pulp can be used to produce ethanol, but one of the limiting steps is the peeling process. Eliminating the banana peel can be avoided because both the banana peel and the pulp have high carbohydrate content (Gebregergs *et al.*, 2016), and both parts have been studied for ethanol production (Parthiban *et al.*, 2011). Therefore, ethanol can be obtained from unpeeled green bananas. However, it should be taken into account that some carbohydrates in the pulp and peel of green bananas are complex polysaccharides and cannot be metabolized by yeasts. For this reason, it is necessary to hydrolyze the lignin, the cellulose and pectin to convert them into simple sugars. This is an example of a raw material for ethanol production found in 1G and 2G groups.

Milling bananas with their peel has technical problems derived from the high viscosity and presence of fibers during and after milling (Afanador, 2005). Oberoi *et al.* (2011) report the use of dryers such as electric ovens to obtain a dry brittle material that can be ground in laboratory mills, but in industrial processing this would increase energy costs. Here, there is a knowledge gap regarding decreasing viscosity in this step of the process without drying and milling or the use of alternative energy (solar energy, for example) for the drying process.

Second generation technology has given way to the concept of biorefineries because through 2G processes ethanol is obtained as well as methanol, synthesis gas, 2,5-dimethylfuran and tannins, a determining factor for obtaining diverse products from lignocellulosic raw materials. In this sense, one of the goals is to integrate 1G and 2G

arreglo estructural de los componentes de los residuos lignocelulósicos que dificulta su hidrólisis. La lignina, un componente principal de estos residuos, forma un arreglo estructural junto con la celulosa y la hemicelulosa, que dificulta el acceso de las celulasas para realizar la hidrólisis de la celulosa hasta glucosa. Además, algunas enzimas celulolíticas suelen ser adsorbidas por la superficie hidrofóbica de la lignina y, por lo tanto, evita su acción sobre la celulosa (Huron *et al.*, 2016). Los compuestos fenólicos (taninos) de la lignina, al ser despolimerizados se convierten también en inhibidores de la fermentación, por lo que los efectos y las interacciones de los inhibidores en los procesos de fermentación deben ser analizados y entendidos para mejorar los rendimientos de producción.

Como se mencionó en la sección de primera generación, la pulpa de plátano en estado verde o inmaduro se puede utilizar para producir etanol, pero una etapa limitante es el proceso de pelado o eliminación de la cáscara del fruto. El proceso de pelado se puede evitar porque la cáscara y la pulpa del plátano tienen contenido alto de carbohidratos (Gebregergs *et al.*, 2016), y se ha estudiado cada parte para la producción de etanol (Parthiban *et al.*, 2011). Por lo tanto, se puede obtener etanol desde plátanos verdes con cáscara. Pero se debe considerar que algunos carbohidratos en la pulpa y la cáscara de los plátanos verdes son polisacáridos complejos, y algunos de ellos no son metabolizados por las levaduras, por lo que es necesario hidrolizar la lignina, la celulosa y pectinas para convertirlos en azúcares simples. Este es un ejemplo donde la materia prima utilizada para la producción de etanol se encuentra en los grupos 1G y 2G.

La molienda de plátanos con su cáscara presenta problemas técnicos derivados de la alta viscosidad y presencia de fibras durante y después de la molienda (Afanador, 2005). Oberoi *et al.* (2011) reportaron el uso de secadores como hornos eléctricos para obtener un material seco y quebradizo, susceptible de triturado en molinos de laboratorio, pero en la industria este proceso incrementaría los costos energéticos. Aquí hay un vacío en el conocimiento con respecto a la disminución de la viscosidad en esta etapa del proceso, sin realizar un secado y molienda, o la utilización de energías alternativas (por ejemplo energía solar) para el proceso de secado.

technologies. Flório and Junior (2013) performed a heat analysis of production of electricity and 2G ethanol from sugarcane bagasse and obtained better heat effectivity since, besides fermenting sugarcane sucrose and the glucoses that constitute cellulose, the process was optimized, and they sought to ferment pentoses (mainly xylose) that form a structural part of the hemicellulose. The process of bioethanol production was simulated with the mixture glucose/xylose, and the effect of temperature, pH and sugar concentrations was evaluated. The variables of the process were reproduced using different conditions of operation and it was demonstrated that simulation is a useful tool for generating an optimal profile of alcoholic fermentation with the glucose/xylose mixture (Reyes *et al.*, 2016).

With the concept of biorefinery, Xu *et al.* (2018) propose obtaining diverse products from lignocellulosic raw material using a modified method of simultaneous saccharification and fermentation (MSSF), which involves ecological technologies like hydrothermal pre-treatments and organic solvents for production of a high cellulose content solid to be transformed into ethanol. In addition, solvents are recycled to produce adhesives based on plant proteins, and the xylose present in the aqueous phase is used to obtain furfural. This type of integrated proposals may be attractive for promoting commercial ethanol production from lignocellulosic biomass.

Saccharomyces cerevisiae and *Zymomonas mobilis*, used to ferment hexoses, cannot use pentoses as a substrate because the metabolic route for pentose conversion is unlike that of hexoses. For this reason, other yeasts and bacteria are being studied. *Candida shehatae* (Guan *et al.*, 2013) and *Pichia stipitis* (Travaini *et al.*, 2016) have a high potential for fermenting pentoses; their disadvantage is their low tolerance to ethanol, and in the processes with these microorganisms inhibition by the end-product occurs. As a solution to this technical problem, *Kluveromyces marxianus* yeast has been proposed; it tolerates ethanol and can ferment hexoses and pentoses (Lin *et al.*, 2013). To increase use of pentoses, process integration through use of fungi that metabolize wood without pre-treating the lignin is being investigated. Mattila *et al.* (2017) used a single step and a single microorganism for production of bioethanol with phlebioid fungus species, achieving an ethanol yield of 5.9 g L⁻¹.

La tecnología 2G ha dado lugar al concepto de biorefinerías, porque mediante los procesos de segunda generación se obtiene etanol y también metanol, gas de síntesis, 2,5-dimetilfurano y taninos, lo cual es un factor determinante para obtener diversos productos a partir de materias primas lignocelulósicas; en este sentido se busca la integración de las tecnologías 1G y 2G. Flório y Junior (2013) hicieron un análisis térmico de la producción de electricidad y etanol de segunda generación a partir de bagazo de caña, y se obtuvo una mejor efectividad térmica, ya que además de fermentar la sacarosa del jugo de caña y las glucosas constituyentes de la celulosa, se optimizó el proceso y se buscó fermentar las pentosas (principalmente xilosa) que forman parte estructural de la hemicelulosa. El proceso de producción de bioetanol se simuló a partir de la mezcla glucosa/xilosa y se evaluó el efecto de la temperatura, el pH y la concentración de azúcares. Las variables del proceso se reprodujeron utilizando diferentes condiciones de operación y se demostró que la simulación es una herramienta útil para generar un perfil óptimo de la fermentación alcohólica con la mezcla glucosa/xilosa (Reyes *et al.*, 2016).

También, con el concepto de biorefinería, Xu *et al.* (2018) proponen la obtención de diversos productos a partir de materias primas lignocelulósicas; un método modificado de sacarificación fermentación simultánea (MSSF), que involucra tecnologías ecológicas como pretratamientos hidrotérmicos y organosolventes, para producir un sólido con alto contenido de celulosa, para ser transformado en etanol, además del reciclado de solventes para la producción de adhesivos basados en proteínas vegetales, así como la xilosa presente en la fase acuosa para la obtención de furfural. Este tipo de propuestas integrales pueden ser atractivas para promover la producción de etanol a nivel comercial, partiendo de biomasa lignocelulósica.

Saccharomyces cerevisiae y *Zymomonas mobilis*, usados para fermentar las hexosas, no pueden usar las pentosas como sustrato porque la ruta metabólica para la conversión de las pentosas es diferente a la de las hexosas, por lo cual se investigan otras levaduras y bacterias. *Candida shehatae* (Guan *et al.*, 2013) y *Pichia stipitis* (Travaini *et al.*, 2016) presentan alto potencial para fermentar pentosas, con la desventaja de su baja tolerancia al etanol, por lo que en los procesos con estos microorganismos se presenta inhibición

Third generation

The search for raw materials for ethanol production has increased interest in rapid generation of biomass with high energy density (energy crops). Among these crops are found perennial grasses, micro- and macro-algae, and cyanobacteria, all grouped in the denomination of third generation (3G) biofuels. Algae are not seen as raw material for ethanol production, but as producers of hydrogen as the substrate for thermochemical conversion and as lipids for biodiesel (Brennan and Owende 2010). Starches can be obtained by converting biomass from macroalgae. The starches are then hydrolyzed and fermented to produce bioethanol (Adams *et al.*, 2009; Khambhaty *et al.*, 2013; Scholz *et al.*, 2013; Sudhakar *et al.*, 2016) and biobutanol, which has a higher energy density and greater compatibility with gasoline than bioethanol ((Dürre, 2008). One study on the economic feasibility of microalgae as raw material for biorefineries was reported by Konda *et al.* (2015). They highlight the potential advantages of producing a broad portfolio of chemical products from microalgae to give economic viability to industrial clusters denominated biorefineries. In the laboratory, isolated alga strains are handled, but in natural conditions water sources have a problem called eutrophication, which is the proliferation of algae because of excess nutrients in the water. To solve this problem, using these algae was proposed for ethanol production and water quality improvement. Chen *et al.* (2017) patented a pre-treatment technique using electro-coagulation and acid saccharification of algae in lakes. They obtained up to 156 mg glucose g⁻¹ of algae, which is available for transformation to ethanol. The type of macroalgae most used industrially are seaweeds, which are pluricellular organisms that efficiently convert nutrients in the water and CO₂ into biomass. There are around 9200 species of seaweed, but only 221 are economically important (Mohammed, 2013). Macroalgae are raw material for bioethanol production because they do not have a high content of lipids, as do microalgae, but they do have a high content of sugars and other carbohydrates that can be fermented. The alga growth variables studied are those that affect production of carbohydrates, such as light, temperature, nutrients, salinity and pH. With respect to the effect of light, according to

por producto. Como solución a este problema técnico, levaduras *Kluveromyces marxianus* tienen tolerancia al etanol y pueden fermentar hexosas y pentosas (Lin *et al.*, 2013). Para aumentar la utilización de las pentosas también se busca integrar procesos con la utilización de hongos que metabolicen la madera sin pretratamiento de la lignina. Así, en el estudio de Mattila *et al.* (2017) se utiliza un solo paso y un solo microorganismo para la producción de bioetanol con especies fúngicas fleboides, que alcanzaron un rendimiento de etanol de 5.9 g L^{-1} .

Tercera generación

La búsqueda de materias primas para producir etanol ha aumentado el interés de rápida generación de biomasa con alta densidad energética (desarrollo de cultivos energéticos). Entre estos cultivos se encuentran los pastos perennes, las micro y macro algas, y las cianobacterias; todos agrupados en la denominación de biocombustibles de tercera generación (3G). Las algas no son vistas como materia prima para producción de etanol, sino como productoras de hidrógeno, como sustrato para conversión termoquímica y como lípidos para biodiesel (Brennan y Owende 2010). De la conversión de biomasa de macro algas se puede obtener almidones que son hidrolizados y fermentados para producir bioetanol (Adams *et al.*, 2009; Khambhaty *et al.*, 2013; Scholz *et al.*, 2013; Sudhakar *et al.*, 2016), y biobutanol que tiene mayor densidad energética y mayor compatibilidad con la gasolina que el bioetanol (Dürre, 2008). Una investigación de la factibilidad económica de las microalgas como materia prima para biorefinerías fue reportada por Konda *et al.* (2015); ellos resaltan las ventajas potenciales de producir una amplia cartera de productos químicos desde microalgas, para darle viabilidad económica a clústeres industriales denominados biorefinerías. En el laboratorio se manejan cepas de algas aisladas, pero en condiciones naturales existe un problema de las fuentes hídricas llamado eutrofización, que es la proliferación de algas por exceso de nutrientes en el agua. Para solucionar este problema, se propone usar estas algas en la producción de etanol y mejorar la calidad del agua. Chen *et al.* (2017) patentaron una técnica de pretratamiento con electrocoagulación y sacarificación ácida de algas de los lagos y obtuvieron hasta $156 \text{ mg glucosa g}^{-1}$ de alga, que están disponibles para su transformación

George *et al.* (2014), a photosynthetic light intensity of $60 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ and 12:12 h (light:dark) cycles achieved a biomass production of $7.9 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ with *Ankistrodesmus falcatus*. It is important to consider that the pretreatments, liquefaction and saccharification of the macroalgae have difficulties similar to those of the second-generation raw materials since they also contained polysaccharides that must be hydrolyzed to fermentable sugars, an aspect that requires more research. Microalgae have a high content of lipids, but also of carbohydrates. For this reason, *Scenedesmus* sp. has been proposed as raw material for integrated production of ethanol and biodiesel (Sivaramakrishnan and Incharoensakdi, 2018).

Another high-density crop in lakes and lagoons is water hyacinth (*Eichhornia crassipes*), which is an environmental problem because of its high growth rate; it prevents light and oxygen from penetrating these bodies of water and cause the death of other species in these ecosystems. Water hyacinth is composed mainly of cellulose, which can be converted to glucose, the fermentable substrate for ethanol production (Zhang *et al.*, 2018). Different pre-treatments were tested for water hyacinth, and the most effective was the combination of diluted acid and microorganisms (*Phanerochaete chrysosporium*), which resulted in highly purified cellulose (39.4 %) and high content of reducing sugars (430.66 mg g^{-1}).

Fourth generation

Advances in bioengineering have led to the concept of fourth generation biofuels (4G), which use genetically modified organisms (GMO) that capture more CO_2 , such as genetically modified sugarcane that has high content of lipids for simultaneous production of ethanol and biodiesel (Huang *et al.*, 2016). Also, fermentation with genetically modified *E. coli* produces triglycerides from sugarcane sweet juices that are later transformed to biodiesel. Amyris (USA), LS9 (USA) Sapphire Energy (USA), Solazyme (USA) and Terrebonne (Canada) study the way to scale the process to industrial levels (Steen *et al.*, 2010; Westfall and Gardner, 2011). The use of GMO has had positive results in yield and efficiency. According to Tanimura *et al.* (2015), the genetically modified yeast *Scheffersomyces shehatae* JCM 18690, can simultaneously hydrolyze and ferment starch

a etanol. El tipo de macroalgas más utilizadas industrialmente son las "seaweeds" o hierba de los mares, que son organismos pluricelulares que convierten de manera eficiente los nutrientes del agua y el CO₂ en biomasa, de las que hay unas 9200 especies, pero solo 221 tienen importancia económica (Mohammed, 2013). Las macroalgas son materias primas para producir bioetanol porque no tienen alto contenido de lípidos como las microalgas y tienen contenido elevado de azúcares y otros carbohidratos que pueden ser fermentados. Las variables estudiadas en el crecimiento de las algas son las que afectan la producción de los carbohidratos, como la luz, la temperatura, los nutrientes, la salinidad y el pH. Respecto al efecto de la luz, según George *et al.* (2014), una intensidad luminosa fotosintética de 60 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y ciclos de 12:12 (luz:oscuridad) lograron una productividad de biomasa de 7.9 mg L⁻¹ d⁻¹ con *Ankistrodesmus falcatus*. Es importante considerar que los pretratamientos, la licuefacción y la sacarificación de las macroalgas presentan dificultades similares a las materias primas de segunda generación, pues también contienen polisacáridos que deben ser hidrolizados hasta azúcares fermentables, un aspecto que requiere de más investigación. Las microalgas tienen alto un contenido de lípidos, pero también de carbohidratos, por lo que se propone la *Scenedesmus* sp. como materia prima para la producción integrada de etanol y biodiésel (Sivaramakrishnan y Incharoensakdi, 2018).

Otro cultivo de alta densidad en lagos y lagunas es el lirio acuático (*Eichhornia crassipes*), que es un problema ambiental por su alta tasa de crecimiento, que provoca que la luz y oxígeno no penetren a estos mantos acuíferos, por lo cual mueren otras especies en estos ecosistemas. El lirio acuático está compuesto principalmente de celulosa, que puede ser convertida a glucosa, sustrato fermentable, para la producción de etanol (Zhang *et al.*, 2018). Se probaron diferentes pretratamientos del lirio acuático y el más efectivo fue la combinación de ácido diluido, y el uso de microorganismos (*Phanerochaete chrysosporium*), por los altos resultados en purificación de la celulosa (39.4 %) y en el contenido de azúcares reductores (430.66 mg g⁻¹).

Cuarta generación

Los avances de la bioingeniería han llevado al concepto de biocombustibles de cuarta generación (4G),

with a productivity of up to 0.92 g L⁻¹ d⁻¹ after ten days, comparable to the highest yield reported in ethanol production from maize with *S. cerevisiae*. Huerta *et al.* (2005) increased the theoretical yield of converting glucose or xylose into ethanol up to 27 % by genetically improving ethanologenic strains of *E. coli* KO11. One of the main objectives was to optimize the expression of the gene Pdc_{Zm}, which codes for pyruvate decarboxylase enzymes, and to find or generate more active versions of the same gene.

Future trends

The largest proportion of the costs of producing biofuels is associated with raw materials (Neto *et al.*, 2016). Thus, proposals for the industrial sector and systems of technological innovation in biofuels is focused on reducing production costs and on finding new raw materials that meet economic and environmental requirements and do not affect human food security.

One viable alternative for bioethanol production is process integration, which helps to improve productivity and use of energy resources and has an impact in reducing operation costs. One example is the production of 1G and 2G ethanol from sugarcane and its bagasse, which can reduce the final cost of ethanol enough to make it competitive with fossil fuels (Neto *et al.*, 2016). Technical analyses and economic studies should be conducted on integrated processes. From sugarcane, a raw material of high productivity, applicable results are obtained from integrated processes at an industrial scale, but other less productive raw materials, such as those with high starch content, should be analyzed in technological integration processes. Moreover, using carbon dioxide from the ethanol production plant (fermentation stage) in algae production offers a new perspective for integration of technologies 1G/3G.

The concept of biorefineries is a way of integrating processes; it broadens the spectrum of products of a production plant and, therefore, market possibilities. But its level of complexity is advanced, posing challenges in the integral use of raw materials and calling for further study because of the number variables involved.

A recent proposal concerns synthetic ethanol production from organic wastes such as paper, wood and cow manure. The residues are dried in the same

los cuales utilizan organismos genéticamente modificados (OGM) para mayor captura de CO₂, como la caña genéticamente modificada, con alto contenido de lípidos para la producción simultánea de etanol y biodiesel (Huang *et al.*, 2016). También, la fermentación con *E. coli* genéticamente modificada produce triglicéridos desde los jugos dulces de la caña para ser transformados luego a biodiesel. Amyris (EUA), LS9 (EUA), Sapphire Energy (EUA), Solazyme (EUA) y Terrebonne (Canadá) investigan la forma de escalar el proceso a la industria (Steen *et al.*, 2010; Westfall y Gardner, 2011). La utilización de OGM tiene resultados positivos en rendimiento y eficiencia de los procesos. Según Tanimura *et al.* (2015), la levadura genéticamente modificada *Scheffersomyces shehatae* JCM 18690, puede hidrolizar y fermentar el almidón simultáneamente hasta una productividad de 0.92 g L⁻¹ d⁻¹ después de 10 días, lo que es comparable al mejor rendimiento reportado en la producción de etanol desde maíz con *S. cerevisiae*. Huerta *et al.* (2005) aumentaron el rendimiento teórico de conversión de glucosa o xilosa en etanol hasta en 27 % al mejorar genéticamente las cepas etanológicas de *E. coli* KO11, y uno de los principales objetivos fue optimizar la expresión del gen Pdc_{zm}, el cual codifica para las enzimas piruvato decarboxilasa, así como la búsqueda o generación de versiones más activas del mismo gen.

Tendencias futuras

En los biocombustibles, la mayor parte de los costos están asociados con las materias primas (Neto *et al.*, 2016). Por lo tanto, las propuestas para el sector industrial y los sistemas de innovación tecnológica en biocombustibles están enfocados en reducir los costos de producción, así como la búsqueda de nuevas materias primas que cumplan con los requerimientos económicos y ambientales, y que no afecten la seguridad alimentaria humana.

Una alternativa viable para la producción de bioetanol es la integración de procesos, lo cual ayuda a mejorar la productividad y la utilización de los recursos energéticos, e impacta en la reducción de costos de operación. Un ejemplo es la producción de etanol 1G y 2G desde el jugo de la caña y de su bagazo, lo cual puede reducir el costo final del etanol, hasta ser competitivo con los combustibles fósiles (Neto *et al.*, 2016). Análisis técnicos y estudios económicos se

plant where ethanol is produced. They are stored for a short period and introduced into the gasifier together with carbon to produce carbon monoxide and hydrogen (“syngas”) as well as pure carbon. “Syngas” is refined and subjected to a catalytic process before being compressed for transfer to the reactor for ethanol synthesis. In this process, collection of the raw material has a major impact on the cost of the end product, and the carbon used to improve economic efficiency increases costs. The cost of ethanol, with an internal return rate of 10 %, was 0.433 USD L⁻¹ with paper wastes, 0.51 USD L⁻¹ with wood waste and 1.45 USD L⁻¹ with cow manure. Economic feasibility of producing ethanol was greater with the mixture of wood waste and carbon. Using carbon in the mixture may be an option for obtaining energy with household generated organic waste (Gwank *et al.*, 2018).

Petrochemical installations for producing and refining oil contribute CO₂ emissions as does combustion of the energy compounds (gasoline, diesel, butane and natural gas). Combustion of oil derivatives produces only emissions and no fixation which occurs with other gases (for example, nitrogen), and there is no stage at which these emissions can be decreased; thus, it causes environmental pollution. In contrast, CO₂ generated by ethanol combustion is less than that generated by fossil fuels and can be fixed through photosynthesis and thus its release into the atmosphere is lower, contributing less to the greenhouse effect (Quintella *et al.*, 2011).

Life cycle analysis (LCA) of biofuels helps to understand the impact of the generated CO₂ on the environment. An evaluation conducted by the Centro de Tecnología Copersucar (CTC) showed that for each ton of sugarcane, the net effect is fixation of 694.7 kg CO₂, considering the entire cycle, from sugarcane cultivation up to its final use as ethanol. These results showed that emission of 206.8 kg CO₂ per t of sugarcane is avoided when ethanol is used instead of gasoline (Paula *et al.*, 2010).

Diverse factors should be considered during the life cycle analysis of ethanol. Sugarcane under given conditions can generate negative CO₂ balances, but because of the variety of raw materials with which ethanol can be obtained, each of them should be analyzed specifically. For example, application of chemical fertilizers and irrigation water for the crop that can be used to produce ethanol inevitably

deben realizar a los procesos integrados. De la caña, una materia prima de alta productividad, se obtienen resultados aplicables de procesos integrados a escala industrial, pero otras materias primas menos productivas, como aquellas con alto contenido de almidón, deben ser analizadas en procesos de integración tecnológica. Además, la utilización del dióxido de carbono de la planta de producción de etanol (etapa de fermentación) en el proceso de producción de algas, ofrece una nueva perspectiva de integración de tecnologías 1G/3G.

El concepto de las biorefinerías es una forma de integrar procesos, amplía el espectro de productos de una planta de producción y, por lo tanto, las posibilidades de mercado. Pero constituye un nivel de complejidad avanzado que representa retos en la utilización integral de materias primas, lo cual justifica más estudios por la cantidad de variables involucradas.

Una propuesta reciente es la producción de etanol sintético a partir de desechos orgánicos como papel, madera y estiércol de vaca. Los residuos son secados en la misma planta de producción del etanol, se almacenan por un tiempo corto y se introducen en el gasificador junto con el carbón, para producir monóxido de carbono e hidrógeno ("syngas"), así como carbón puro. El "syngas" se refina y somete a un proceso catalítico antes de ser comprimido para después ser transferido al reactor para la síntesis de etanol. En este proceso la recolección de la materia prima tiene un impacto importante en los costos del producto final y, además, el carbón usado para mejorar la eficiencia económica del proceso incrementa el costo del etanol. El costo del etanol, con una tasa interna de retorno del 10 %, fue 0.433 USD L⁻¹ con desechos de papel, 0.51 USD L⁻¹ con desechos de madera y de 1.45 USD L⁻¹ con estiércol de vaca. La factibilidad económica para producir etanol fue mayor con la mezcla de desechos de madera y carbón; el uso de carbón en la mezcla puede ser una solución para obtener energía con desechos orgánicos generados en casa (Gwank *et al.*, 2018).

Las instalaciones petroquímicas, de producción de petróleo y de refinación contribuyen a las emisiones de CO₂; de igual forma la combustión de los energéticos (gasolina, diesel, gas butano, gas natural) aportan a dichas emisiones. La combustión de los derivados del petróleo solo produce emisiones y no fijación, como sucede con otros gases (por ejemplo nitrógeno), por lo que no hay una etapa donde se

involves CO₂ emissions in the processes of production (Gelfand *et al.*, 2011). Clearing and converting land to crop fields damage the soil carbon store; this is denominated carbon debt (the amount of CO₂ released by land use change). Production of precise reliable tools for determining and quantifying each relevant contribution, anthropogenic or not, in the life cycle of ethanol is a challenge.

CONCLUSIONS

Diversification of raw materials for ethanol production led to the classification of first and second generation. First generation ethanol is the use of materials rich in simple sugars (sucrose from sugarcane) and starch (from maize). In the production of second-generation ethanol, the aim is to take advantage of low-cost agricultural byproducts (maize stover, wheat straw, etc.) that are rich in lignocellulosic compounds. Third generation biofuels involve raw materials such as perennial grasses, micro and macro algae, and cyanobacteria. In the case of macro algae, their simple sugars and starch can be used to produce ethanol. In the production of fourth generation ethanol, genetically modified crops (such as sugarcane that is more efficient in capturing CO₂) and genetically modified microorganisms with greater efficiency in converting substrate into product. Today, the search is for high-starch raw materials, preferably non-food crops that are high-yielding and low-cost, as promising alternatives for ethanol production at lower cost than production from sugarcane and maize (food in Mexico and whose use is prohibited in energy laws).

—End of the English version—

-----*-----

puedan disminuir dichas emisiones, lo que ocasiona los problemas de contaminación ambiental. Por el contrario, el CO₂ generado por la combustión del etanol es menor que el generado por los combustibles fósiles, y la mayor parte de ese CO₂ puede fijarse mediante la fotosíntesis, por lo que el liberado hacia la atmósfera es menor, con la disminución del efecto invernadero (Quintella *et al.*, 2011).

Los análisis de ciclo de vida (LCA, por sus siglas en inglés) de los biocombustibles ayudan a conocer el impacto del CO₂ generado sobre el medio ambiente. Una evaluación realizada por el Centro de Tecnología Copersucar (CTC) mostró que por cada tonelada de caña de azúcar el efecto neto es la fijación de 694.7 kg de CO₂, y se consideró desde el cultivo de la caña hasta el uso final del etanol; los resultados mostraron que se evita la emisión de 206.8 kg CO₂ t de caña de azúcar cuando se usa etanol en lugar de gasolina (Paula *et al.*, 2010).

Hay diversos factores que se deben tener en cuenta durante el análisis del ciclo de vida del etanol. La caña de azúcar en determinadas condiciones puede generar balances negativos de CO₂, pero debido a la variedad de materias primas con las que se puede obtener etanol, cada una de ellas debe ser analizada específicamente. Por ejemplo, la aplicación de fertilizantes químicos y el riego de agua para el cultivo que puede utilizarse para producir etanol, inevitablemente incurren en emisiones de CO₂ en sus procesos de producción (Gelfand *et al.*, 2011). La limpieza y conversión de la tierra para asegurar más campos para el cultivo dañan el almacenamiento de carbono en el suelo, y se denomina deuda de carbono (la cantidad de CO₂ liberado por la conversión de la tierra). La producción de herramientas precisas y confiables para determinar y cuantificar cada contribución relevante, de origen antropogénico o no, en el ciclo de vida del etanol, es un reto.

CONCLUSIONES

La diversificación de las materias primas para la producción de etanol llevó a la clasificación de primera y segunda generación. El etanol de primera generación comprende el uso de materias primas ricas en azúcares simples (sacarosa de la caña de azúcar) y almidón (maíz). En la producción de etanol de segunda generación se busca aprovechar los subproductos agrícolas de bajo costo (rastreo de maíz, trigo, etcétera), que son ricos en compuestos lignocelulósicos. Los biocombustibles de tercera generación involucran materias primas como los pastos perennes, las micro y macro algas, y las cianobacterias; en el caso de las macro algas, estos azúcares simples y almidón se pueden usar para la producción de etanol. En la producción de etanol de cuarta generación se plantea el uso de cultivos modificados genéticamente (como

caña de azúcar con mayor captura de CO₂), así como de microorganismos modificados genéticamente y con mayor eficiencia en la conversión de sustrato a producto. En la actualidad se plantea la búsqueda de materias primas altas en almidón, preferiblemente de cultivos agrícolas de uso no alimentario, con alto rendimiento y bajo costo, como una alternativa prometedora para la producción de etanol de menor costo, que los procesos de producción a partir de caña de azúcar y de maíz (uso alimentario en México y prohibido su uso en la ley de energéticos).

LITERATURA CITADA

- Adams, J. M., J. A. Gallagher, and I. S. Donnison. 2009. Fermentation study on *Saccharina latissima* for bioethanol production considering variable pre-treatments. *J. Appl. Phycol.* 21: 569–574.
- Afanador, A. M. 2005. El banano verde de rechazo en la producción de alcohol carburante. *Rev. Escuela Ing. Antioquia* 3: 51–68.
- Alves, L., H. Jarbas, and R. Cooke. 2018. Water management for sugarcane and corn under future climate scenarios in Brazil. *Agric. Water Manag.* <http://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.01.019>
- ANP. 2014. Brazilian Statistical Yearbook of Oil, gas and Biofuels (in portuguese). 236 p.
- Appiah-Nkansah, N. B., K. Zhang, W. Rooney, and D. Wang. 2016. Model study on extraction of fermentable sugars and nonstructural carbohydrate from sweet sorghum using diffusion process. *Industr. Crops Products* 83: 654–662.
- Asiedu, J. J. 1987. Physicochemical changes in plantain (*Musa paradisiaca*) during ripening and the effect of degree of ripeness on drying. *Trop. Sci.* 27: 249–260.
- Bello, R. H., O. Souza, N. Sellin, S. H. W. Medeiros, and C. Marangoni. 2012. Effect of the microfiltration phase on pervaporation of ethanol produced from banana residues. *Computer Aided Chem. Eng.* 31: 820–824.
- Brennan, L., and P. Owende. 2010. Biofuels from microalgae -A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew. Sustainable Energy Rev.* 14: 557–577.
- Bugaud, C., P. Alter, M. O. Daribo, and J. M. Brillouet. 2009. Comparison of the physico-chemical characteristics of a new triploid banana hybrid, FLHORBAN 920, and the Cavendish variety. *J. Sci. Food Agric.* 89: 407–413.
- Canilha, L., A. K. Chandel, T. Suzane Dos Santos Milessi, F. A. F. Antunes, W. Luiz Da Costa Freitas, F. M. Das Graças Almeida, and S. S. Da Silva. 2012. Bioconversion of sugarcane biomass into ethanol: An overview about composition, pretreatment methods, detoxification of hydrolysates, enzymatic saccharification, and ethanol fermentation. *J. Biomed. Biotechnol.* 2012: 1-16.
- Cavalett, O., T. L. Junqueira, M. O. S. Dias, C. D. F. Jesus, P. E. Mantelatto, M. P. Cunha, H. C. J. Franco, T. F. Cardoso, R. Maciel Filho, C. E. V. Rossell, and A. Bonomi. 2012. Environmental and economic assessment of sugarcane first

- generation biorefineries in Brazil. *Clean Technol. Environ. Policy*. Springer-Verlag 14: 399–410.
- Chandel, A. K., T. L. Junqueira, E. R. Morais, V. L. R. Gouveia, O. Cavalett, E. C. Rivera, V. C. Geraldo, A. Bonomi, and S. S. Da Silva. 2014. Techno-economic analysis of second-generation ethanol in Brazil: Competitive, complementary aspects with first-generation ethanol. *Biofuels in Brazil*. Springer Int. Pub. pp: 1–29.
- Chen, S. T., Y. P. Tsai, J. H. Ciou, Z. Y. Huang, W. C. Lin, and H. Shiu. 2017. Study on saccharification techniques of alga waste harvested from a eutrophic water body for the transformation of ethanol. *Renew. Energy* 101: 311–315.
- Cheng, J. J. and G. R. Timilsina. 2011. Status and barriers of advanced biofuel technologies: A review. *Renew. Energy* 36: 3541–3549.
- Chuck-Hernandez, C., M. Peralta-Contreras, G. Bando-Carranza, M. Vera-Garcia, N. Gaxiola-Cuevas, R. Tamayo-Limon, F. Cardenas-Torres, E. Perez-Carrillo, and S. O. Serna-Saldivar. 2012. Bioconversion into ethanol of decorticated red sorghum (*Sorghum bicolor* L. *Moench*) supplemented with its phenolic extract or spent bran. *Biotechnol. Lett.* 34: 97–102.
- Chu-Ky, S., T.-H. Pham, K. L. T. Bui, T. T. Nguyen, K. D. Pham, H. D. T. Nguyen, H. N. Luong, V.-P. Tu, T. -H. Nguyen, P. H. Ho, and T. M. Le. 2016. Simultaneous liquefaction, saccharification and fermentation at very high gravity of rice at pilot scale for potable ethanol production and distillers dried grains composition. *Food Bioprod. Proces.* 98: 79–85.
- Cinelli, B. A., L. R. Castilho, D. M. G. Freire, and A. M. Castro. 2015. A brief review on the emerging technology of ethanol production by cold hydrolysis of raw starch. *Fuel* 150: 721–729.
- Cortes-Rodríguez, E. F., N. A. Fukushima, R. Palacios-Bereche, A. V. Ensinas, and S. A. Nebra. 2018. Vinasse concentration and juice evaporation system integrated to the conventional ethanol production process from sugarcane and heat integration and impacts in cogeneration system. *Renew. Energy* 115: 474–88.
- Costa, G. H. G., I. S. Masson, L. A. De Freitas, J. P. Roviero, and M. J. R. Mutton. 2015. Reflects of clarification of sugarcane juice with moringa on inorganic compounds of sugar VHP | Reflexos da clarificação do caldo de cana com moringa sobre compostos inorgânicos do açúcar VHP. *Rev. Bras. Eng. Agric. Amb.* 19: 154–159.
- Cruz-Salomón, A., R. Meza-Gordillo, A. Rosales-Quintero, C. Ventura-Canseco, S. Lagunas-Rivera, and J. Carrasco-Cervantes. 2017. Biogas production from a native beverage vinasse using a modified UASB bioreactor. *Fuel* 198: 170–174.
- Deesuth, O., P. Laopaiboon, and L. Laopaiboon. 2016. High ethanol production under optimal aeration conditions and yeast composition in a very high gravity fermentation from sweet sorghum juice by *Saccharomyces cerevisiae*. *Ind. Crops Products* 92: 263–270.
- De Oliveira Filho, J. H., A. M. Bortoletto, and A. R. Alcarde. 2016. Post-harvest quality of stored sugarcane stalks and their reflection on the production of cane spirit | Qualidade pós-colheita de colmos de cana armazenados e seus reflexos na produção de cachaça. *Braz. J. Food Tech.* 19. doi: 10.1590/1981-6723.6915.
- Dien, B. S., D. T. Wicklow, V. Singh, R. A. Moreau, J. K. Winkler-Moser, and M. A. Corta. 2012. Influence of *Stenocarpella maydis* infected corn on the composition of corn kernel and its conversion into ethanol. *Cer. Chem.* 89: 15–23.
- Dos Passos Bernardes, A., G. F. Tremblay, G. Bélanger, P. Seguin, A. Brégar, and A. Vanasse. 2016. Bagasse silage from sweet pearl millet and sweet sorghum as influenced by harvest dates and delays between biomass chopping and pressing. *BioEnergy Res.* Springer US 9: 88–97.
- Dürre, P. 2008. Fermentative butanol production: bulk chemical and biofuel. *Ann. New York Ac. Sci.* 1125: 353–62.
- Flório, D. N., and S. D. O. Junior. 2013. Thermoeconomic analysis of combined production of electricity and second generation ethanol based on the dilute acid hydrolysis of sugarcane bagasse. *Proceedings of the 26th International Conference on Efficiency, Cost, Optimization, Simulation and Environmental Impact of Energy Systems, ECOS 2013*.
- Gallejones, P., G. Pardo, A. Aizpurua, and A. del Prado. 2015. Life cycle assessment of first-generation biofuels using a nitrogen crop model. *Sci. The Tot. Env.* 505: 1191–1201.
- Gebregergs, A., M. Gebresemati, and O. Sahu. 2016. Industrial ethanol from banana peels for developing countries: Response surface methodology. *Pacific Science Review. Nat. Sci. and Eng.* 18: 22–29.
- Gelfand I., T. Zenone, P. Jasrotia, J. Chen J, S. K. Hamilton, and G. P. Robertson. 2011. Carbon debt of Conservation Reserve Program (CRP) grasslands converted to bioenergy production. *Proc. of the Nat. Ac. of Sci. of the U. S. A.* 108: 13864–13869.
- George, B., I. Pancha, C. Desai, K. Chokshi, C. Paliwal, T. Ghosh, and S. Mishra. 2014. Effects of different media composition, light intensity and photoperiod on morphology and physiology of freshwater microalgae *Ankistrodesmus falcatus* – A potential strain for bio-fuel production. *Biores. Tech.* 171: 367–374.
- Graefe, S., D. Dufour, A. Giraldo, L. A. Muñoz, P. Mora, H. Solís, H. Garcés, and A. Gonzalez. 2011. Energy and carbon footprints of ethanol production using banana and cooking banana discard: A case study from Costa Rica and Ecuador. *Biomass and Bioenergy*, 35: 2640–2649.
- Guan, D., Y. Li, R. Shiroma, M. Ike, and K. Tokuyasu. 2013. Sequential incubation of *Candida shehatae* and ethanol-tolerant yeast cells for efficient ethanol production from a mixture of glucose, xylose and cellobiose. *Biores. Tech.* 132: 419–422.
- Gumienna, M., A. Szwengiel, A. Szczepańska-Alvarez, K. Szambelan, M. Lasik-Kurdyś, Z. Czarnecki, and A. Sitarski. 2016. The impact of sugar beet varieties and cultivation conditions on ethanol productivity. *Biomass and Bioenergy* 85: 228–234.
- Gwak, Y. R., Y. B. Kim, I. S. Gwak, and S. H. Lee. 2018. Economic evaluation of synthetic ethanol production by using domestic biowaste and coal mixture. *Fuel* 213: 115–122.
- Hammond, J. B., R. Egg, D. Diggins, and C. G. Coble. 1996. Alcohol from bananas. *Biores. Tech.* 56: 125–130.
- Henrique, M., L. Silveira, M. Siika-aho, and K. Kruus. 2014. *Biofuels in Brazil*. (October 2015), pp. 151–172. doi: 10.1007/978-3-319-05020-1.
- Hernandez-Urbe, J. P., F. J. Garcia-Suarez, F. Gutierrez-Meraz, S. L. Rodriguez-Ambriz, and L. A. Bello-Perez. 2014. By-Products derived of the starch isolation from tubers: Physicochemical and functional properties. *J. Food Agr. Env.* 12: 43–46.

- Hidalgo, K., B. Rodriguez, M. Valdiviá, M. Febles. 2009. Utilización de la vinaza de destilería como aditivo para pollos en ceba. *Rev. Cub. C. Agr.* 43: 281-284.
- Hoyos-Leyva, J. D., L. A. Bello-Perez, H. Yee-Madeira, M. E. Rodriguez-Garcia, and A. Aguirre-Cruz. 2017. Characterization of the flour and starch of aroid cultivars grown in Mexico. *Starch/Starke* 69: 1-8.
- Huang, H., W. Liu, V. Singh, M. G. C. Danao, and S. R. Eckhoff. 2012. Effect of harvest moisture content on selected yellow dent corn: Dry-grind fermentation characteristics and DDGS composition. *Cer. Chem.* 89: 217-221.
- Huang, H., S. Long, and V. Singh. 2016. Techno-economic analysis of biodiesel and ethanol co-production from lipid-producing sugarcane. *Biof., Biop. Bioref.* John Wiley & Sons, Ltd. 10: 299-315.
- Huang, H. W., Y. H. Chang, and C. Y. Wang. 2015. High pressure pasteurization of sugarcane juice: Evaluation of microbiological shelf life and quality evolution during refrigerated storage. *Food Bioproc. Tech.* 8: 2483-2494.
- Huerta, G., J. Utrilla, G. Hernandez, F. Bolivar, G. Gosset, and A. Martinez. 2005. Metabolic engineering to increase the ethanol flux and yield in ethanologenic *Escherichia coli*. *Rev. Mex. Ing. Quím.* 4: 25-36.
- Huron, M., D. Hudebine, N. L. Ferreira, and D. Lachenal. 2016. Impact of delignification on the morphology and the reactivity of steam exploded wheat straw. *Ind. Crops and Prod.* 79: 104-109.
- Jayaraman, P., A. Livingstone, S. Harikrishnan, S. Vinoth, and R. Logamba. 2017. Evaluation of ethanol production using various carbon substrates by *Sacharomyces cerevisiae* and *Schizosacharomyces pombe*. *J. Pure App. Microb.* 11: 1469-1478.
- Jonker, J. G. G., F. van der Hilst, H. M. Junginger, O. Cavallett, M. F. Chagas, and A. P. C. Faaij. 2015. Outlook for ethanol production costs in Brazil up to 2030, for different biomass crops and industrial technologies. *App. Energy* 147: 593-610.
- Jusuf, M. and E. Ginting. 2014. The prospects and challenges of sweet potato as bio-ethanol source in Indonesia. *Energy Procedia* 47: 173-179.
- Kandil, A., J. Li, T. Vasanthan, D. C. Bressler, and R. T. Tyler. 2011. Compositional changes in whole grain flours as a result of solvent washing and their effect on starch amylolysis. *Food Res. Int.* Elsevier Ltd. 44: 167-173.
- Karuppaiya, M., T. Viruthagiri, and K. Manikandan. 2012. Statistical screening of medium components on ethanol production from cashew apple juice using *Saccharomyces diastycus*. *Int. J. Biotech. Bioeng.* 6: 400-403.
- Khambhaty, Y., D. Upadhyay, Y. Kriplani, N. Joshi, K. Mody, and M. R. Gandhi. 2013. Bioethanol from macroalgal biomass: Utilization of marine yeast for production of the Same. *BioEnergy Res.* Springer-Verlag 6: 188-195.
- Khatiwada, D., S. Leduc, S. Silveira, and I. McCallum. 2016. Optimizing ethanol and bioelectricity production in sugarcane biorefineries in Brazil. *Renew. Energy* 85: 371-386.
- Kim, S. M., E. Khullar, W. Liu, M. Lanahan, P. Lessard, S. Dohle, J. Emery, R. M. Raab, and V. Singh. 2015. Rice straw with altered carbohydrate content: Feedstock for ethanol production. *ASABE* 58: 523-528.
- Konda, N. V. S. N. M., S. Singh, B. A. Simmons, and D. Klein-Marcuschamer. 2015. An investigation on the economic feasibility of macroalgae as a potential feedstock for biorefineries. *BioEnergy Res.* Springer US. 8: 1046-1056.
- Kusmiyati, K., H. Susanto. 2015. Fuel grade bioethanol production from Iles-iles (*Amorphophalus campanulatus*) Tuber. *Int J. Renew. Energy Dev.* 23: 199-206.
- Li, J., M. G. C. Danao, S. F. Chen, S. Li, V. Singh, and P. J. Brown. 2015. Prediction of starch content and ethanol yields of sorghum grain using near infrared spectroscopy. *IM Publications LLP*, 23: 85-92.
- Lin, Y. S., W. C. Lee, K. J. Duan, and Y. H. Lin. 2013. Ethanol production by simultaneous saccharification and fermentation in rotary drum reactor using thermotolerant *Kluveromyces marxianus*. *App. Energy* 105: 389-394.
- Lingle, S. E., T. L. Tew, H. Rukavina, and D. L. Boykin. 2012. Post-harvest changes in sweet sorghum I: Brix and sugars. *Bioenergy Res.* 5: 158-167.
- Linton, J. A., J. C. Miller, R. D. Little, D. R. Petrolia, and K. H. Coble. 2011. Economic feasibility of producing sweet sorghum as an ethanol feedstock in the southeastern United States. *Biomass and Bioenergy* 35: 3050-3057.
- Liu, L., N. Klocke, S. Yan, D. Rogers, A. Schlegel, F. Lamm, S. I. Chang, and D. Wang. 2013. Impact of deficit irrigation on maize physical and chemical properties and ethanol yield. *Cereal Chem.* 90: 453-462.
- Liu, X. V., S. K. Hoekman, and A. Broch. 2017. Potential water requirements of increased ethanol fuel in the USA. *Energy Sustainab. Soc.* 7: 1-13.
- Liu, Y. K., and P. M. Lien. 2016. Bioethanol production from potato starch by a novel vertical mass-flow type bioreactor with a co-cultured-cell strategy. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 62: 162-168.
- Martila, H., J. Kuuskeri, and T. Lundell. 2017. Single-step, single-organism bioethanol production and bioconversion of lignocellulose waste materials by phlebioid fungal species. *Biores. Tech.* 225: 254-261.
- Miret, C., P. Chazara, L. Montastruc, S. Negny, and S. Domech. 2016. Design of bioethanol green supply chain: Comparison between first and second generation biomass concerning economic, environmental and social criteria. *Comp. Chem. Eng.* 85: 16-35.
- Mijangos-Cortes, J., M. Gonzalez-Muñoz, E. España-Gamboa, J. Dominguez-Maldonado, and L. Alzate-Gaviria. 2014. Fertilization of sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench.) in laboratory and nursery assays with treated vinasses of hydrated ethanol of UASB reactor. *Rev. Mex. de Ing. Quím.* 13: 713-722.
- Mohammed, G. .2013. Seaweed farming. Calicut Research Centre of CMFRI. Calicut Kerala, India. Customized training Book. 259-262. <http://eprints.cmfri.org.in/9734/1/Gulshad.pdf>
- Mussatto, S. I., E. M. S. Machado, L. M. Carneiro, and J. A. Teixeira. 2012. Sugars metabolism and ethanol production by different yeast strains from coffee industry wastes hydrolysates. *App. Energy* 92: 763-768.
- Neto, C. J. D., E. B. Sydney, L. P. de Souza Vandenberghe, and C. R. Soccol. 2016. Green fuels technology. *Green Energy Tech.* 387-406. doi: 10.1007/978-3-319-30205-8.

- Oberoi, H. S., P. V. Vadlani, L. Saida, S. Bansal, and J. D. Hughes. 2011. Ethanol production from banana peels using statistically optimized simultaneous saccharification and fermentation process. *Waste Manage.* 31: 1576–1584.
- Orts, W. J. and C. M. McMahan. 2016. Biorefinery developments for advanced biofuels from a sustainable array of biomass feedstocks: Survey of recent biomass conversion research from Agricultural Research Service. *BioEnergy Res.* Springer NY LLC. 9: 430–446
- Parthiban, R., M. Sivarajan, and M. Sukumar. 2011. Ethanol production from banana peel waste using *Saccharomyces cerevisiae*. Second International Conference on Sustainable Energy and Intelligent System (SEISCON 2011). University, Maduravoyal, Chennai, Tamil Nadu, India. July. 20–22, 2011. <http://ieeexplore.ieee.org/stamp/stamp.jsp?arnumber=6143305>
- Paula, M., F. A. R. Pereira, E. R. A. Arias, B. R. Scheeren, C. C. Souza, and D. S. Mata. 2010. Fixação de carbono e a emissão dos gases de efeito estufa na exploração da cana de açúcar. *Ciência Agrotec., Lavras.* 34: 633–640.
- Peralta-Contreras, M., C. Chuck-Hernandez, E. Perez-Carrillo, G. Bando-Carranza, M. Vera-García, N. Gaxiola-Cuevas, R. Tamayo-Limon, F. Cardenas-Torres, and S. O. Serna-Saldivar. 2013. Fate of free amino nitrogen during liquefaction and yeast fermentation of maize and sorghums differing in endosperm texture. *Food Biop. Proc.* 91: 46–53.
- Peralta-Yahya, P. P., F. Zhang, S. B. del Cardayre, and J. D. Keasling. 2012. Microbial engineering for the production of advanced biofuels. *Nature. England,* 488: 320–328.
- Pina, E. A., R. Palacios-Bereche, M. F. Chavez-Rodriguez, A. V. Ensinas, M. Modesto, and S. A. Nebra. 2017. Reduction of process steam demand and water-usage through heat integration in sugar and ethanol production from sugarcane and evaluation of different plant configurations. *Energy* 138: 1263–80.
- Plaza Castillo, J., C. Daza Mafolis, E. Coral Escobar, A. Garcia Barrientos, and R. Villafuerte Segura. 2015. Design, construction and implementation of a low cost solar-wind hybrid energy system. *IEEE Latin Am. Trans.* 13: 3304–3309.
- Quintella, C. M., M. M. Meira, S. Freire, N. da Costa, P. Ramos, G. G. de Souza, H. Bezerra, A. Sueli, M. Santana, and A. de Araujo Moreira. 2011. Brazilian potential for CCS for negative balance emission of CO₂ from biomass energy. *Energy Proc.* 4: 2926–2932.
- Radecka, D., V. Mukherjee, R. Q. Mateo, M. Stojiljkovic, M. R. Foulquié-Moreno, J. M. Thevelein. 2015. Looking beyond *Saccharomyces*: the potential of non-conventional yeast species for desirable traits in bioethanol fermentation. Nielsen, J. (ed). *FEMS Yeast Res.* 15(6): fov053.
- Reyes, J., P. Quintana, C. Coronado, and A. Castro. 2016. Simulación del proceso de producción de bioetanol a partir de la mezcla glucosa/xilosa incluyendo los efectos de temperatura, pH y concentración de azúcares. *Rev. Mex. Ing. Quím.* 15: 1–9
- Rofiqah, U., T. Widjaja, A. Altway, A. Bramantyo. 2017. Extractive fermentation of sugarcane juice to produce high yield and productivity of bioethanol. *J. Physics Conf. Series* 824: 12063.
- Saxena, J., H. A. Makroo, and B. Srivastava. 2016. Optimization of time-electric field combination for PPO inactivation in sugarcane juice by ohmic heating and its shelf life assessment. *LWT - Food Sci. Tech.* 71: 329–338.
- Scholz, M. J., M. R. Riley, and J. L. Cuello. 2013. Acid hydrolysis and fermentation of microalgal starches to ethanol by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biomass and Bioenergy* 48: 59–65.
- Schwab, A., K. Moriarty, A. Milbrandt, J. Geiger, and J. L. Nrel. 2016. 2013 Bioenergy Market Report (March).
- Sheehan, G. J., and P. Greenfield. 1980. Utilisation, treatment and disposal of distillery wastewater. *Water Res. Pergamon* 14: 257–277.
- Silva, M. A., N. P. Griebeler, and L. C. Borges. 2007. Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático. *Rev. Bras. Engen. Agríc. Ambiental. Dep. Eng. Agr. - UFCCG / Cnpq,* 11: 108–114.
- Sivaramakrishnan, R., and A. Incharoensakdi. 2018. Utilization of microalgae feedstock for concomitant production of bioethanol and biodiesel. *Fuel* 217: 458–466.
- Soccol, C. R. 1997. Biodegradation of cassava crude starch granules during solid state fermentation by *Rhizopus glucoamylase*. *Arq. Biol. Tech.* 40: 771–785.
- Solomon, B. D., J. R. Barnes, and K. E. Halvorsen. 2007. Grain and cellulosic ethanol: History, economics, and energy policy. *Biomass and Bioenergy* 31: 416–425.
- Srichuwong, S., J. Gutesa, M. Blanco, S. A. Duvick, C. Gardner, and J. L. Jane. 2010. characterization of corn grains for dry-grind ethanol production. *J. ASTM Int.* 7: 1–10.
- Steen, E. J., Y. Kang, G. Bokinsky, Z. Hu, A. Schirmer, A. McClure, S. B. del Cardayre, and J. D. Keasling. 2010. Microbial production of fatty-acid-derived fuels and chemicals from plant biomass. *Nature.* Macmillan Publishers Limited. All rights reserved. 463: 559–562.
- Sudhakar, M. P., R. Merlyn, K. Arunkumar, and K. Perumal. 2016. Characterization, pretreatment and saccharification of spent seaweed biomass for bioethanol production using baker's yeast. *Biomass and Bioenergy* 90: 148–154.
- Tanimura, A., M. Kikukawa, S. Yamaguchi, S. Kishino, J. Ogawa, and J. Shima. 2015. Direct ethanol production from starch using a natural isolate, *Scheffersomyces shehatae*: Toward consolidated bioprocessing. *Sci. Reports* 5: 95–93.
- Thai, C. C. D., H. Bakir, and W. O. S. Doherty. 2012. Insights to the Clarification of Sugar Cane Juice Expressed from Sugar Cane Stalk and Trash. *J. Agr. Food Chem.* 60: 2916–2923.
- Travaini, R., E. Barrado, and S. Bolado-Rodríguez. 2016. Effect of ozonolysis parameters on the inhibitory compound generation and on the production of ethanol by *Pichia stipitis* and acetone-butanol-ethanol by *Clostridium* from ozonated and water washed sugarcane bagasse. *Biores. Tech.* 218: 850–858.
- U.S Energy Information Administration. 2016. Petroleum Supply Monthly. <http://www.eia.gov/petroleum/supply/monthly/> (Accessed: September 2016).
- U.S Energy Information Administration. 2017. Short-term Energy Outlook. (September 2017).
- US Department of Energy. 2016. Alternative Fuels Data Center: Alternative Fueling Station Counts by State. http://www.afdc.energy.gov/fuels/stations_counts.html (Accessed: September 2016).
- Uyazán, A. M., I. D. Gil, J. L. Aguilar, G. Rodríguez, and L. A. Caicedo. 2004. Deshidratación del etanol. *Ing. Inv.* 56: 49–59.

- Wang, Z., H. Huang, E. G. De Mejia, Q. Li, and V. Singh. 2016. Use of pigmented maize in both conventional dry-grind and modified processes using granular starch hydrolyzing enzyme. *AACC* 93: 344–351
- Westfall, P. J. and T. S. Gardner. 2011. Industrial fermentation of renewable diesel fuels. *Curr. Op. Biotech.* 22: 344–350.
- Wu, W. H., W. C. Hung, K. Y. Lo, Y. H. Chen, H. P. Wan, and K. C. Cheng. 2016. Bioethanol production from taro waste using thermo-tolerant yeast *Kluyveromyces marxianus* K21. *Biores. Tech.* 201: 27–32.
- Xu, Y., J. Li, M. Zhang, and D. Wang. 2018. Modified simultaneous saccharification and fermentation to enhance bioethanol titers and yields. *Fuel* 215: 647–54.
- Zegada-Lizarazu, W., and A. Monti. 2012. Are we ready to cultivate sweet sorghum as a bioenergy feedstock? A review on field management practices. *Biomass and Bioenergy* 40: 1–12.
- Zhang, Q., Yan W., Hui H., and Chen W. 2018. Enhancing bioethanol production from water hyacinth by new combined pretreatment methods. *Biores. Tech.* 251: 358–363.