

EXPLORACIÓN DEL DESARROLLO CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO DE LA PRODUCCIÓN DE BIOBUTANOL

ANÍBAL R. LARA-VÁZQUEZ,
IDANIA VALDEZ-VAZQUEZ

Relevancia del biobutanol

El butanol es una molécula de cuatro carbonos incolora e inflamable que suele utilizarse como disolvente para cosméticos, detergentes, antibióticos, hormonas y vitaminas, así como en la preparación de fluidos hidráulicos. También, se utiliza como intermediario para la producción de acrilatos^[1]. De igual manera, el butanol es una sustancia química con alto poder calorífico, alta viscosidad, baja volatilidad, alta hidrofobicidad y baja corrosión. Además, su relación aire-combustible y su contenido energético son similares a los que presenta la gasolina. Por sus similitudes con la gasolina, el butanol podría utilizarse como su remplazo utilizando la infraestructura actualmente disponible sin riesgos^[1,2].

Hay cuatro isómeros diferentes del butanol: n-butanol, isobutanol, terc-butanol y sec-butanol. En particular, el n-butanol y el isobutanol pueden producirse directamente a partir de un proceso de fermentación. Hasta 1950, el n-butanol se producía mediante la fermentación acetona, butanol y etanol (fermentación ABE), que fue descubierta por Charles Weizmann en 1916. Weizmann utilizó para este fin la bacteria *Clostridium acetobutylicum*. Sin embargo, el alto costo de las materias primas como el maíz, el almidón y la melaza, eliminó el uso de procesos biológicos para la producción de butanol, que luego fueron sustituidos por procesos químicos de bajo costo a partir de fuentes fósiles^[3]. Los recientes avances en ingeniería genética, nuevas configuraciones de biorreactores y bioprocesos que utilizan residuos lignocelulósicos han mejorado nuevas formas de producir butanol con ventajas ambientales en comparación con la producción basada en petróleo^[4-6]. Además, los problemas ambientales como el calentamiento global asociados al uso de fuentes de energía fósil han originado mayor interés por el uso de energías renovables. Sin embargo, estas nuevas energías deben ser asequibles y técnicamente viables^[7]. Recientes propuestas innovadoras

incorporan el empleo de consorcios microbianos para convertir directamente biomasa de origen agrícola en biobutanol, reduciendo los costos de inversión y operación^[8,9].

El mercado mundial de n-butanol se distribuye principalmente de la siguiente manera: Asia (44.5%), América (26.7%) y Europa (17.5%)^[10]. China fue el único país que continuó utilizando procesos biológicos para la producción de butanol después del aumento del precio de las materias primas a nivel mundial. China es actualmente un actor clave en el mercado de n-butanol con una producción de 21 millones de galones por año gracias a sus esfuerzos en I+D. Las principales materias primas utilizadas para la producción de biobutanol son el maíz, la yuca y la melaza^[3,11]. Mientras tanto, en Europa se han construido varias instalaciones de demostración de producción de butanol durante los últimos años, además, y se están ejecutando importantes proyectos regionales (financiados por la Unión Europea) como BUTANEXT (Butanext – Biobutanol de próxima generación) para promover el uso de butanol como estrategia para reducir el uso de combustibles fósiles. En Estados Unidos, se está estimulando la producción comercial de butanol mediante la incorporación de nueva tecnología a las actuales instalaciones de etanol disponibles en el país, esto ayudaría a reducir significativamente los costos de producción y aumentar los rendimientos de los biocombustibles. En México, el Centro Mexicano de Innovación en Bioenergía (CEMIE BIO) a través del Clúster de Bioalcoholes desarrolló nueva tecnología para la producción de biobutanol. En una etapa temprana de tecnologías emergentes como las dirigidas para producción de butanol, los resultados de la investigación académica se presentan como publicaciones científicas, mientras que los resultados de desarrollos tecnológicos se presentan como patentes. Por tanto, las patentes son fuentes útiles de información que pueden utilizarse para la planificación empresarial y para el análisis de tendencias tecnológicas. A continuación, se presentan los resultados de una evaluación tecnológica integral del biobutanol, incluyendo tanto patentes como publicaciones científicas, con el objetivo de explorar el desarrollo tecnológico e identificar las tendencias tecnológicas actuales y los principales líderes en patentes y publicaciones. En particular, los resultados de esta investigación pueden ayudar a identificar nuevos proyectos de desarrollo tecnológico y oportunidades de mercado para los actores tanto actuales como futuros y, lo que es más importante, ayudar a los formuladores de políticas a abordar las necesidades del sector de los biocombustibles.

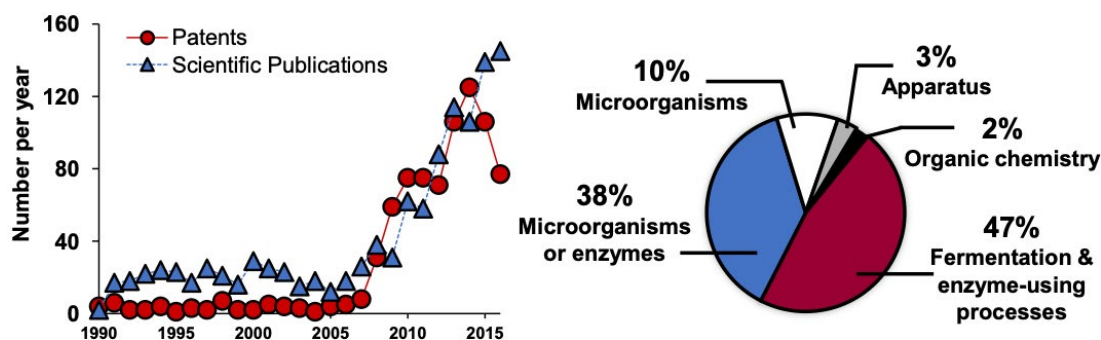


Figura 1. Desarrollo científico y tecnológico de biobutanol, 1990-2020

Progreso científico y tecnológico

Durante el período de 1919 a 1921, sólo se concedieron cinco patentes a Charles Weizmann. Estas invenciones están relacionadas con la optimización de la fermentación ABE utilizando diferentes tipos de azúcares y microorganismos. Pocos años más tarde, entre 1926 y 1935, E. B. Fred y Peterson publicaron los primeros documentos científicos relacionados con los procesos biológicos para la producción de butanol. Luego, hubo un período de estancamiento hasta finales de los años ochenta, tanto para las patentes como para las publicaciones científicas. En el período de 1990 a 2007 se observó un crecimiento modesto. La actividad de patentamiento se multiplicó por veinte entre 2007 y 2015, coincidiendo con la crisis energética de 2008, donde los precios del petróleo aumentaron considerablemente y se crearon iniciativas verdes para encontrar energías alternativas^[12]. En 2015, los precios del petróleo cayeron, lo que desalienta el interés por las energías alternativas (Figura 1). Así, el desarrollo científico y tecnológico del butanol se ve afectado por los precios del petróleo. Sin embargo, en los próximos años se esperan grandes avances para productos químicos como el biobutanol, ya que las patentes se consideran activos estratégicos para los actores industriales en el mercado de los biocombustibles^[13].

Investigación y patentes en biobutanol

Un alto porcentaje de los artículos están relacionados con las áreas de biotecnología (> 50%), microbiología aplicada (42%) y microbiología (28%). El resto de las áreas de especialización fueron ingeniería, alimentación, ciencias ambientales y energéticas (entre el 2-13%). La investigación en biobutanol es multidisciplinaria debido a los muchos procesos y tecnologías involucrados. Por tanto, una patente determinada puede clasificarse en más de un área de especialización. La clasificación de patentes también proporciona información detallada sobre el desarrollo tecnológico del biobutanol. La Tabla 1 muestra los resultados de 897 patentes cotejadas según las subclases y códigos correspondientes de la Clasificación

Internacional de Patentes (IPC). Se recuperaron 3,215 subclasificaciones diferentes de patentes en el período 1916-2020. Al analizar la información de la Tabla 1, 42% de los registros coincidieron con la clasificación C12P para procesos tanto de fermentación como uso de enzimas; y 34% de los registros coincidieron con la clasificación C12N para microorganismos o enzimas. A partir de aquí, las cinco principales subclases de C12P son C12P7/16 (12.99 %), seguidas de C12P7/06 (3.60 %), C12P7/18 (3.34 %), C12P7/28 (2.41 %) y C12P7/04 (2.15 %). Estos códigos de subclasificación corresponden a procesos de fermentación y enzimáticos para producir alcoholes y metabolitos relacionados. Por otro lado, las principales subclasificaciones del C12N son C12N1/21 (12.81%), C12N1/20 (8.44%), C12N15/52 (6.95%), C12N9/04 (6.06%) y C12N1/19 (5.16%). Las subclasificaciones C12N implican la modificación genética de bacterias, enzimas y levaduras.

Producción de biobutanol basada en la cooperación microbiana

La industria del biobutanol no ha logrado la maduración industrial debido a los altos costos de las materias primas refinadas utilizadas como sustrato en la fermentación ABE. Como alternativa, se propuso el uso de residuos agrícolas que contienen hasta 50% en peso de celulosa, un homopolímero de glucosa. Sin embargo, además de celulosa, los residuos agrícolas contienen lignina, un heteropolímero que provee rigidez y resistencia a las fibras vegetales. La lignina hace necesario llevar a cabo un pretratamiento de las fibras a elevadas temperaturas con el uso de químicos corrosivos para reducir su contenido, con ello, dejar expuesta la celulosa para su posterior hidrólisis^[14].

En 2005, Lynd y colaboradores introdujeron el término de *Bioproceso consolidado* (BPC) para referirse a un proceso donde ocurre de forma simultánea la producción en enzimas, la sacarificación y la fermentación^[15]. En sus orígenes, el CBP fue concebido para realizarse con microorganismos genéticamente modificados: un microorganismo fermentativo al cual se le introducen genes de un microorganismo hidrolítico o viceversa. Sin embargo, los rendimientos experimentales fueron bajos.

Tabla 1. Descripción de clases y subclases de patentes de biobutanol

Clasificación IPC	Subclase	Porcentaje (%)	Descripción
C12P* 1,353 registros (42%)	C12P7/16	12.99	Fermentación o procesos enzimáticos para producción de biobutanol
	C12P7/06	3.60	Fermentación o procesos enzimáticos para producción de etanol
	C12P7/18	3.34	Fermentación o procesos enzimáticos para polialcoholes
	C12P7/28	2.41	Fermentación o procesos enzimáticos para productos con acetona
	C12P7/04	2.15	Fermentación o procesos enzimáticos para compuestos acíclicos
		24.49	
C12N* 1,104 registros (34%)	C12N1/21	12.81	Bacterias genéticamente modificadas y preparaciones enzimáticas
	C12N1/20	8.44	Bacteria y preparaciones enzimáticas
	C12N15/52	6.95	Introducción de material genético extraño que codifica enzimas y proenzimas
	C12N9/04	6.06	Preparaciones de enzimas que actúan sobre CHOH grupos como donantes
	C12N1/19	5.16	Levaduras genéticamente modificadas
		39.42	

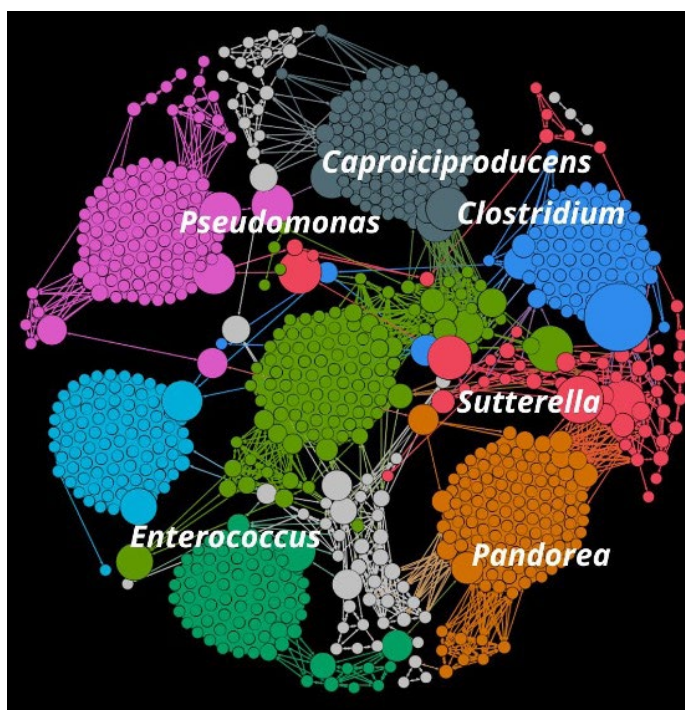
*3,125 patentes de las cuales C12P (42%) y C12N (34%) fueron las principales clasificaciones.

Después, surgió la idea de realizar el CBP con co-cultivos, dos microorganismos que tuvieran actividades complementarias: uno hidroliza la celulosa mientras otro fermenta los azúcares liberados. De esta forma, los rendimientos fueron superiores a aquellos logrados con microorganismos genéticamente modificados, pero aún persistió la incompatibilidad de las condiciones de crecimiento del co-cultivo.

Notablemente, en otras áreas de producción de bioenergía, se habían utilizado consorcios microbianos para producir metano e hidrógeno a partir de residuos agrícolas. Un consorcio microbiano es una asociación entre varias poblaciones de microorganismos, pero que tienen actividades complementarias y autorreguladas. El uso de consorcios microbianos para producir biobutanol fue decepcionante en los primeros estudios reportados debido a que la capacidad de producción de butanol es rara en la naturaleza, logrando concentraciones menores de 1 g/L.

No fue hasta la aplicación de la evolución adaptativa, que se logró obtener concentraciones de butanol similares a las previamente reportadas con cultivos puros utilizando sustratos refinados.

La evolución adaptativa logró seleccionar bacterias capaces de producir altas concentraciones de butanol, a partir de un consorcio parental sin esta capacidad. Este gran hallazgo se atribuye a dos posibles hechos: el primero, transferencia horizontal de genes entre bacterias con tolerancia a solventes como *Sutterella* con *Clostridium* que haya permitido incrementar la capacidad de producción de biobutanol, y la segunda, a la presencia de bacterias con capacidad de protección a los efectos tóxicos del butanol como *Pseudomonas* (Figura 2). Actualmente, continúan los estudios moleculares para descifrar los mecanismos por los cuales este consorcio microbiano produce biobutanol directamente a partir de residuos agrícolas.



Financiamiento

Este trabajo fue apoyado por el proyecto PAPIIT de la DGAPA-UNAM (No. IN102721) y el Fondo de Sostenibilidad Energética 2014-05 (CONACYT-SENER), Centro Mexicano de Innovación en Bioenergía, Clúster de Bioalcoholes (Subvención No. 249564). |

Figura 2. Red ecológica de un consorcio microbiano que produce biobutanol a partir de residuos agrícolas mediante bioprocesamiento consolidado. Cada nodo representa una especie y cada arista representa una interacción. El color representa una subcomunidad y el tamaño del nodo representa su relevancia relativa en función del número de interacciones. Adaptado de^[16].

Referencias

1. Economics, I. 2013. BIO-BUTANOL: THE GAME CHANGER, An Emerging Biofuel and Biochemical. A Multi-Client Study in Partnership with Chemical Strategies Group. <http://www.informaecon.com/MCSBiobutanol2013.pdf>. Accessed 20 February 2019.
2. Liu H., Wang G. y Zhang J (2013). The Promising Fuel-Biobutanol. In: Fang Z (ed) Liquid, Gaseous and Solid Biofuels - Conversion Techniques, Intech Open, London, pp 175-198.
3. Chiao J. S. y Sun Z. H. (2007). History of the acetone-butanol-ethanol fermentation industry in China: development of continuous production technology. *J Mol Microbiol Biotechnol* 13:12-14.
4. Ezeji T. C. y Qureshi N., Blaschk H. P. (2003). Production of acetone, butanol and ethanol by *Clostridium beijerinckii* BA101 and in situ recovery by gas stripping. *World J Microbiol Biotechnol* 19:595-603.
5. Erickson B. y Winters P. (2012). Perspective on opportunities in industrial biotechnology in renewable chemicals. *Biotechnol J* 7:176-185.
6. Pereira L. G., Chagas M. F., Dias M. O. S., Cavalett O. y Bonom A. (2014) Life cycle assessment of butanol production in sugarcane biorefineries in Brazil. *J Clean Prod* 96:557-568.
7. Tao L., Tan E. C., McCormick R., Zhang M., Aden A., He X. y Zigler B. T. (2014) Techno-economic analysis and life-cycle assessment of cellulosic isobutanol and comparison with cellulosic ethanol and n-butanol. *Biofuel Bioprod Bior* 8:30-48.
8. Wen Z., Wu M., Lin Y., Yang L., Lin J. y Cen P. (2014). Artificial symbiosis for acetone-butanol-ethanol (ABE) fermentation from alkali extracted deshelled corn cobs by co-culture of *Clostridium beijerinckii* and *Clostridium cellulovorans*. *Microb Cell Fact.* 13:92.
9. Valdez-Vazquez I. y Sanchez A. (2018). Proposal of biorefineries based on mixed cultures for lignocellulosic biofuel production: a techno-economic analysis. *Biofuel Bioprod Bior* 12:56-67.
10. Monitor, M. (2015). Asia-Pacific n-butanol market by applications (butyl acrylate, butyl acetate, glycol ethers, and others) & geography-global trends & forecasts to 2019.
11. Jiang Y. y Liu J., Jiang W., Yang Y. y Yang S. (2015). Current status and prospects of industrial bio-production of n-butanol in China. *Biotechnol Adv* 33:1493-1501.
12. Hanjra M. A. y Qureshi M. E. (2010). Global water crisis and future food security in an era of climate change. *Food Policy* 35:365-377.
13. Toivanen H. y Novotny M. (2017). The emergence of patent races in lignocellulosic biofuels, 2002–2015. *Renew Sust Energ Rev* 77:318-326.
14. Amiri H. y Karimi K. (2018). Pretreatment and hydrolysis of lignocellulosic wastes for butanol production: Challenges and perspectives. *Bioresource & Technology* 270, 702-721.
15. Lee R., Lynd 1, Willem H., Van Zyl, John E. y McBride, Mark Laser (2005). Consolidated bioprocessing of cellulosic biomass: an update. *Curr Opin Biotechnol* 16(5):577-83.
16. González-Tenorio D, Dudek K. y Valdez-Vázquez I. (2023). Butanol and caproate production by consolidated bioprocessing after adaptive evolution of a fermentative microbial community. *Biofuels, Bioprod. Bioref.* 17:1221-1235.