

OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS

OBTAINING OF BIOETHANOL FROM LIGNOCELLULOSE RESIDUES

Martha Lucia Malagón Micán*
Carlos Andrés Garay Hernández**
Natalia Peña Peña***

Recibido: 15 de agosto de 2017

Aceptado: 17 de noviembre de 2017

Resumen

Las investigaciones realizadas muestran que se han tratado residuos de frutas, hojas y tallos de plantas como material lignocelulósico, además de almidones, con el fin de producir un combustible renovable. Dichos residuos se pretrataron para separar la lignina y a partir de la celulosa y hemicelulosa se obtuvo azúcares reductores por medio de una hidrólisis, que puede ser ácida, básica o enzimática. Posteriormente, los azúcares se llevan a un proceso de fermentación con cepas de levaduras, las cuales se encargan de transformar los azúcares en bioetanol. En la actualidad la biomasa lignocelulósica es un sustrato importante que se sigue evaluando para incrementar la producción de bioetanol. La mayor cantidad de bioetanol obtenida fue de 200 mL/Kg de cáscaras de naranja.

Palabras clave: bioetanol, biomasa como energía, fermentación, hidrólisis, residuos.

Abstract

Research has shown that residues of fruits, leaves and stems of plants have been treated as lignocellulosic material, in addition to starches, among others, in order to produce a renewable fuel. These residues were pretreated to separate the lignin and from the cellulose and, reducing sugars were obtained by means of a hydrolysis which may be acid, basic or enzymatic. Later the sugars are taken to a process of fermentation with strains of yeasts, which are in charge of transforming the sugars in bioethanol. At present, lignocellulosic biomass is an important substrate that is still being evaluated to increase the production of bioethanol; the highest amount of bioethanol obtained was 200 mL/kg of orange peels.

Keywords: Bioethanol, biomass as energy, fermentation, hydrolysis, waste.

* Ingeniera química, magíster en Ingeniería Química, magíster en Docencia. Grupo de Investigación BIOTECFUA, Fundación Universidad de América, Bogotá Colombia. martha.malagon@profesores.uamerica.edu.co

** Estudiante coinvestigador. Grupo de Investigación BIOTECFUA, Bogotá Colombia Fundación Universidad de América, Bogotá, Colombia. carlos.garay@estudiantes.uamerica.edu.co

*** Estudiante coinvestigadora. Grupo de Investigación BIOTECFUA, Fundación Universidad de América, Bogotá Colombia. natalia.pena@estudiante.uamerica.edu.co

INTRODUCCIÓN

A lo largo de la historia ha habido avances en la tecnología que conllevan hacer uso de combustibles para su funcionamiento, como la aparición del motor de combustión interna el cual utiliza combustibles fósiles a base de petróleo; a pesar de que este combustible ha sido muy útil para el funcionamiento de dichos motores, se han presentado una serie de problemas que han afectado el medio ambiente, por tal razón se han desarrollado numerosas investigaciones con el fin de obtener biocombustibles, llamados así porque son producidos a partir de materia orgánica y mejoran las condiciones ambientales actuales.

Los azúcares obtenidos se llevan a un proceso de fermentación para producir bioetanol, el cual es el biocombustible con mayor producción mundial, con más de 40 000 millones de litros durante el año 2004.

El objetivo de este documento es comparar la obtención de bioetanol, a partir de diferentes materiales lignocelulósicos. Según Gracia (2011), el bioetanol es un combustible de origen vegetal que se produce a partir de la fermentación de la caña de azúcar, remolacha y otros vegetales con contenido de azúcar; por otra parte, se puede producir a partir del almidón de la papa, del maíz o de la yuca, entre otros, o de celulosa y hemicelulosa para obtener azúcar por medio de hidrólisis ácida o enzimática.

Por lo que se puede afirmar que en la actualidad los subproductos o desechos agroindustriales se han convertido en la materia prima de procesos que generan productos con alto valor agregado como la producción de alcohol carburante. Sin embargo, son muchos los limitantes en cuanto a la compleja degradación de la estructura lignocelulosa. Por ello han surgido trabajos e investigaciones que abarcan distintas problemáticas y proponen alternativas de solución hacia la explotación de la biomasa lignocelulósica para este fin.

METODOLOGÍA

Para la producción de bioetanol algunas investigaciones han estado orientadas hacia el aprovechamiento de residuos agroindustriales, realizando un pretratamiento, una hidrólisis y luego una fermentación con la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, que puede ser a una temperatura de 30 °C y un tiempo de 48 horas, como lo presentan Soha, Abdelhafez y Amer (2015), quienes trabajaron con cinco tipos de sorgo dulce y obtuvieron 160 mL de bioetanol/Kg de sorgo tipo SS-301.

Por otra parte, Pradip, Baishnab, Alam, Khan e Islam (2014) obtuvieron glucosa a partir de una especie de helecho y empleando la bacteria *Pseudomonas* sp., que permitió realizar la hidrólisis de la celulosa, previo tratamiento químico con hidróxido de amonio y tratamiento mecánico que permitió obtener un diámetro de 45 a 63 μm para el material vegetal. La fermentación de la glucosa obtenida se realizó con la misma levadura del estudio anterior, pero a una temperatura de 25 °C y se obtuvo una conversión del azúcar reductor del 20 % y 0.333 mg/L de bioetanol.

En otra investigación para la obtención de bioetanol, a diversos jugos de frutas y de caña de azúcar se les realizó el proceso de fermentación y algunos tubérculos se sometieron a una hidrólisis ácida y se fermentó con *S. cerevisiae*. Además hidrolizaron la hemicelulosa de hojas de caña y papel reciclado e igualmente realizaron la fermentación, como lo reportan Zamora, Prado, Capataz y Peña (2014). Los resultados obtenidos se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 1. Rendimiento potencial de bioetanol por hectárea cultivada de diversas materias primas seleccionadas y procesadas, densidad de etanol 0.789 g/L

Materia prima	Producción de bioetanol (g bioetanol/100 mL o 100g de sustrato)	Rendimiento potencial de bioetanol (Kg bioetanol/ Ha cultivada)
Jugo de uva	7.0	660
Jugo de manzana	6.3	405
Jugo de piña	3.2	645
Jugo de caña	7.0	3085
Almidón de papa	8.8	2376
Almidón de camote	8.6	1806
Almidón de malanga	4.4	167
Hojas de caña	1.1	187
Papel bond	0.75	N.A.

Fuente: Zamora et ál (2014).

Los investigadores Gebregergs, Gebresemati y Sahu (2016) utilizaron cáscaras de banano, las cuales cortaron en trozos de 2 a 4 cm, luego las secaron, realizaron una hidrólisis ácida y posteriormente fermentaron con la levadura mencionada anteriormente durante 24 h y pH de 5-5.5 obtuvieron 45 % de bioetanol.

Otros residuos agroindustriales como los provenientes de la leche de coco, jugo de piña y zumo de tuna fueron sometidos a hidrólisis ácida para la obtención de azúcares y posterior fermentación con la levadura *Saccharomyces cerevisiae* CDBB 790. Los resultados obtenidos fueron de un 20 %v/v para la leche de coco, 22.5 %v/v para jugo de piña y 12 %v/v para jugo de tuna (Domínguez, Torres y Aguilar, 2014).

Harsono, Salahuddin, Fauzi, Purwono y Kissinger (2015), obtuvieron bioetanol de segunda generación procedente de los residuos de café arábico, los cuales fueron secados en un horno a 60°C durante 48 horas, hasta alcanzar un contenido de humedad del 15 % aproximadamente para luego ser triturados. La fase líquida obtenida del proceso anterior fue sometida a la acción fermentativa con la levadura *Saccharomyces cerevisiae* adicionando entre 40 y 80 g, este proceso de fermentación se llevó a cabo durante 1, 2 y 3 días. En la tabla 2 se pueden observar los resultados relacionados con la concentración de bioetanol obtenida durante el proceso.

Tabla 2. Resultados de bioetanol a partir de desechos líquidos del proceso del café

Tiempo (días)	Masa de levadura (g)	Concentración de bioetanol (%)
1	0	6.40
	40	53.10
	80	51.40
2	0	17.10
	40	57.80
	80	60.20
3	0	5.40
	40	51.40
	80	51.40

Fuente: Harsono et ál. (2015).

Utilizando mucílago de café como sustrato, Pérez, Saldaña y Saldaña (2014) obtuvieron una concentración de azúcares reductores de 60 g/L, luego realizaron una fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* Y2034 cultivada en un medio de cultivo con extracto de levadura, peptona y dextrosa a 28 °C durante un tiempo de 48 horas. Se obtuvo un consumo de 96.315, 98.157 y 98.421 % de azúcares reductores, las cuales se convirtieron en alcohol.

Teniendo en cuenta que el manejo de desechos en muchas ciudades del mundo se torna complicado debido al alto volumen que se produce diariamente, Byadgi y Kalburg (2016) plantearon como objetivo de su investigación minimizar la carga de periódicos en los residuos sólidos municipales, mediante la utilización eficiente de este material en la producción de bioetanol debido a que estos representan un alto porcentaje de todos los desechos sólidos, pues su producción se hace de forma diaria.

El porcentaje de bioetanol producido según el método de gravedad específica fue 6.849 % v/v (procedente de un organismo de cultivo puro) y 6.031 % v/v (de cultivo aislado). El rendimiento de etanol también se cuantificó usando HPLC cada 24 horas y se comprobó que los rendimientos estimados a partir de HPLC eran 6.91 % del cultivo puro y 6.12 % de los organismos de cultivo aislados.

Las cepas de las levaduras NP01 y ATCC 4132 crecieron hasta 6 % de etanol y no se observó crecimiento a 9 % y 12 % de etanol después de 24 h. La cepa NP01 mostró mejor tolerancia al 15 % de etanol, sobrevivió durante 6 h, mientras que ATCC 4132 podría sobrevivir durante solo 4 horas a esta concentración de etanol. Sin embargo, ninguna de las cepas sobrevivió después de 30 minutos de exposición al 18 % de etanol (Phukoetphim, Salakkam, Laopaiboon y Laopaiboon, 2017).

En este estudio realizado por Sudiyani et ál. (2013) se estableció una unidad a escala piloto para el desarrollo y ensayo de un proceso para la producción de etanol basado en la sacarificación enzimática, partiendo del subproducto de la biomasa de la industria del aceite de palma que son los racimos de frutas vacías debido a que tienen un contenido de 37.3-46.5 % de celulosa, 25.3-33.8 % de hemicelulosa. Los investigadores llevaron a cabo un pretratamiento mezclando soluciones de NaOH al 10 % p/p para una cantidad de 50 kg de racimos de frutas vacías molido con un contenido de humedad del 10 %, este pretratamiento se realizó a temperaturas de 140 °C durante 30 minutos; tras haber preparado la materia prima, realizaron la sacarificación enzimática, para obtener monosacáridos a través de las enzimas celulasa y glucosidasa, para esto fue necesario mantener constantes la temperatura y el pH en un rango de valores de 50-52 °C y 4.8-5.5, respectivamente.

Para preparar la levadura para el proceso de fermentación se incubó *Saccharomyces cerevisiae* a 32 °C durante 48 h, posteriormente a esto se transfirió a un medio que contenía por cada litro: 0.25 % de extracto de levadura, 0.25 % de peptona, 3.3 % de glucosa, 0.03 % sulfato de magnesio heptahidratado y 0.10 % de fosfato monopotásico; después de que tuvieron el cultivo se realizó la fermentación en un tanque con 235 L a 32 °C y un pH de 5-6. La concentración de etanol alcanzó el 6.36 % v/v durante 36 horas de fermentación que se aproxima a 12.08 kg.

Mercenario, Huertasberistian y Navez (2015) utilizaron mango y cáscara de café para obtener azúcares, utilizando microorganismos aislados. A partir de los cuales obtuvieron bioetanol. Para esto se usaron dos cepas etánolicas H2MLB (levadura) y LM1104 (bacteria).

Los azúcares reductores encontrados por cada residuo fueron: pulpa de mango (60g/L), cáscara de mango (56 g/L), cáscara de café (45.3 g/L) y mucílago (51g/L), los que se determinaron por HPLC. La cuantificación de bioetanol con el sustrato de mayor concentración de azúcares “fue de 9.4 g/L para la cepa H2MLB y 8.8 g/L para LM1104, respectivamente. En el mucílago se obtuvo 5.5 g/L para la levadura y 5.8 g/L para la cepa bacteriana” (p. 336).

Según Sotelo, Avilez y Ginés (2015), a partir de la extracción de los jarabes glucosados contenidos en la cáscara de naranja y seguida de su fermentación se obtuvo bioetanol en una proporción de 20 mL de etanol por cada 100 gramos de cáscara.

Para la producción de bioetanol a partir de la caña de azúcar, Wong y Sanggari (2014) realizaron varios ensayos a diferentes valores de pH y temperatura para el proceso de fermentación con *Saccharomyces cerevisiae*, obteniendo la mayor concentración de 13.7 % de bioetanol a 35 °C y de 14.8 % a un pH de 4.5.

Santos, Souza, Farias y Rosas (2016) determinaron que el consumo de azúcares en el hidrolizado fue de aproximadamente 81 % y la eficiencia de conversión a etanol fue 59.6 % y 48.3 % para la fermentación y el proceso global, respectivamente, partiendo de fibras de cáscara de coco.

De acuerdo con los resultados de Irfan, Nadeem y Syed (2014), la máxima producción de bioetanol se observó con bagazo de caña de azúcar (77 g/L), seguido por la paja de arroz (49 g/L) y la paja de trigo (34 g/L).

En otro estudio, Kumar, Singh, Ranjan, Devi y Srinivasan (2013) plantearon como objetivo principal producir bioetanol a partir de *Cyperous rotundus*, ya que esta contiene alrededor de 20 a 22 % de carbohidratos que pueden ser fermentados para obtener alcohol, en este caso para empezar el proceso la planta se cortó en trozos de 2-3 cm y se secó durante 4 días, posteriormente se secó en estufa a 70 °C durante 6 horas y después se molió en polvo fino. Luego se realizó la conversión de celulosa en carbohidratos monoméricos simples, inoculando con esporas de *Aspergillus niger* durante 4 días en un agitador de incubadora a 100 rpm a 37 °C para agitación continua. Posteriormente se realizó la fermentación con *Saccharomyces cereviceae* y el contenido de etanol producido se estimó por medio del método de dicromato de potasio, el 40 % de los azúcares producidos se convirtieron en bioetanol.

En una revisión realizada por Azhar et ál. (2017), relacionada con el uso de levaduras en la producción sostenible de bioetanol, se encontró que existen varios factores que influyen en la producción de bioetanol, incluyendo la temperatura, la concentración de azúcar, el pH, el tiempo de fermentación, la velocidad de agitación y el tamaño del inóculo debido a que la tasa de crecimiento de los microorganismos está fuertemente relacionada con las condiciones a las que está expuesto, ya que se sabe que a condiciones extremas los microorganismos entran en una fase de estrés causando que su rendimiento no sea el esperado, para esto realizaron varios experimentos que arrojaron las condiciones óptimas para la obtención del alcohol. En la tabla 3 se presenta un resumen de los mejores resultados.

Se han identificado muchos tipos de cepas de levaduras en todo el mundo con la capacidad de producir etanol a partir de diferentes tipos de materias primas. Este artículo de revisión discutió sobre la eficiencia de diferentes cepas de levaduras en la producción de etanol, que dio como resultado que la cepa de tipo salvaje es la que más produce etanol.

Se evaluó la aplicación de la inmovilización celular en la producción de etanol y se determinó que el método de adsorción es el método preferido para inmovilizar las células de levadura, mientras que el alginato de calcio es la principal opción para el portador de levaduras. Las células inmovilizadas dan varias ventajas en la producción de etanol, como alta densidad celular, fácil separación del medio, alta conversión del sustrato, menor inhibición, tiempo de reacción corto y reciclado celular. Por lo tanto, las levaduras inmovilizadas mejoran la manera de comercializar la producción de bioetanol desde una perspectiva económica.

Tabla 3. Factores que afectan la producción de bioetanol

Cepa levadura	Materia prima	Temperatura, (°C)	pH	Concentración de azúcar (g/L)	Concentración de etanol (g/L)	Productividad de etanol (g/L/h)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> CHY1011	Almidón de yuca	32	4.5	585	89.1	2.1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ZU-10	Troncos de maíz	30	5.5	99	41.2	0.57
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> K35	Residuos de fideos instantáneos	30	-	84	41.3	1.72
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Madera	30	5.5	37.47	18.52	1.16
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATOC #24858	Caña	38	5	123	55	0.57
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Patata	30	5.3	240	128.5	4.76
<i>Kluyveromyces marxianus</i> K213	Jacinto acuático	42	4.8	23.3	7.34	0.31
<i>Kluyveromyces marxianus</i> CECT 10875	Cascarilla de trigo	42	5.5	-	36.2	0.5
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> GIM-2	Residuos de papel	33	-	27.8	9.5	0.59
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> CHFY0321	Puré de yuca	33	-	183.5	86.1	2.41

Fuente: Azhar et ál. (2017).

RESULTADOS

A partir de diferentes residuos agroindustriales se ha obtenido bioetanol siguiendo una metodología similar: un pretratamiento con hidróxido de sodio en una concentración determinada, con el fin de obtener celulosa y hemicelulosa que se hidrolizan por medio ácido o básico en la mayoría de las investigaciones realizadas, aunque también es posible realizar una hidrólisis enzimática como se observó en el estudio de Sudiyani et ál. (2013), este proceso tiene como objetivo la obtención de azúcares reductores que se fermentan por medio de cepas de la levadura *Saccharomyces cereviceae* para obtener bioetanol.

La temperatura para la fermentación varía entre 25 y 30 °C, el tiempo para este proceso es en general de 48 h, pero también se reportó 24 h, dependiendo de la cepa de *Saccharomyces cereviceae*. La concentración de bioetanol obtenida depende del tipo residuo, así se obtuvo 160 mL/Kg de sorgo, 111.5 mL/Kg de almidón de papa, 88.72 mL/Kg de caña de azúcar, 200 mL/Kg de cáscaras de naranja, 13.94 mL/Kg de hojas de caña, 87.58 mL/Kg de papel bond, 40.56 mL/Kg de jugo de piña, entre otros. Estos resultados muestran que los residuos lignocelulósicos son buena fuente de azúcares reductores que pueden ser fermentados para obtener etanol, dependiendo de

las condiciones de las diferentes etapas del proceso y de la composición del residuo, como en el caso de los almidones en el que se reporta mayor concentración.

COMENTARIOS

En este momento la biomasa lignocelulósica se ha convertido en sustrato importante y se siguen evaluando diferentes residuos para la obtención de bioetanol, con el fin de incrementar su rendimiento y su producción a escala comercial.

De los resultados presentados se encontró que la mayor cantidad de bioetanol obtenida fue reportada por Sotelo et ál. (2015), 200 mL de bioetanol/Kg de cáscaras de naranja, seguida por Soha et ál. (2015), quienes obtuvieron 160 mL de bioetanol/Kg de sorgo tipo SS-301.

Además, Harsonoa et ál. (2015) obtuvieron 60.2 % de bioetanol procedentes de los residuos de café arábico y Zamora et ál. (2014), reportaron que el jugo de caña y de uva producen 7 % de bioetanol y que a partir de almidón de papa se obtiene un 8.8 % de bioetanol.

Por otra parte, el aprovechamiento de los residuos lignocelulósicos genera un impacto ambiental positivo en países en vías de desarrollo como Colombia y representa una alternativa válida para aliviar problemas energéticos y ambientales debido a que estos residuos sólidos orgánicos son abundantes en Latinoamérica por los climas tropicales y extensas áreas de tierras cultivadas.

Una de las limitantes en la producción de bioetanol a partir de residuos lignocelulósicos es su degradación en celulosa, hemicelulosa y lignina, para obtener la mayor cantidad de azúcares reductores que luego serán fermentados. Con este fin se realiza un pretratamiento de tipo químico que, aunque ha dado resultados aceptables, no es ambientalmente viable y se prefiere el método enzimático. Además, se debe evaluar el proceso de fermentación, seleccionando las cepas de mayor productividad. Por otra parte, el empleo de la biomasa lignocelulósica como materia prima representa una solución a la problemática ambiental generada por los desechos agroindustriales.

En el año 2001 Colombia desarrolló el marco regulatorio para la producción de biocombustibles (Ley 693 de 2001) y en el 2004 inició la comercialización de los mismos, lo cual permitió incursionar en este sector generando empleo, incentivando la investigación en el desarrollo de estos e incrementando el desarrollo agroindustrial (Resolución n.º 1565, 2004).

REFERENCIAS

- Azhar, H., Abdulla, R., Jambo, S., Marbawi, H., Azlan, J., Mohd, A., y Rodriguez, F. (2017). Yeast in sustainable bioethanol production: a review. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 52-61.
- Byadgi, S., y Kalburg. (2016). Production of bioethanol from Waste Newspaper. *Procedia Environmental Sciences*, 35, 555-562.
- Domínguez, A., Torres, J., y Aguilar, R. (2015). Production of Bioethanol from agro-industrial wastes. *Fuel*, 149, 85-89.
- Gracia, C. (2011). Biocombustibles: energía o alimento. *Omniscellula*, 25, 21-27.
- Gebregers, A., Gebresemati, M., y Sahu, O. (2016). Industrial ethanol from banana peels for developing countries: response surface methodology. *Pacific Science Review A: Natural Science and Engineering*, 18, 22-29.
- Harsono, S., Salahuddin, Fauzi, M., Purwono, G., Soemano, D., y Kissinger. (2015). Second generation Bioethanol from Arabica Coffee Waste Processing at Smallholder Plantation in Ijen Plateau Region of East Java. *Procedia Chemistry*, 14, 408-413.

- Irfan, M., Nadeem, M., y Syed, Q. (2014). Ethanol production from agricultural wastes using *Saccharomyces cerevisiae*. *Braz. J. Microbiology*, 45(2), 457-465.
- Kumar, N., Singh, J., Ranjan, R., Devi, S. y Srinivasan, M. (2013). Bioethanol production from weed plant (*Cyperus rotundus*). *Research Library Advances in Applied Science*, 4(4), 299-302.
- Ley 693 de 2001. *Por la cual se dictan normas sobre el uso de alcoholes carburantes, se crean estímulos para su producción, comercialización y consumo, y se dictan otras disposiciones*. Diario Oficial 44564 de septiembre 27 de 2001
- Mercenario, L., Huertasberistian, G., y Návez, D. (2015). Producción de etanol a partir de mango y residuos agroindustriales de café con microorganismos aislados de la tuba. *Foro de estudios sobre Guerrero, México*, 1(2), 589-591.
- Pérez, B., Saldaña, S. y Eapen, D. (2014). Bioethanol production from coffee mucilage. *Energy Procedia*, 57, 950-956.
- Phukoetphim, N., Salakkam, A., Laopaiboon, P., y Laopaiboon, K. (2017). Improvement of ethanol production from sweet sorghum juice under batch and fed-batch fermentations: effects of sugar levels. *Electronic Journal of Biotechnology*, 26, 844-92.
- Pradip, S., Baishnab, A., Alam, F., Khan, M., y Islam, A. (2014). Production of bio-fuel (bioethanol) from biomass (Pteris) by fermentation process with yeast. *Procedia Engineering*, 90, 504-509.
- Resolución 1565. *Por la cual se modifica parcialmente la Resolución 898 del 23 de agosto de 1995, que regula los criterios ambientales de calidad de los combustibles líquidos y sólidos utilizados en hornos y calderas de uso comercial e industrial y en motores de combustión interna*. Diario Oficial 45777 de diciembre 30 de 2004
- Santos, M., Souza, A., Farias, C., y Rosas, R. (2016). Bioethanol production from coconut husk fiber. *Food Technology*, 46(10), 1872-1877.
- Soha, K., Abdelhafez, A., y Amer, E. (2015). Evaluation of bioethanol production from juice and bagasse of some sweet sorghum varieties. *Annals of Agricultural Science*, 60(2), 317-324.
- Sotelo, R., Avilez, R., y Ginés, F. (2015). Obtención de bioetanol mediante la fermentación de jarabes obtenidos de cáscara de naranja. *Foro de Estudios sobre Guerrero, México*, 1(2), 589-591.
- Sudiyani, Y., Styarini, D., Triwahyuni, E., Sudiarmato, Kiky, S., Aristiawan, Y., Abimanyua, H., y Hee, M. (2013). Utilization of biomass waste empty fruit bunch fiber of palm oil for bioethanol production using pilot- scale unit. *Energy Procedia*, 32, 31-38.
- Wong, y Sanggari. (2014). Bioethanol production from sugarcane bagasse using fermentation process. *Oriental Journal of Chemistry*, 30(2), 507-513.
- Zamora, T., Prado, A., Capataz, J., Barrera, B., y Peña, J. (2014). Demostraciones prácticas de los retos y oportunidades de la producción de bioetanol de primera y segunda generación a partir de cultivos tropicales. *Educación Química*, 25(2), 122-127.