

APROVECHAMIENTO INTEGRAL DEL GLICEROL RESIDUAL EN LA INDUSTRIA DEL BODIESEL: CASO 1,3-PROPANODIOL (1,3-PD)

M.Sc. Manuel Alejandro Mayorga¹ Ph.D Wilson Alfonso Mejía²

M.SC. MANUEL ALEJANDRO MAYORGA¹



Ingeniero Químico y Magister en Ingeniería – Ingeniería Química de la Universidad Nacional de Colombia, con énfasis en bioprocesos. Estuvo entre los 10 mejores ECAES de Ingeniería Química a nivel nacional del año 2003. Ha sido docente universitario de la Escuela Colombiana de Carreras Industriales -ECCI-, Fundación Universidad de América y Universidad de Cundinamarca. Actualmente es catedrático en Máquinas Térmicas y Fenómenos de Transporte, experto en el área de térmicas (termodinámica, transferencia de calor, etc.) e investigador de la ECCI; además participa como líder de la línea de Energía del Grupo de Investigación en Aprovechamiento Tecnológico de Materiales y Energía, GIATME. Correo electrónico: alejo_mayorga@yahoo.com

PH.D WILSON ALFONSO MEJÍA NARANJO²

Microbiólogo egresado de la Universidad de los Andes, Especialista en Enseñanza de las Ciencias Naturales de la Universidad Javeriana, Magister en Bioquímica y Doctor en Ciencias (Química) de la Universidad Nacional de Colombia. Su doctorado lo empezó en la Universidad Uppsala en Suecia, el cual culminó en el Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos, en Bethesda, Maryland. Realizó estudios de postdoctorado en la Universidad Stockholm y también en la Escuela de Medicina de Monte Sinaí en New York. En el 2004 obtuvo el premio nacional José Félix Patiño de la Asociación Colombiana de Nutrición Clínica por sus trabajos y publicaciones científicas relacionadas con bioquímica y nutrición clínica. Fue seleccionado entre los 10 jóvenes sobresalientes del país en el año 2005. Ha sido profesor de la Universidad Nacional, El Bosque y Javeriana. Actualmente es catedrático de Bioquímica y participa en un grupo de investigación en bioquímica nutricional.

RESUMEN

La búsqueda de opciones para el desarrollo de procesos químicos limpios, independientes y potenciales sustituyentes de la petroquímica tradicional, ha llevado a que las rutas biotecnológicas se abran paso y sean más tenidas en cuenta.

Usando la fermentación de un sustrato, como el glicerol, residuo que ha empezado a incrementar su disponibilidad a nivel mundial, gracias a la creciente producción de biodiesel, es posible plantear un proceso técnica y económica factible, para obtener un producto de alto valor agregado como el 1,3- propanodiol (1,3-PD), el cual por sus notables propiedades tiene importantes aplicaciones y promisoriamente puede llegar a sustituir muchas materias primas y aditivos en la industria de los polímeros, pinturas, lubricantes y otras más.

La revisión llevada a cabo busca dar fundamentos sobre esta alternativa de desarrollo no solo económico y ambiental, sino también tecnológico, ya que la bioconversión es una herramienta más racional para el uso adecuado y sostenible de los recursos energéticos y materiales que dispone el hombre. A la vez, se presenta un panorama actual del estado del arte y las perspectivas de dicho bioproceso.

Palabras claves: 1,3-Propanodiol, Glicerol, Biodiesel, Bioproceso, Fermentación, Bioseparación

ABSTRACT

The search of alternatives for the development of chemical processes which are clean, independent and the traditional petrochemical's potential substituent, has led to biotechnological routes break through and be more considered.

Using the fermentation of a substrate, such as glycerol, a residue, which has begun to increase its global availability, thanks to the increasing production of biodiesel, possible pose a technically and economically feasible process to obtain a product with high added value such as 1,3 - propanediol (1,3-PD), which, because of its remarkable properties, it has important applications, so promisingly it can replace many raw materials and additives in the polymer industry, paints, lubricants and others more.

The review conducted seeks give basics on this development's alternative, not only economic and environmental, but also technological, as the bioconversion is rational tool for appropriate and sustainable use of the energy and materials resources available to man. At the same time, provides an overview of the current state of the art and prospects of the bioprocess.

Keywords: 1,3-propanediol, Glycerol, Biodiesel, Bioprocess, Fermentation, Bioseparation

INTRODUCCIÓN

El creciente uso en las actividades humanas de productos con menor impacto ambiental y la reconversión de procesos industriales, debido al inminente agotamiento del petróleo y otras fuentes de carbón fósiles, ha sido la tendencia que actualmente viene impulsando la producción de biocombustibles más amigables con el medio ambiente y la salud humana, principalmente por la evidente reducción de emisiones nocivas en su combustión [1].

De esta manera muchos países ya han venido implementando como política de Estado la sustitución parcial de los combustibles tradicionales usando alcohol en el caso de la gasolina y esteres metílicos ("biodiesel") en cuanto al diesel [2, 3, 4, 5, 6, 7]; lo que entonces ha llevado a: la generación de más espacios para las relaciones económicas, el mayor uso intensivo de ciertos recursos naturales con alto contenido de sustratos fermentables y transesterificables, y la generación de nuevos subproductos y desechos.

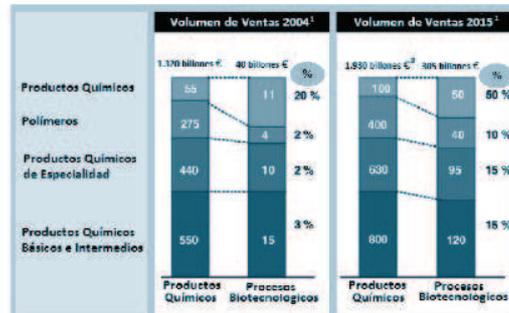
En Colombia existen ya varias plantas tanto para la producción de alcohol carburante como de biodiesel, a partir de la caña de azúcar y de la palma africana respectivamente. En el caso del biodiesel, se tiene un progresivo aumento de su presencia en el mercado, sin embargo, las plantas que lo fabrican aún necesitan subsidio del gobierno para mantener su actividad empresarial [10].

Dada la baja viabilidad económica y "menor" impacto ambiental del proceso de producción de biodiesel, se requiere su mejora integral, es decir en todos los aspectos [11]. De esta manera se trabaja en: el aumento de productividad [12]; la reducción de emisiones en la quema del biocombustible [29, 15, 30], así como su adecuado comportamiento funcional en motores [31, 32, 30]; y sobre todo, en la búsqueda de mejores materias primas con alto rendimiento y calidad de aceite [13, 14, 15, 16]. Para esto último también se viene investigando el uso de materiales reciclados

(p.e. aceite de cocina usado [17, 18]), mezclas [19, 14], fuentes no extensivas [20] y no comestibles [21] (p.e. jatropha, [22, 23, 24, 25, 26, 27, 5, 6, 28, 7], higuerilla y otras).

Explorando otras opciones, es necesario saber que el biodiesel se produce generalmente a partir de grasas de animales o vegetales y en su proceso se genera cerca de 10% (W/W) de glicerol como producto secundario [8], pronosticándose un exceso de este subproducto, el cual no tendrá un mayor uso en los sectores económicos que tradicionalmente lo vienen empleando como materia prima; el exceso de glicerol generado puede ser un problema ambiental, existiendo un reporte de 70 millones de galones anuales de este poli-ol tratados como desechos [9], y una de las posibles aplicaciones es su utilización como fuente de energía para el crecimiento de microorganismos en la industria microbiológica [8]. La tendencia actual de descenso del precio de la glicerina puede compensarse fomentando el desarrollo de nuevas aplicaciones, con el fin de ampliar el mercado existente y estabilizar el precio.

En vista de que el proceso de biodiesel requiere ser mejorado en cuanto a su rentabilidad [1] y continuando en la línea del uso racional y ambiental de recursos, se ha vislumbrado la posibilidad de biotransformar este glicerol residual para lograr otros productos de alto potencial en el mercado, dada la cada vez mayor participación en el volumen de ventas de sustancias obtenidas por procesos biotecnológicos frente a sus homologas producidas por procesos químicos, como se observa en la Fig. 1.



1) Ventas mundiales de químicos sin productos farmacéuticos pero incluyendo farmacéuticos intermedios.
2) Cálculo de una tasa de crecimiento promedio de 3.5% anual para las ventas mundiales de químicos.
Fuente: Adaptado de un estudio de mercado de F&S CAPITAL.

Fig. 1. Desarrollo del volumen de ventas por grupos en productos químicos de procesos biotecnológicos en 2004 y 2015 [35].

Para aumentar el valor del glicerol crudo, cobran importancia significativa varios métodos para su conversión en ácido cítrico, ácido propiónico, ácido succínico, hidrógeno, etanol, biosurfactantes, 1,2-propanodiol, así como el caso especial de estudio: el 1,3-propanodiol (1,3-PD) [33]. También a partir de dos procesos de tratamiento anaeróbico con bioreactores productores de hidrógeno (HPBs) y celdas microbiológicas de combustible (MFCs), es posible convertir eficientemente el glicerol en energía limpia, "bioenergía", (hidrógeno y electricidad) y en un producto líquido valioso (p. e. 1,3-PD) [9]; de hecho se ha buscado la mejora del proceso de fermentación por lotes de glicerol para la generación de hidrógeno [34]. Por otro lado el uso del glicerol como sustrato en la obtención de biosurfactantes se ha hecho a concentraciones no mayores al 3% [8].

De esta manera se pretende estudiar la factibilidad de obtener biotecnológicamente 1,3-propanodiol, (1,3-PD), un producto de alto valor agregado, para que a nivel industrial sea competitivo

frente a los procesos vía síntesis química, visualizando el potencial del 1,3-PD como producto químico a granel [35] y las perspectivas de estas conversiones para reducir la dependencia que actualmente se presenta con los combustibles fósiles [36]. Ya se han realizado investigaciones con cepas nativas del suelo colombiano, que son excelentes productoras de solventes tipo 1,3-PD [1] y además se ha comparado su comportamiento fermentativo con otras cepas ya referenciadas, las cuales son super-productoras del compuesto de interés. A partir de glicerol residual se ha investigado que los mejores productores, bajo condiciones anaerobias, tanto para 1,3-PD y etanol son la *Klebsiella pneumoniae* y cepas *Pantoea agglomerans*, que muestra un gran potencial para bioprocesos [37].

Han sido evaluados biotecnológicamente los residuos de glicerol para la producción de 1,3-PD, ácido cítrico y aceite unicelular, usando *Clostridium butyricum* (*C. butyricum*) en cultivos discontinuos anaeróbicos y en cultivos continuos. [38]. También para la producción anaeróbica de n-butanol usando *Clostridium pasteurianum* inmovilizado sobre Amberlita [39].

Se ha probado la combinación e integración en serie de dos bioprocesos: la producción de biodiesel con lipasa y la posterior producción de 1,3-PD por *Klebsiella pneumoniae* utilizando tecnología de membranas; dicha combinación evita la inhibición de la lipasa por el glicerol, reduce el costo de producción e incrementa la productividad tanto para el biodiesel como para el 1,3-PD [40].

1. GENERALIDADES DEL 1,3-PD

Este compuesto orgánico bifuncional valioso, por mucho tiempo sólo ha sido usado como un solvente y en la producción de dioxanos. Ahora es muy llamativo usarlo como monómero para la polimerización por policondensación de poliésteres, poliuretanos, poliéteres y polietilenos [41, 36], en especial el tereftalato de politrimetileno (PTT) [33], que por sus propiedades no sólo ofrecerá biodegradabilidad, sino que los plásticos derivados de este monómero además presentan mejores propiedades al ser más livianos y estables a los rayos U.V, que los generados por otros dioles, como es el caso del 1,2-propanodiol, 2,3-butanodiol y etilenglicol [1], por lo que resultan polímeros atractivos para la industria cosmética [35].

También puede ser usado como precursor químico de compuestos cíclicos, lubricante tipo poliglicol, grupo protector de aldehídos y cetonas en la preparación de 1,3-ditiolanos y como reactivo en la síntesis del 1,3-diyodopropano [1]. De la misma forma en adhesivos, películas, detergentes, cosméticos y medicinas [36]; hay más usos reportados para el 1,3-PD como limpiador para alfombras, protector en balística, biocida, solvente, conservante, tranquilizante, desinfectante, resina, etc. [42, 43, 1, 44, 45].

Generalmente, el 1,3-PD es producido por varios métodos, entre los cuales se encuentran: la hidratación de la acroleína, la hidroreformilación del óxido de etileno (patentado por Dupont) o por

vía biotecnológica, a partir de recursos renovables utilizando microorganismos [35], como el caso del uso de glicerol como sustrato para la bioconversión por bacterias tipo *Clostridium*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Lactobacilli* entre otras [1].

Una comparación más detallada entre los procesos biológicos y químicos en su parte técnica y económica, mostrando sus ventajas y desventajas, ha sido expuesta para sostener la viabilidad de estas rutas en varios proyectos [43, 44, 45].

La producción vía biotecnológica del 1,3-PD puede hacerse económicamente viable debido al bajo costo y a la renovabilidad de los sustratos usados, además de las bajas energías usadas, en comparación con los otros métodos de obtención [44].

Alrededor del 50% de los costos de producción son debidos a materias primas, como se observa en la Fig. 2 para la obtención de 1,3-PD por diferentes rutas. Sin embargo el problema a vencer estriba en la reducción de los costos de bioseparación, debido a la baja concentración del producto de interés en el caldo de fermentación.

El aprovechamiento del glicerol por la conversión microbiológica al importante intermedio 1,3-PD, es una alternativa a la costosa refinación del glicerol hasta calidad farmacéutica, la cual requiere altos consumos energéticos. Se han diseñado y empleado varias estrategias que aprovechan las rutas bioquímicas para la producción microbiana de 1,3-PD, cada una con sus ventajas y limitantes [35], y

que incluyen varias técnicas de cultivo de microorganismos naturales y/o manipulados genéticamente (recombinantes) [36, 35].

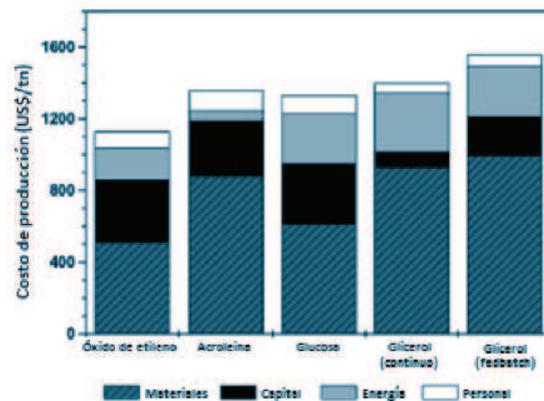


Fig. 2. Estructura de costos para la obtención de 1,3 PD por diversas rutas. Fuente: Adaptación [42].

A través de proyectos integrales de bioconversión [44], que manejen aspectos económicos y ecológicos, se logra un aprovechamiento sostenible de los subproductos de la industria del biodiesel; cuando en dichas transformaciones de glicerol a 1,3-PD se alcanzan concentraciones hasta de 100 g/L, se reducen los costos de producción de 1,3-PD a niveles eficientes y competitivos, mostrando así lo promisorio que pueden llegar a ser estos proyectos [42].

2. OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO

Dos importantes etapas para la conversión microbiana de glicerol a 1,3-PD son los procesos anteriores (A) o “upstream” y los procesos posteriores (B) o “downstream” (bioseparación), a la fermentación, como se visualiza respectivamente en la Fig. 3. Los primeros involucran la preparación,

esterilización y pretratamiento del medio de fermentación; así el estado del glicerol crudo pueden llegar a inhibir la fermentación y complicar la recuperación del producto. Los segundos involucran la recuperación y purificación. Para optimizar el proceso se requiere investigar ambos pasos [42].

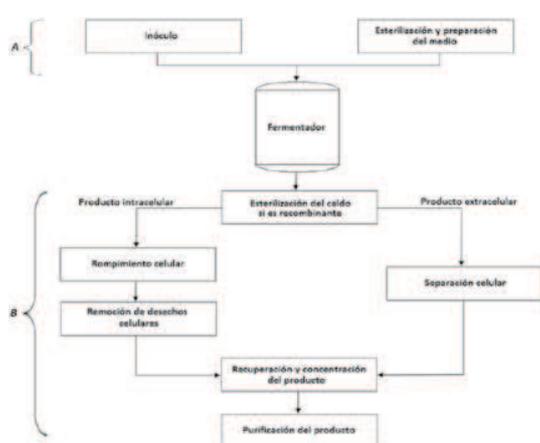


Fig. 3. Operaciones de un proceso biotecnológico. Fuente: Adaptación [46].

Biebl [42] ha reportado que la tasa de formación de 1,3-PD es inhibida tanto por el sustrato como por los productos. Haciendo ciertas variaciones en los cultivos, los grados o tipo de glicerol [42] y las clases de biorreactores (así como su forma de operación), se han obtenido distintos comportamientos de la fermentación cuantificados básicamente en tres parámetros: concentración de 1,3-PD en el caldo [g/L] rendimiento [%] y productividad [g/L.h].

2.1 Upstream

Empleando glicerol puro, como única fuente de carbono, y variando la temperatura, la concentración de sustrato y el pH, los resultados que muestran el mejor rendimiento y la eficiencia en 1,3-PD fueron: 37 °C, 70 g / L de glicerol y pH = 7; en estas condiciones el *C. butyricum* (DSM 10702) es capaz de producir 51,2 g/L de 1,3-PD, con un rendimiento del 89% (molar) [33].

Existe la inquietud respecto a si las impurezas de la materia prima industrial afectan el crecimiento celular y la producción de 1,3-PD [33]. Con respecto al glicerol usado se han realizado pruebas comparativas entre el glicerol crudo obtenido del biodiesel y el glicerol comercial, encontrándose que las cepas de *C. butyricum* son tolerantes a ambos si la calidad está por encima del 87% (W/W). También se observa que se produce 1,3-PD aún con calidades del 65% y sin tratamiento alguno, claro que con un aumento de la inhibición de crecimiento en un 39%; el rendimiento molar en dicho caso fue del 60% [47].

También se ha estudiado la purificación de glicerina obtenida de plantas de biodiesel que utilizan aceite de cocina usado como materia prima, y la evaluación económica de la incorporación de ésta operación adicional en las plantas que no la tratan, mostrando que pueden beneficiarse de la recuperación de la glicerina y la disminución en el costo de tratamiento de aguas residuales [10].

La forma tradicional de producir biodiesel mediante una transesterificación de aceites o grasas con un alcohol en presencia de un catalizador conlleva a que por cada 10 tn de biodiesel se genere 1 tn de glicerol [33]; en términos volumétricos, por cada 100 L de biodiesel producido hay un desecho entre 5 y 10 L de glicerol crudo debido a la difícil eliminación de las impurezas. Por lo tanto es necesario realizar un pretratamiento al glicerol antes de su fermentación hacia 1,3-PD y como opción se ha estudiado realizarlo con disolventes; los resultados encontrados a través de esta metodología muestran que los rendimientos son comparables a los de glicerina, en los casos que se usó éter de petróleo para tratar glicerol proveniente tanto del aceite de salvado de arroz como de soja, y también en los que se usó hexano para el glicerol crudo del aceite de jatropa y linaza [48].

2.2 Fermentación

Un estudio acerca de la producción de 1,3-PD con *C. butyricum* (DSM 5431) en tanques agitados y en reactores airlift de varias escalas (2 m³ y 1.2 m³ respectivamente) [49], en los que gasificando con un gas inerte (N₂ para la desorción rápida de gases de fermentación como CO₂ y H₂) y cambiando la velocidad de agitación en el tanque se encontró que éstos no ofrecen un efecto significativo sobre la escala y el tipo de reactor. La inhibición por la concentración inicial del sustrato en operación fed-batch controló la optimización de resultados. Sobre los resultados obtenidos se puede concluir que el escalado de 1,3-PD a tamaños de reactor de producción industrial no ofrece mayores problemas.

Como el reactor airlift es más barato (tiene los costos de inversión y operación más bajos), su uso parece ser más atractivo.

Es necesario considerar los efectos del escalamiento de los resultados de laboratorio, para lo cual se tiene como referente una exitosa ampliación volumétrica hasta reactores de 5000 L en serie para la producción micro-aeróbica de 1,3-PD a partir de *Klebsiella pneumoniae* donde parámetros como la agitación, aireación y la turbulencia fueron investigados como criterios de la extensión, siendo el primero el más importante [50].

En cuanto a la manera de operación, la forma continua se ha considerado para altas producciones, aunque las concentraciones obtenidas son muy bajas lo que disminuye la eficiencia de los procesos de bioseparación. Algunos progresos en cultivo fed-batch al suministrar nutrientes: controlando CO₂ y corrigiendo el pH [41, 49] con potasa han llevado a que la fermentación batch en cuanto a su capacidad de producción sea similar a la forma continua. Usando cultivos por lotes de *Lactobacillus diolivorans* se encontró que la concentración puede aumentarse casi en un 77% si el medio es co-alimentado con glucosa y glicerol en una relación molar de 0.1; además la adición de vitamina B₁₂ para el medio de cultivo aumentó la producción en un 15% para una concentración final de 84.5 g/L para el 1,3-PD [51].

Hay datos disponibles para una baja rata de dilución y una alta concentración de glicerol fermentado por *Clostridium* en un medio no continuo, pero éstos parecen

estar en el mismo rango, si para estimar se usa el dato de Reimann [52]; de tal manera se llegó a una concentración por encima de 23 g/L en 1,3-PD y a un rendimiento del 68% correspondiente a una tasa de dilución 0.27 h^{-1} y a una productividad de 6.2 g/L.h.

En la elaboración de diversas estrategias de operación de los biorreactores que mejoren la producción de 1,3-PD se usan modelos matemáticos apropiados [36], así como criterios de diseño y dimensionamiento de dichos equipos de acuerdo a los diferentes parámetros establecidos [53].

Desarrollos para incrementar la productividad por retención celular han sido también aplicados trabajando con células inmovilizadas de *Citrobacter* sobre una espuma de poliuretano en un reactor de lecho fijo [54]. Comparando con el correspondiente reactor de tanque agitado para el mismo medio, la productividad del propanodiol fue doblada, pero la concentración no incrementó más allá de 19 g/L. Resultados similares fueron obtenidos con *Clostridium* cuando se usó una técnica de filtración por flujo cruzado [55]. La productividad fue incrementada 4 veces en comparación con el medio de cultivo continuo, pero la máxima concentración de producto (26 g/L) no logró ser significativamente incrementada con la recirculación celular. Usando biopelículas para la inmovilización de las células en biorreactores de lecho empacado se vio que las cepas de *Pantoea agglomerans* han tenido una mayor productividad (3.6 g/L.h) que *Citrobacter freudii* al fermentar glicerol crudo [56]. La ruta química y la cinética desde glicerol

hasta 1,3-PD con *C. butyricum* se ha establecido en casos en los que el butirato o el acetato únicamente se degradan para la producción de energía [57]. Por otro lado, se han establecido modelos cinéticos con *Klebsiella pneumoniae* en una y dos etapas para medios anaeróbicos [58]. Además, la ingeniería genética y metabólica podría mejorar significativamente los rendimientos del producto y superar las limitaciones de la tecnología de fermentación [35].

Cuando en un proceso fed-batch se alimenta con glicerol por encima de 100 g/L, la conversión por *C. butyricum* es cercana al 100%, pero el caldo de fermentación contiene no solo 1,3-PD, sino también otros productos como ácidos, alcoholes y dioles, es decir se reduce la selectividad [43].

La variación de la productividad con el tiempo define en gran medida la viabilidad económica del proceso, pues si es mayor de 10 h deja de ser atractivo [41]; entre 9.0 y 9.75 horas la productividad fue 6.9 g/L.h. La máxima concentración que se obtiene es de 51.05 g/L a las 37.25 horas. En este punto el rendimiento molar es del 53%; el acetato acumulado está por encima de 10 g/L y luego baja a 8 g/L; el etanol acumulado es de 9 g/L y el succinato es de 3 g/L.

2.3 Bioseparación

Para la bioseparación se han hecho esfuerzos centrados en establecer protocolos para las diversas operaciones "downstream" y los problemas asociados a éstas [36], así como la purificación del 1,3-PD producido biológicamente [35]. El costo correspondiente a una bioseparación

en determinado proceso puede llegar a representar hasta un 60% del costo total sin considerar las materias primas, por lo que existe una relación inversa entre el precio de venta de un producto biotecnológico y la concentración en la que se encuentre en el caldo del biorreactor; así, el éxito comercial de un proceso biotecnológico depende en gran medida de la adecuada selección del proceso de bioseparación [46].

Varias rutas han sido investigadas para separar el 1,3-PD, en todos los casos el paso final es la destilación al vacío dando la alta pureza requerida del producto. Para separar la biomasa es una ventaja agregar floculantes para precipitar los ácidos. La microfiltración por flujo cruzado, así como la centrifugación, pueden ser usadas para la separación de sólidos. Las técnicas de extracción y de adsorción han sido probadas, pero desde el punto de vista del costo marginal otros métodos son actualmente más atractivos como el caso de una evaporación seguida por rectificación al vacío [43].

3. CONCLUSIONES

Es generalmente reconocido que los productos biotecnológicos comerciales son promisorios y de mayor importancia para la industria y la sociedad por su disponibilidad, uso de bajas energías e impacto ambiental.

Uno de estos casos es el del 1,3-PD. La producción de biodiesel, un combustible más amigable con el entorno y sostenible en el tiempo, puede hacerse rentable en la medida que se integre la obtención de 1,3-PD a partir de la bioconversión de la glicerina

residual generada como subproducto.

La sencilla razón es que el 1,3-PD es un producto de alto valor agregado que va a requerir glicerol, el cual cada vez está más disponible y a menor costo. Este diol ofrece excelentes propiedades que le abren opciones en el mercado de la industria química.

La obtención biológica de 1,3-PD ofrece ciertas ventajas sobre la síntesis química, pero es necesario lograr una mejora continua del comportamiento de la fermentación venciendo ciertas limitaciones como la composición y concentración de las materias primas y el limitado espectro de los sustratos, los costos de separación y las bajas velocidad de reacción.

REFERENCIAS

- [1] GRUPO DE BIOPROCESOS Y BIOPROSPECCIÓN, y, GRUPO DE BIONEGOCIOS. INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA, UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA, "Producción de 1,3 Propanodiol a Partir de Glicerol Generado del Proceso de Producción de Biodiesel, Empleando Cepas Nativas de Clostridium spp: Estudio del Operón, Condiciones de Producción por Fermentación y su Viabilidad Económica.," Convocatoria Colciencias, Bogotá, 2005.
- [2] C. CRAVEN, "The Honduran palm oil industry: Employing lessons from Malaysia in the search for economically and environmental sustainable energy solutions," Energy Policy, vol. 39, pp. 6493-6950, 2011.
- [3] S. MEKHILEF, S. SIGA and R. SAIDUR, "A review on palm oil biodiesel as

a source of renewable fuel," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 15, pp. 1937-1949, 2011.

[4] J. A. QUINTERO, E. R. FELIX, L. E. RINCON, M. CRISPÍN, J. FERNANDEZ BACA, Y. KHWAJA and C. A. CARDONA, "Social and techno-economical analysis of biodiesel production in Peru," *Energy Policy*, vol. 43, pp. 427-435, 2012.

[5] A. S. SILITONGA, A. E. ATABANI, T. I. MAHLIA, H. H. MASKUJI, I. A. BADRUDDIN and S. MEKHILEF, "A review on prospect of *Jatropha curcas* for biodiesel in Indonesia," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 15, pp. 3733-3756, 2011.

[6] C.-Y. YANG, Z. FANG, B. LI and Y.-f. LONG, "Review and prospects of *Jatropha* biodiesel industry in China," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 16, pp. 2178-2190, 2012.

[7] K. PRUEKSAKORN, S. H. GHEEWALA, P. MALAKUL and S. BONNET, "Energy analysis of *Jatropha* plantation systems for biodiesel production in Thailand," *Energy for Sustainable Development*, vol. 14, pp. 1-5, 2010.

[8] S. SILVA, C. FARIAS, R. RUFINO, J. LUNA and L. SARUBOO, "Glycerol as substrate for the production of biosurfactante by *Pseudomonas aeruginosa* UCP00992," *Colloids and surfaces: Biointerfaces*, p. 174, 2010.

[9] Y. SHARMA, R. PARNAS and B. LI, "Bioenergy production from glycerol in hydrogen producing bioreactors (HPBs) and microbial fuel cells (MFCs)," *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 36, pp. 3853-3861, 2011.

[10] A. SINGHABHANDU and T. TEZUKA, "A perspective incorporation of glycerin purification process in biodiesel plants using waste cooking oil as feedstock," *Energy*, vol. 2010, pp. 2493-2504, 2010.

[11] M. BALAT and H. BALAT, "Progress in biodiesel processing," *Applied Energy*, vol. 87, pp. 1815-1835, 2010.

[12] M. CHAROENCHAITRAKOOL and J. THIENMETHANGKOON, "Statistical optimization for biodiesel production from waste frying oil through two-step catalyzed process," *Fuel Processing Technology*, vol. 92, pp. 112-118, 2011.

[13] H. C. ONG, T. M. MAHLIA, H. H. MASJUKI and R. S. NORHASYIMA, "Comparison of palm oil, *Jatropha curcas* and *Calophyllum inophyllum* for biodiesel: A review," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 15, pp. 3501-3515, 2011.

[14] F. QIU, Y. LI, D. YANG, X. LI and P. SUN, "Biodiesel production from mixed soybean oil and rapeseed oil," *Applied Energy*, vol. 88, pp. 2050-2055, 2011.

[15] P. K. SAHOO, L. M. DAS, M. G. BABU, P. ARORA, V. P. SINGH, N. R. KUMAR and T. S. VARYANI, "Comparative evaluation of performance and emission characteristics of *Jatropha*, *karanja* and *polanga* based biodiesel as fuel in a tractor engine," *Fuel*, vol. 88, pp. 1698-1707, 2009.

[16] M. Y. KOH and T. I. MOHD. GHAZI, "A review of biodiesel production from *Jatropha curcas* L. oil," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 15, pp. 2240-2251, 2011.

[17] C. C. ENWEREMADU and M. M. MBARAWA, "Technical aspects of production and analysis of biodiesel from used cooking oil—A review," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 13, pp. 2205-2224, 2009.

[18] B. H. DIYA'UDDEEN, A. R. ABDUL AZIZ, W. A. DAUD and M. H. CHAKRABARTI, "Performance evaluation of biodiesel from

- used domestic waste oils: A review," *Process Safety and Environmental Protection*, vol. 90, pp. 164-179, 2012.
- [19] R. SARIN, M. SHARMA, S. SINHARAY and R. K. MALHOTRA, "Jatropha-Palm biodiesel blends: An optimum mix for Asia," *Fuel*, vol. 86, pp. 1365-1371, 2007.
- [20] X. LUI, M. YE, B. PU and Z. TANG, "Risk management for jatropha curcas based biodiesel industry of Panzhihua," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 16, pp. 1721-1734, 2012.
- [21] P. K. SAHOO and L. M. DAS, "Process optimization for biodiesel production from Jatropha, Karanja and Polanga oils," *Fuel*, vol. 88, pp. 1588-1594, 2009.
- [22] F. H. KASIN and A. P. HARVEY, "Influence of various parameters on reactive extraction of Jatropha curcas L. for biodiesel production," *Chemical Engineering Journal*, vol. 171, pp. 1373-1378, 2011.
- [23] S. LIM, S. S. HOONG, L. K. TEONG and S. BATHIA, "Short Communication. Supercritical fluid reactive extraction of Jatropha curcas L. seeds with methanol: A novel biodiesel production method," *Bioresource Technology*, vol. 101, pp. 7169-7172, 2010.
- [24] E. BREET, Y. NORTJÉ and C. v. GREUNING, "Supercritical carbon dioxide extracted oil from Jatropha curcas: Directive for the biodiesel industry?," *The Journal of Supercritical Fluids*, vol. 60, pp. 38-44, 2011.
- [25] S. H. SHUIT, K. T. LEE, A. H. KAMARUDDIN and S. YUSUP, "Reactive extraction and in situ esterification of Jatropha curcas L. seeds for the production of biodiesel," *Fuel*, vol. 89, pp. 527-530, 2010.
- [26] A. P. VYAS, N. SUBRAHMANYAM and P. A. PATEL, "Production of biodiesel through transesterification of Jatropha oil using $\text{KNO}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$ solid catalyst," *Fuel*, vol. 88, pp. 625-628, 2009.
- [27] F. DEEBA, V. KUMAR, K. GAUTAM, R. K. SAXENA and D. K. SHARMA, "Bioprocessing of Jatropha curcas seed oil and deoiled seed hulls for the production of biodiesel and biogas," *Biomass and Bioenergy*, vol. 40, pp. 13-18, 2012.
- [28] J. QIAN, H. SHI and Z. YUN, "Preparation of biodiesel from Jatropha curcas L. oil produced by two-phase solvent extraction," *Bioresource Technology*, vol. 101, pp. 7025-7031, 2010.
- [29] T. ABBASI and S. A. ABBASI, "Biomass energy and the environmental impacts associated with its production and utilization," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 14, pp. 919-937, 2010.
- [30] T. GANAPATHY, R. P. GAKKAR and K. MURUGESAN, "Influence of injection timing on performance, combustion and emission characteristics of Jatropha biodiesel engine," *Applied Energy*, vol. 88, pp. 4376-4386, 2011.
- [31] S. LI, Y. WANG, S. DONG, Y. CHEN, F. CAO, F. CHAI and X. WANG, "Data Bank. Biodiesel production from Eruca Sativa Gars vegetable oil and motor, emissions properties," *Renewable Energy*, vol. 34, pp. 1871-1876, 2009.
- [32] P. K. SAHOO and L. M. DAS, "Combustion analysis of Jatropha, Karanja and Polanga based biodiesel as fuel in a diesel engine," *Fuel*, vol. 88, pp. 994-999, 2009.
- [33] M. LOUREIRO PINTO, G. GONZÁLEZ BENITO, M. T. GARCÍA CUBERO and S. BOLADO RODRÍGUEZ, "Production of 1,3 Propanediol from

Glycerol by *C. Butyricum*,” *Journal of Biotechnology*, vol. 150, no. Supplement, pp. 376-376, November 2010.

[34] K. SEIFERT, M. WALIGORSKA, M. WOJTOWSKI and M. LANIECKI, “Hydrogen generation from glycerol in batch fermentation process,” *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 34, no. 9, pp. 3671-3678, 2009.

[35] R. K. SAXENA, P. ANAND, S. SARAN and J. ISAR, “Microbial production of 1,3-propanediol: Recent developments and emerging opportunities,” *Biotechnology Advances*, vol. 27, pp. 895-913, 2009.

[36] G. KAUR, A. K. SRIVASTAVA and S. CHAND, “Advances in biotechnological production of 1,3-propanediol,” *Biochemical Engineering Journal*, vol. 54, no. 15, pp. 106-118, May 2012.

[37] D. MISTIRINI ROSSI, J. B. DA COSTA, E. AQUINO DE SOUZA, M. d. C. RUARO PERALBA and M. A. ZÁCHIA AYUB, “Bioconversion of residual glycerol from biodiesel synthesis into 1,3-propanediol and ethanol by isolated bacteria from environmental consortia,” *Renewable Energy*, vol. 39, no. 1, pp. 223-227, March 2012.

[38] S. PAPANIKOLAOU, S. FAKAS, M. FICK, I. CHEVALOT, M. GALIOTOU-PANAYOTOU, M. KOMAITIS, I. MARC and G. AGGELIS, “Biotechnological valorisation of raw glycerol discharged after bio-diesel (fatty acid methyl esters) manufacturing process: Production of 1,3-propanediol, citric acid and single cell oil,” *Biomass and Bioenergy*, vol. 32, pp. 60-71, 2008.

[39] K. SWATI, G. ARUN, S. VIJAYANAND and MOHOLKAR, “Production of n-butanol from biodiesel derived crude glycerol using *Clostridium pasteurianum* immobilized

on Amberlite,” www.elsevier.com/locate/fuel, pp. 1-5, 2011.

[40] Y. MU, Z.-L. XIU and D.-J. ZHANG, “A combined bioprocess of biodiesel production by lipase with microbial production of 1,3-propanediol by *Klebsiella pneumoniae*,” *Biochemical Engineering Journal*, vol. 40, pp. 537-541, 2008.

[41] H. BIELB, K. MENZEL, A. P. ZENG and W. D. DECKWER, “Microbial production of 1,3-propanediol,” *Appl. Microbiol Biotechnol*, vol. 52, pp. 289-297, 1999.

[42] D. C. CAMERON and J. A. KOUTSKY, “Project Title: Conversion of Glycerol from Biodiesel Production to 1,3-Propanediol. Final Report National Biodiesel Development Board,” Department of Chemical Engineering, UW-Madison, Madison.

[43] W.-D. DECKWER, “Microbial conversion of glycerol to 1,3-propanediol,” *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 16, pp. 143-149, 1995.

[44] S. HIRSCHMANN, K. BAGNAZ, I. KOSCHIK and K.-D. VORLOP, “Development of an integrated bioconversion process for the production of 1,3-propanediol from raw glycerol waters,” *FAL, Agricultural Research*, vol. 55, no. 4, pp. 261-267, 12/2005.

[45] A.-P. ZENG and H. BIELB, “Bulk Chemicals from Biotechnology: The Case of 1,3-Propanediol Production and the New Trends,” *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, vol. 74, pp. 239-259, 2002.

[46] A. TEJEDA M., R. M. MONTESINOS C. and R. GUZMAN Z., “Capítulo 1. Introducción,” in *Bioseparaciones*, Hermosillo, Sonora México, UNISON, Universidad de Sonora, 1995, pp. 5, 7.

- [47] M. GONZÁLEZ PAJUELO, J. C. ANDRADE and I. VASCONCELOS, "Production of 1,3-propanediol by *Clostridium butyricum* VPI 3266 using a synthetic medium and raw glycerol," *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, vol. 31, no. 9, pp. 442-446, October 2004.
- [48] P. ANAND and R. K. SAXENA, "A comparative study of solvent-assisted pretreatment of biodiesel derived crude glycerol on growth and 1,3-propanediol production from *Citrobacter freundii*," *New Biotechnology*, vol. 29, no. 2, pp. 199-205, January 2012.
- [49] B. GÚNZEL, S. YONSEI and W.-D. DECKWER, "Fermentative production of 1,3 propanediol from glycerol by *Clostridium butyricum* up to a scale of 2 m³," *Appl. Microbiol Biotechnol*, vol. 36, pp. 289-294, 1991.
- [50] Z.-m. ZHENG, N.-n. GUO, J. HAO, K.-K. CHENG, Y. SUN and D.-h. LIU, "Scale-up of micro-aerobic 1,3 propanediol production with *Klebsiella pneumonia* CGMCC 1.6366," *Process Biochemistry*, vol. 44, pp. 944-948, 2009.
- [51] S. PFLUGL, H. MARX, D. MATTANOVICH and M. SAUER, "1,3-propanediol production from glycerol with *Lactobacillus diolivorans*," *Bioresource Technology*, pp. 1-34, 2012.
- [52] A. REIMANN and H. BIELB, "Production of 1,3-Propanediol by *Clostridium Butyricum* DSM 5432 and product tolerant mutants in fedbatch culture: Feeding Strategy for glycerol and Ammonium," *Biotechnology Letters*, vol. 18, no. 7, pp. 827-832, July 1996.
- [53] Y. KAWASE and B. MOO-YOUNG, "Mathematical Models for Desing of Bioreactors: Applications of Kolmoforoff's Theory of Isotropic Turbulence," *The Chemical Enginnering Journal*, vol. 43, pp. B19-B41, 1990.
- [54] U. PFLUGMACHER and G. GOTTSCHALK, "Development of an immobilized cell reactor for the production of 1,3-propanediol by *Citrobacter freundii*," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 41, pp. 313-319, 1994.
- [55] A. REIMANN, H. BIEBL and W. D. DECKWER, "Production of 1,3-propanodiol by *Clostridium butyricum* in continuos culture with cell recycling," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 49, pp. 359-363, 1998.
- [56] S. CASALI, M. GUNGORMUSLER, L. BERTIN, F. FAVA and N. AZBAR, "Development of a biofilm technology for the production of 1,3-propanediol (1,3-PDO) from crude glycerol," *Biochemical Engineering Journal*, vol. 64, pp. 84-90, 2012.
- [57] A. P. ZENG, "Pathway and kinetc analysis of 1,3-propanediol production from glycerol fermentation by *Clostridium butyricum*," *Bioprocess Engineering - Springer-Verlag*, pp. 169-175, 1996.
- [58] Z.-L. XIU, B.-H. SONG, Z.-T. WANG, L.-H. SUN, E.-M. FENG and A.-P. ZENG, "Optimization of dissimilation of glycerol to 1,3-propanediol by *Klebsiella pneimoniae* in one -and two- stage anaerobic cultures," *Biochemical Engineering Journal*, vol. 19, pp. 189-197, 2004.