

Bioprocesos aplicados a la valorización del glicerol residual en la producción de biodiésel

Bioprocesses for adding value to residual glycerol in the production of biodiesel

Autor



**Dolly Montoya Castaño
Oscar Aragón Caycedo**

Universidad Nacional de Colombia.
Sede Bogotá. Instituto
de Biotecnología
dmontoyac@unal.edu.co

Palabras clave

Glicerol, bioprocesos, biodiésel,
fermentación, biotecnología, cepas
nativas colombianas

Glycerol, bioprocess, biodiesel,
fermentation, biotechnology,
Colombian native strains

Resumen

El incremento de glicerina cruda proveniente de la industria del biodiésel, ha impactado negativamente su mercado, desestabilizando el precio y disminuyendo la rentabilidad que podrían obtener los productores. Su purificación a glicerol USP es costosa debido al nivel de contaminantes. Esto, da la oportunidad para hacer del glicerol, un bloque fundamental dentro de los intermediarios químicos con los procesos biotecnológicos, generando una menor huella ambiental, y desarrollando la glicerol-química. Productos como etanol, hidrógeno, butanol y 1,3-propanodiol, pueden ser obtenidos desde la glicerina cruda sin necesidad de purificación. Esta innovación haría de las plantas de biodiésel nuevas biorefinerías para la industria. En este marco, el Instituto de Biotecnología, desde el año 2004, está desarrollando la biotransformación de la glicerina cruda a 1,3-Propanodiol (1,3-PD), empleando cepas nativas seleccionadas de *Clostridium* sp. De las cepas nativas aisladas diez de ellas produjeron 1,3-PD. Estas se caracterizaron molecular y bioquímicamente como una nueva especie de *Clostridium*. Se secuenciaron los genes de la ruta metabólica de producción de 1,3-PD (operón *dha*) en varias cepas nativas y se está investigando en transformación y análisis de la cinética metabólica. La fermentación de glicerol crudo, en un cultivo por lotes, se ha escalado en nivel de banco empleando glicerina cruda de la planta de oleoflores. Las investigaciones de vigilancia tecnológica han indicado que la producción de este solvente por vía biotecnológica presenta una alta viabilidad técnica, pero es necesario escalar a nivel piloto el proceso y mejorar el rendimiento de la cepa nativa por medio del mejoramiento genético.





Abstract

An increase in crude glycerine supply from the biodiesel industry has had a negative impact on its market, destabilizing prices and decreasing producers' profitability (i.e. from feedstock). Its purification to glycerol USP involves high costs due to the level of contaminants. This situation presents an opportunity for making of glycerol a building block within the chemical intermediaries through biotechnological processes, thereby creating a smaller environmental footprint and developing glycerol-chemistry. Products such as ethanol, hydrogen, butanol and 1,3-propanediol can be obtained from crude glycerol without further purification. This innovation would turn current biodiesel plants into new bio-refineries for the global industry. Within this framework, the Biotechnology Institute has been developing a bioprocess since 2004 for converting raw glycerol into 1,3-propanediol (1,3-PD) using selected native strains of *Clostridium* sp. 10 of isolated native strains produced 1,3-PD and have been biochemically and molecularly characterized as being a new *Clostridium* species. Genes of the metabolic pathway of 1,3-PD (dha operon) production were sequenced in several native strains and research is being conducted on transformation and metabolic kinetic analysis. Raw glycerol batch culture fermentation has been successfully scaled-up to bench level with glycerol from the Oleoflores Plant. Technological surveillance research has showed that the biotechnological production of this solvent is technically viable. However, the process must be scaled-up to pilot level and the native strain's performance must be improved through breeding programs.



Introducción

La biotecnología industrial (o blanca) tiene un gran potencial para transformar la producción de energía y generar procesos industriales más sostenibles. Ello podría jugar un papel muy importante en ayudar a reducir los gases de efecto invernadero, reducir el uso de combustibles petroquímicos y desarrollar industrias más limpias y ecoeficientes. Con base en ella se desarrollará una bioeconomía donde las aplicaciones técnicas de la biología se convertirán en el factor clave del crecimiento y de la generación de valor agregado (Europiablo, 2009).

La primera ola de esta nueva bioeconomía ha surgido a partir de la industria del biocombustible. Las cadenas del aceite y el azúcar son las que están mejor posicionadas actualmente, siendo el bioetanol y el biodiésel sus productos comerciales más representativos (Yazdani y González, 2007). Se produjeron $12.24 \cdot 10^6$ toneladas de biodiésel en 2008 (Rosillo-

Calle, Pelkmans y Walter 2009) y se proyecta que esta cantidad se doblará para el año 2017 (Baier *et al.*, 2009).

Una preocupación importante para las tecnologías presentes y futuras involucradas en la producción de estos biocombustibles es su viabilidad económica dados los reducidos márgenes (Yazdani y González, 2007), que son de apenas 0,2658/galón de dólares (Jacobsen, 2009). Una solución que se ha propuesto para este inconveniente es la de convertir las plantas de biodiésel en biorrefinerías, entendidas como un proceso donde cada una de las fracciones de las materias primas es utilizada para un producto final específico (Hayes, 2007) con un mayor valor agregado y un mercado más reducido que el de los biocombustibles, aprovechando de esta manera las economías de escala de la planta y logrando una mayor rentabilidad para el proceso total (Yazdani y González, 2007). Se obtienen cerca de 10 toneladas de glicerol como subproducto cuando se producen 100 toneladas de biodiésel (Zappi

et al., 2003). Los efluentes ricos en glicerol que resultan de este proceso tienen el potencial de convertirse en una fuente clave de ingresos para la industria del biodiésel (Zappi *et al.*, 2003; Holbein *et al.*, 2004). Este documento se centra en el análisis de las alternativas biotecnológicas actuales para transformar la glicerina cruda en productos de alto valor agregado que por tanto aumenten la viabilidad económica de la producción de biodiésel.

Situación actual de la glicerina cruda y el glicerol

El mercado tradicional del glicerol purificado es manejado actualmente por compañías como Dow Chemical, Henkel, Unilever (Malaysia) Holdings, Procter y Gamble, Vitusa Products, Dial, Cognis, Kao Corp. (Japón), Godrej Industries Ltd (India), pt Cisadane Raya Chemicals (Indonesia), pt Sinar Oleochemical International (Indonesia), pt Sumi Asih Oleochemical Industry (Indonesia), Setuza as (República Checa) y United Coconut Chemicals (Filipinas) (SoyaTech, 2008), en campos como los alimentos, farmacéuticos, cosméticos, explosivos, materiales y otros usos industriales.

Este mercado se ha reportado como estable e incapaz de absorber el aumento en la producción de glicerina cruda generada por la industria de biodiésel (Lines, 2009). Esto se debe a los contaminantes que se encuentran en el glicerol crudo (con pureza que oscila entre el 55 y el 90% del peso) (Yazdani y González, 2007), como cenizas, metanol, agua y ácidos grasos (Gott, 2009), lo que hace que su purificación sea costosa y que requieran procesos como la absorción con carbono activado, cromatografía de exclusión de iones, cromatografía de intercambio de aniones y cationes y tren de evaporación relámpago y evaporación de circulación forzada (Hoogendoorn *et al.*, 2007).

El precio de la glicerina se establece actualmente según el equilibrio entre la oferta y la demanda de las semillas oleaginosas. El acelerado crecimiento de la producción de biodiésel ha generado un excedente de glicerina cruda que ha llevado a una caída de precios desde US\$ 1/kg en 2000 (Hirschmann *et al.*, 2005) a US\$ 0,1/kg en 2005 (Yazdani y González, 2007). Dow cerró su planta de 140.000 libras anuales de glicerina sintética a comienzos de 2006. La oferta

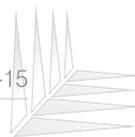
de glicerina ya había comenzado a caer en 2007 debido al impacto del aumento global de precios de las oleaginosas. La producción de glicerina caía en la medida en que los días laborales de producción de biodiésel caían, y algunas plantas marginales fueron cerradas. La sobreoferta de glicerina disminuyó en 2008 y su precio de mercado aumentó a US\$ 0,44/kg, junto con los precios de las oleaginosas.

Sin embargo, el mercado de la demanda de glicerina purificada se ha mantenido extremadamente estable a lo largo de la crisis de oferta (Omni Tech International, 2008). Se produjeron $1.224 \cdot 10^6$ toneladas de glicerina cruda en 2008 y la demanda era de alrededor de $0.9 \cdot 10^6$ toneladas (Lines, 2009). The Jacobsen.com informó que el precio de la glicerina cruda era alrededor de US\$ 0,1/kg en enero de 2009 (Jacobsen, 2009). También se vieron afectados los precios de la glicerina usp, aunque en menor medida, permaneciendo en el orden de entre US\$ 1,0/kg y US\$ 2,0/kg (Omni Tech International, 2008).

Soluciones tecnológicas para aumentar el valor de la glicerina cruda

Las primeras tres alternativas sugeridas para ampliar la gama de usos de la glicerina cruda con base en su situación técnica y económica actual son: utilizarla como combustible, como una fuente de carbono para la producción de biogás y como un componente de alimentos para animales. La glicerina cruda ofrece una buena combustión a altas temperaturas (1.000°C), pero genera emisiones tóxicas de acroleína si la combustión se realiza entre 200°C y 300°C. Cuando se utiliza en calderas produce goma y se deben instalar filtros contra el polvo. Ya se están vendiendo quemadores, calderas y turbinas para glicerina cruda en Europa (Hoogendoorn *et al.*, 2007). Se pueden producir hasta 600 m³ de biogás/tonelada de glicerina cuando se agrega glicerina cruda a los influentes de la una planta digestora anaeróbica, pero se deben agregar nutrientes adicionales para mantener la producción. La utilización de este subproducto como alimento para animales representa una aplicación de uso masivo.

El glicerol y los ácidos grasos tienen un valor energético, pero el metanol y los metales pesados representan



un obstáculo para su uso (Kerley, 2008). El uso de la glicerina cruda y refinada es permitido en Alemania, así como su uso como ingrediente en alimentos granulados para la avicultura y la porcicultura; sin embargo, las normas requieren que el peso máximo de metanol sea de 0,5% y el peso mínimo de glicerol sea 80%, y establece que el biodiésel debe tener un certificado de buenas prácticas de manufactura (bpm) (Hoogendoorn *et al.*, 2007).

Se ha comprobado que la alta variabilidad de la glicerina cruda producida por diversos fabricantes en Estados Unidos y las altas concentraciones de metanol se convertirá en un obstáculo para su uso en alimentos para animales. También se ha demostrado que se requerirá de mayor estandarización para que se pueda utilizar en esta agroindustria (Gott, 2009). Estas aplicaciones tienen en común que son técnicamente sencillas, todas tienen algunos inconvenientes técnicos que no han sido del todo resueltos y todas tienen un bajo valor agregado.

En años recientes también se han desarrollado procesos químicos para transformar la glicerina cruda en productos de mayor valor agregado, y dos de ellos han alcanzado la etapa comercial. El primero es la hidrogenólisis del glicerol 1,2-propenodiol utilizando bajas temperaturas y un proceso catalítico a presión (200 psi y 200°C) (Dasari *et al.*, 2005). En la actualidad es vendida por Ashland Inc y Cargill desde una planta de 65.000 toneladas métricas al año en Europa, que inició producción en 2009 (Pike, Sengupta y Hertwig, 2008); Huntsman Corporation está comercializando el proceso en Conroe, Texas (Tullo, 2007). Este proceso tiene una selectividad del 96% para 1,2-propanediol o propilenglicol (Alhanash, Kozhevnikova y Kozhevnikov, 2008) y se ganó el Premio de la Química Verde de la EPA en 2006 (Pike, Sengupta y Hertwig, 2008).

El segundo proceso comercial es la producción de epiclorohidrina, denominada Epicerol (Solvay Chemicals, 2008). Dow y Solvay tienen planeado fabricar resinas epóxicas de epiclorohidrina de glicerina por la vía del propilenglicol (Hoogendoorn *et al.*, 2007), el cual reemplazará los procesos petroquímicos debido al incremento de precios de las materias primas (el propileno). El proceso se ganó el "Trofeo Pierre Pottier" por innovación ambiental en Francia en 2006 y el premio por innovación en glicerina de

American Oil Chemists Society en Estados Unidos en 2007 (Solvay Chemicals, 2008).

Otros procesos puramente químicos que se están escalando o investigando actualmente se enfocan en la utilización de la glicerina cruda como materia prima. A continuación enumeramos algunos:

- Producción de metanol: BioMethanol Chemie Holding Company (bmch) está adaptando una planta de metanol en Delfzijl (Países Bajos), con producción inicial de 100 millones de litros/año. Se planea utilizar como un aditivo para la gasolina y en celdas eléctricas en el futuro (Hayes, 2007)
- Producción de hidrógeno: el proceso apr (reforma de fase acuosa por su sigla en inglés) produce hidrógeno a partir de soluciones acuosas de glicerol. Además produce CO₂ y metano, etanol y propano en bajas concentraciones. Ofrece una eficiencia del 70% (Hoogendoorn *et al.*, 2007).
- Producción de gliceril tert butil eter (gtbe): el gtbe se utiliza como un aditivo en el combustible diésel para reducir las emisiones de partículas, NOx e hidrocarburos. Se produce mediante la reacción del isobutileno con el glicerol por medio de la catálisis ácida (Hoogendoorn *et al.*, 2007). gtbe Company NV, una iniciativa de ChemConserve, tendrá una planta industrial con capacidad para 500.000 toneladas/año en operación en 2010 (Boerakker *et al.*, 2008).
- Proceso Fischer-Tropsch a pequeña escala: este método ofrece una operación económica a pequeña escala para producir una mezcla gaseosa de H₂/CO. Este método requiere de menor

En años recientes se han desarrollado procesos químicos para transformar la glicerina cruda en productos de mayor valor agregado.

inversión de capital porque elimina la planta de O_2 para la gasificación de la biomasa y la necesidad de limpiar el gas posteriormente. Luego la mezcla gaseosa es transformada en alcanos líquidos y metanol por medio de procesos catalíticos que utilizan un catalizador de platino apoyado por óxidos de aluminio (Hoogendoorn *et al.*, 2007).

- Pirólisis: es la descomposición del glicerol en condiciones que se acercan a las condiciones súper críticas del agua: temperatura entre 622 y 748 grados Kelvin, presión de 25, 35, o 45 MPa, y tiempos de reacción entre 32 y 165 segundos. Los principales productos son metanol, acetaldehído, propionaldehído, acroleína, alcohol alílico, etanol, formaldehído, CO, CO_2 y H_2 (Hoogendoorn *et al.*, 2007).

Bioprocesos para la conversión de la glicerina

Una alternativa para la glicerina cruda es utilizarla directamente como un sustrato de fermentación para la producción de diversos productos químicos intermediarios de alto valor (Zeng y Biebl, 2002; Cameron y Koutsky, 1994; Barbirato *et al.*, 1998; Biebl *et al.*, 1999; Papanikolaou *et al.*, 2000; González-Pajuelo *et al.*, 2004; González-Pajuelo *et al.*, 2005a; González-Pajuelo *et al.*, 2005b; Papanikolaou *et al.*, 2002). En la actualidad se están investigando diversos procesos de fermentación que aprovechan la diversidad metabólica de diferentes especies de bacterias para obtener una gran variedad de productos como, por ejemplo, etanol, hidrógeno, butanol, ácido succínico y polihidroxicanoatos.

- Etanol: investigadores en Rice University, Texas (Estados Unidos) han desarrollado un microorganismo transformador a partir de la cepa SY04 del *E. coli* SY04 (pzsKLMgldA), el cual se reproduce anaeróbicamente. Se ha estimado que los costos de operación de utilizar este microorganismo en producción a partir de la glicerina cruda serían 40% más bajos comparados con la producción a partir de la glucosa y xilosa de maíz. El rendimiento sería de aproximadamente 0,95 mol/mol-glicerol y la productividad sería de 30mmol etanol/g célula – h (Yazdani y González, 2007).

- Hidrógeno: el hidrógeno se ha perfilado como el combustible renovable del futuro (Departamento de Energía de Estados Unidos, 2006). En Estados Unidos se invertirán 1.200 millones de dólares en investigación y desarrollo para su posible implementación futura como combustible para automóviles debido a su excelente compatibilidad con el medio ambiente. Se ha estudiado inicialmente la producción de hidrógeno junto con la producción de etanol utilizando *Enterobacter aerogenes* HU-101 inmovilizados en un reactor de cama empacada. La tasa máxima de producción de hidrógeno fue de 63 mmol/Lh con células inmovilizadas en soportes cerámicos (Pachauri y He, 2006).
- Ácido succínico: es un ácido dicarboxílico que se produce durante el metabolismo aeróbico y anaeróbico. Se puede utilizar para sintetizar resinas, polímeros biodegradables y como un intermediario químico con *Anaerobiospirillum succiniciproducens*. La relación de ácido succínico al ácido acético que se obtuvo fue de 26:1, lo que es 6,5 veces mayor que lo que se obtiene con glucosa (Paulo da Silva *et al.*, 2009).
- Polihidroxicanoatos: Su producción ha sido estudiada en bioreactores con *Pseudomonas corrugata* (Paulo da Silva *et al.*, 2009). Investigadores del Servicio de de Investigación Agrícola del Centro Este de Investigación Regional (eerc) de usda se ganaron el premio por innovación en glicerina en 2008 por desarrollar un bioproceso para la producción de un biopolímero con diversas aplicaciones en las industrias de empaques-sellos y salud (Prebo, 2008).
- Ácido propiónico: este es otro producto del metabolismo celular que se utiliza como agente antifúngico en alimentos y bebidas, para la producción de plásticos con base en celulosa, herbicidas, solventes y perfumes, drogas contra la artritis, aromas y termoplásticos. Se han estudiado varias bacterias pero la que mejor resultado ha dado hasta el momento es *Propionibacterium acidipropionici*. La productividad obtenida fue de 0.36 g/L/h, a una concentración de 42 g/L usando 80 g/L de glicerol en un medio de cultivo (Paulo da Silva *et al.*, 2009).



1,3-propanediol y el caso del grupo de Bioprocesos y Bioprospección de ibun

Uno de los procesos que se ha desarrollado en la industria del glicerol en los últimos años ha sido el de la producción de 1,3-propanediol (1,3-PD) (Biebl, 1999). También hay creciente interés en el 1,3-PD para la elaboración de un monómero para la producción de plásticos con propiedades especiales, como poliésteres, poliéteres, poliuretanos y compuestos cíclicos (Knietsch *et al.*, 2003; Biebl *et al.*, 1999; Skraly,

Lytle y Cameron, 1998; Deckwer, 1995). Los polímeros a base de 1,3-PD ofrecen varias propiedades especiales como una buena estabilidad a la luz, biodegradabilidad y mayor elasticidad (Zhu, Lawman y Cameron, 2002; Luers *et al.*, 1997).

En la actualidad existe un gran número de aplicaciones para el 1,3-PD; por ejemplo para usar como intermediario químico en la síntesis de compuestos para las industrias químicas, farmacéuticas y de alimentos, como excipiente de humidificante, estabilizador, anticongelante, o vehículo solvente en diferentes formulaciones, como materia prima para fibras textiles y particularmente para el desarrollo de un nuevo e importante copolímero (politri-metilentereftalato, ptt) desarrollado para la fabricación de confecciones y tapetes (Sun *et al.*, 2003; Knietsch *et al.*, 2003; Zeng y Biebl, 2002; Zhu, Lawman y Cameron, 2002; Biebl *et al.*, 1999; Skraly, Lytle y Cameron 1998).

El 1,3-PD es producido utilizando dos métodos químicos (la hidratación de la acroleína y la hidroformilación del óxido de etileno) o por vía de la biotecnología utilizando el glicerol como un sustrato para la bioconversión bacteriana (Zeng y Biebl, 2002). Pocos organismos tienen la capacidad de sintetizarlo; algunos de ellos son las bacterias de los géneros *Clostridium*, *Klebsiella* y *Citrobacter* (Biebl *et al.*, 1999). El 1,3-PD se produce naturalmente mediante la fermentación del glicerol y no ha sido hallado en las conversiones anaeróbicas de otros sustratos orgánicos (Nakamura y Whited, 2003; Biebl *et al.*, 1999).

El glicerol se fermenta por medio de un proceso que involucra dos rutas: la reductiva y la oxidativa. En la ruta oxidativa, el glicerol se oxida en dihidroxiacetona (dha) por glicerol deshidrogenasa (gdh), lo que genera

el poder de reducción requerido para la ruta reductiva. Luego el dha se fosforiliza, llevando a la glicólisis por dihidroxiacetona kinasa (dhak). El glicerol se deshidrata por glicerol deshidratasa y se convierte en 3-hidroxipropionaldehida (3-hpa) en la ruta reductiva; el 3-hpa luego se reduce a 1,3-PD por 1,3-propanediol deshidrogenasa, también conocida como 1,3-propanediol oxidoreductase (1,3-pdor) (Knietsch *et al.*, 2003; Sun *et al.*, 2003; Zeng y Biebl, 2002).

El estudio de la producción biotecnológica de 1,3-PD ha estado en boga en los últimos años por dos motivos: primero, porque la ruta biológica permite la utilización de materias primas renovables como el glicerol y los azúcares, sustituyendo a los no-renovables a base del petróleo. Segundo, porque la utilización de la ingeniería genética y metabólica lleva a la mejora de las cepas, lo que hace que el proceso sea más competitivo (Zhu *et al.*, 2002). La producción biotecnológica del 1,3-propanediol ha sido ampliamente estudiada en los últimos quince años y las investigaciones se han visto reflejadas en procesos que son técnicamente viables y que han sido patentados.

Importantes compañías norteamericanas y japonesas de los sectores de la biotecnología y la petroquímica han estado a la vanguardia de la investigación (Dupont, Genencor y Nippon Catalytic Chem), al igual que los institutos de investigación europeos (Agronomique Inst Nat Rech y Biotechnolog Forschung GmbH). Dupont, en asociación con Genencor International y Tate y Lyle, ha desarrollado un proceso de fermentación para la producción de 1,3-PD a partir de glucosa derivada del maíz utilizando bacterias genéticamente modificadas (*E.coli*) (Kurian, 2005).

Otro ejemplo es el Inst Nat de le Rech Agronomique de Francia, que ha desarrollado un microorganismo transformado capaz de producir 1,3-PD usando el glicerol como sustrato (*C. acetobutylicum*); sin embargo, a la fecha no existen informes de que este proceso patentado se haya escalado en el nivel industrial (Sarcabal, Croux y Soucaille, 2001). Por otro lado, una planta piloto establecida por Tsinghua University en China toma glucosa y almidón crudo, fermentados en un proceso de dos etapas, para producir 1,3-PD (China Chemical Reporter, 2004).

Otras investigaciones sobre 1,3-PD las ha realizado el Grupo de Bioprocesos y Bioprospección del ibun.

Un grupo de bacterias de género *Clostridium* tomado de diversos suelos agrícolas en Colombia ha demostrado tener una mayor capacidad solventogénica que la cepa de referencia internacional –*Clostridium acetobutylicum* atcc 824 (Montoya *et al.*, 2000)– para la producción de etanol, butanol y acetona, utilizando las efluentes ricas en celulosa de las plantas extractoras de aceite de palma. Debido a que estos eran aislamientos nativos, tuvieron que ser caracterizados en términos bioquímicos y moleculares, y la secuencia parcial del gene 16S rRNA se analizó como parte del proceso. El ADN de las cepas nativas se

Los productores de biodiésel, no están dispuestos a asumir la refinación costosa de la glicerina cruda para convertirla en glicerol USP.

hibridizó con el ADN de cepas patrón del grupo solventogénico *Clostridia*. Se determinó una restricción de polimorfismo de la longitud de los fragmentos amplificados, se obtuvieron perfiles plásmido y megaplásmido y el tamaño del genoma fue determinado utilizando la técnica de electroforesis de gel de campo pulsante (pfge).

Los resultados muestran que existen pocas diferencias entre las cepas nativas y que están altamente relacionadas con las cepas *Clostridium butyricum* (Arévalo *et al.*, 2002; Jaimes, 2006; Keis *et al.*, 1995; Montoya *et al.*, 1999; Montoya *et al.*, 2001, Quilaguy, 2006). Se procedió a ubicar taxonómicamente las cepas nativas para complementar la información y describir el nuevo grupo de microorganismos (Suárez, 2004) por medio de una metodología basada en el análisis multivariado. Por este medio se determinó que diez de las cepas nativas se podrían proponer como una nueva especie del género *Clostridium*.

Se construyó una biblioteca genómica a partir de la cepa celulolítica del ibun 22A en estudios simultáneos para localizar los genes que pertenecen a las rutas metabólicas de interés. Una secuencia de nucleótido 382 que comparte en un 98% la identidad con el

gene *C. butyricum* dhaB1 fue localizado en el clone pBS22A-Br4 por medio del análisis de secuencias de los injertos de varios clones; este codifica la encima glicerol dehidratasa (primero en la bioconversión del glicerol en 1,3-PD) (Montoya *et al.*, 2006). Trabajos recientes indican que cinco de las cepas nativas colombianas tienen capacidad de producir 1,3-PD a partir del glicerol, con una productividad volumétrica mayor que las cepas de referencia *C. butyricum*. El valor más alto obtenido fue con la cepa nativa ibun 158B en un reactor de 4 l en cultivo en lote (Aragón *et al.*, 2007), en glicerol crudo industrial medio (pureza mayor al 85%) de una planta de biodiésel (Pérez y Montoya, 2009). El dha operon (responsable por la producción de 1,3-PD) ha sido completamente secuenciado en esta cepa; su organización genética es conocida y se ha encontrado que una de las enzimas de la ruta metabólica de producción de solvente es la vitamina B12-independiente, lo que reduciría los costos de producción industriales en el evento que se pueda obtener un microorganismo con metabolismo mejorado a partir de estos genes (Montoya, 2009).

Al mismo tiempo se ha hecho inteligencia sobre la competencia e investigación técnica para establecer el estado del desarrollo tecnológico actual en cuanto a la producción de 1,3-propanediol, observando la situación actual del mercado de 1,3-propanediol y los competidores directos e indirectos y para determinar los retos potenciales a vencer. Se concluyó que la producción de solventes utilizando esta cepa nativa es técnicamente viable (Aragón, 2007). También se realizó un estudio de prefactibilidad sobre la producción de 10.000 toneladas/año de 1,3-propanediol en Colombia por la ruta biotecnológica con base en los resultados obtenidos en el laboratorio. El estudio estableció que el costo de la producción industrial de este solvente dependía sustancialmente del volumen de producción y de los costos del proceso de separación. También se concluyó que la producción de 1,3-propanediol podría generar una tasa interna de retorno mayor al 25% utilizando la tecnología actual de separación destilativa (Aragón *et al.*, 2008). La purificación del 1,3-propanediol en una unidad de pervaporación se está estudiando actualmente a nivel de laboratorio como parte de un proceso que incluye las etapas de extracción, pervaporación y destilación (datos aún sin publicar).



Conclusión

Los productores de biodiésel, particularmente los medianos y pequeños, no están dispuestos a asumir la refinación costosa de la glicerina cruda para convertirla en glicerol usp, lo que depende de la posibilidad de escalar la producción y de las condiciones variables del mercado. En este estado de cosas, la glicerina cruda ofrece un gran potencial para el desarrollo de un nuevo glicerol químico renovable (debido a su bajo precio y al gran volumen de producción) para la industria de los intermedios químicos industriales. Los procesos químicos

catalíticos ya han sido desarrollados y se encuentran en el nivel comercial. Los procesos biotecnológicos todavía se encuentran en la fase de investigación y se están escalando. El proceso biotecnológico más desarrollado es el de 1,3-propanediol. Debido a ello, y a las ventajas ambientales de la biotecnología que han sido estudiadas y reconocidas, se presenta una oportunidad para lograr una transformación de la industria química tradicional a una industria basada en la biotecnología que podría ser autosostenible, amigable con el medio ambiente y rentable.



Bibliografía

- Alhanash, A.; Kozhevnikova, E.; Kozhevnikov, I. 2008. Hydrogenolysis of Glycerol to Propanediol Over Ru: Polyoxometalate Bifunctional Catalyst. *Catalysis letters*. 120 (3-4): 307-311.
- Aragón, O.; Chávez, M.; Díaz, P.; Lozano, M.; Molano, J.; Montoya, D. 2008. Evaluación de la prefactibilidad técnico económica de una nueva alternativa biotecnológica para la producción de 1,3 - propanediol (1,3-PD) con una cepa colombiana de Clostridium sp. a partir de glicerol cruda subproducto de la producción de biodiesel. Memorias III Congreso Colombiano Biotecnología y II Seminario Internacional de Bionegocios.
- Aragón, Oscar. 2007. Estudio de la viabilidad técnica de la producción de 1,3 - propanediol (1,3-PD) a partir de glicerol con nuevas cepas colombianas de Clostridium sp. a nivel laboratorio (MSc Microbiology thesis). Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
- Arévalo, C.; Aguilera, G.; Arrieta, A.; Arisitizábal, F.; Montoya, D. 2002. Caracterización de cepas nativas colombianas de clostridios solventogénicos por perfiles de plásmidos. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*. 51-60
- Baier, S.; Clements, M.; Griffiths, C.; Ihrig, J. 2009. Biofuels impact on crop and food prices: using an interactive spreadsheet. Board of Governors of the Federal Reserve System. *International Finance Discussion Papers* (967). March [en línea] Disponible en: <http://www.federalreserve.gov/pubs/ifdp/2009/967/ifdp967.pdf> (consulta: 11 de septiembre de 2009).
- Barbtrato, F.; Himmi, E.; Conte, T.; Bories A. 1998. 1,3-propanediol production by fermentation: an interesting way to valorize glycerin from the ester and ethanol industries. *Industrial Crops and Products*. 7 (2-3): 281-289.
- bbi international. 2004. Feasibility study for a biodiesel industry in Pennsylvania. Consulting Division. Golden Colorado. February [en línea] Disponible en: http://www.reddionline.org/files/BBI_Biodiesel_Report.pdf (consulta: 11 de septiembre de 2009).
- Biebl, H.; Menzel K.; Zeng A.; Deckwer W. 1999. Microbial production of 1,3-propanediol. *J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 52 (3): 289-297.
- Boerakker, Y.; Hartevelde, M.; Godfroi, P.; Neeft, J.; Filip, A.; Rogulska, M. 2008. Who-is-Who-and-Where in the biofuel field. SenterNovem. Utrecht, The Netherlands. [en línea] Disponible en: http://www.biofuelstp.eu/downloads/biofuels_cities_whos_who_2.pdf (consulta: 11 de septiembre de 2009).
- Cameron, D.; Koutsky, J. 1994. Conversion of glycerol from soy diesel production to 1,3-propanediol. Final report, National Biodiesel Development Board [en línea] Disponible en: http://www.biodiesel.org/resources/reportsdatabase/reports/gen/19941001_gen-243.pdf (consulta: 25 de noviembre de 2007).
- China Chemical Reporter. 2004. Tsinghua develops 1,3-propanediol pilot technology. New Technology. Tsinghua University. Brief Article. September 16th. [en línea] Disponible en: <http://www.highbeam.com/doc/1G1-123325267.html> (consulta: 25 de noviembre de 2007).
- Dasari, MA.; Kiatsimkul, PP.; Sutterlin, WR.; Suppes GJ. 2005. Low-pressure hydrogenolysis of glycerol to propylene G, *Applied Catalysis, A: General*. 281: 225-231.
- Deckwer, W. 1995. Microbial conversion of glycerol to 1,3-propanediol. *fems Microbiology Reviews*. 16: 143-149
- European Association de Biodindustries (Europiabio). 2009 Clean, sustainable and white. The White Biotechnology position paper. (Number: 130103. 07/09/2009). [en línea] Disponible en: http://www.europabio.org/articles/article_246_EN.doc (consulta: 11 de septiembre de 2009).
- González-Pajuelo, M.; Andrade, J.; Vasconcelos, I.; Meynial-Salles, I.; Mendes, F. 2004. Production of 1,3-propanediol by Clostridium butyricum vpi 3266 using synthetic medium and raw glycerol. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 31 (9): 442-446.

- González-Pajuelo, M.; Meynial-Salles, I.; Mendes, F.; Andrade, J.; Vasconcelos, I.; Soucaille, P. 2005a. Metabolic engineering of *Clostridium acetobutylicum* for the industrial production of 1,3-propanediol from glycerol. *Metabolic Engineering*. 7 (5-6): 329-336.
- González-Pajuelo, M.; Meynial-Salles, I.; Mendes, F.; Andrade, J.; Vasconcelos, I.; Soucaille P. 2005b. Production of 1,3-propanediol by *Clostridium butyricum* vpi 3266 in continuous cultures with high yield and productivity. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 32 (9): 391-396.
- Gott, P. 2009. Variation in the chemical composition of crude glycerin. Department of Animal Sciences, Ohio State University, Columbus, oh (Estados Unidos). June. [en línea] Disponible en: https://kb.osu.edu/dspace/bitstream/1811/37082/1/Paige_N_Gott_HONORS_THESIS.pdf. (consulta: 11 de septiembre de 2009).
- Hayes, JD. 2007. State of play in the biorefining industry. University of Limerick. [en línea] Disponible en: <http://www.lufpig.eu/documents/StateofPlayinTheBiorefiningIndustry-DanielJohnHayes.pdf> (consulta: 11 de septiembre de 2009).
- Hirschmann, S.; Baganz, K.; Koschik, I.; Vorlop, K-D. 2005. Development of an integrated bioconversion process for the production of 1,3-propanediol from raw glycerol waters. *Journal of Agricultural Research*, 55 (4): 261-267 [en línea] Disponible en: http://www.fal.de/nn_787738/SharedDocs/00_FAL/DE/Publikationen/Landbauforschung/bestell__lbf__2005__4,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/bestell__lbf__2005__4.pdf (consulta: 25 de noviembre de 2006).
- Holbein, BE.; Stephen JD.; Layzell, DB. 2004. Canadian Biodiesel Initiative: aligning research needs and priorities with the emerging industry. Final Report. Biocap Canada Foundation. Queen's University, Kingston, Ontario. August 23rd. [en línea] Disponible en: http://www.biocap.ca/files/Biocap_biodiesel04_final.pdf (consulta: 11 de junio de 2005).
- Hoogendoorn, A.; Adriaans, T.; Kasteren, JMN. Van; Jayaraj, KM. 2007. Glycerine purification via biocatalysis and column adsorption for high-quality applications. Ingenia Consultants y Engineers. November 12. [en línea] Disponible en: <http://www.ingenia.nl/Flex/Site/Download.aspx?ID=2014>. (consulta: 11 de septiembre de 2009).
- Jaimes, C.; Aristizabal, F.; Bernal, M.; Montoya, D. 2006. a1p fingerprinting of Colombian *Clostridium* spp strains, multivariate data analysis and its taxonomical implications. *J. Microbiol. Methods*. 67 (1): 64-9.
- Keis, S.; Bennett, C.; Ward, V.; Jones, D. 1995. Taxonomy and phylogeny of industrial solvent-producing clostridia. *Int. J. Syst. Bacteriol*. 45: 693-705.
- Kerley, M. 2008. Potential for use of crude glycerol by beef cattle. University of Missouri, Columbia, MO (Estados Unidos) [en línea] Disponible en: http://www.biodieselconference.org/2008/post/secure/_x110oO/21%20Market%20Kerley.pdf (consulta: 11 de septiembre de 2009).
- Knietsch, A.; Bowien, S.; Whited, G.; Gottschalk, G.; Daniel, R. 2003. Identification and characterization of coenzyme B12-dependent glycerol dehydratase- and diol dehydratase-encoding genes from metagenomic dna libraries derived from enrichment cultures. *Appl Environ Microbiol*. 69 (6): 3048-3060.
- Kurian, J. 2005. A new polymer platform for the future. Sorona® from corn derived 1,3-propanediol. *Journal of Polymers and the Environment*. 13 (2): 159-167.
- Luers, F.; Seyfried, M.; Daniel, R.; Gottschalk, G. 1997. Glycerol conversion to 1,3-propanediol by *Clostridium pasteurianum*: cloning and expression of the gene encoding 1,3-propanediol dehydrogenase. *fems Microbiol Lett*. 154 (2): 337-345.
- Lynes, S. 2009. An exploding market? Utilizing waste glycerol from the biodiesel production process. April 19th. [en línea] Disponible en: <http://snrecmitigation.wordpress.com/2009/04/19/an-exploding-market-utilizing-waste-glycerol-from-the-biodiesel-production-process/> (consulta: 11 de septiembre de 2009).
- Montoya, D.; Perdomo, L.; Arévalo, C.; Aristizabal, F.; Schwarz, W. 1999. Caracterización de cepas nativas de *Clostridium* spp. por secuenciación parcial del gen ribosomal 16s rarn. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 2 (1): 35-39.
- Montoya, D.; Sierra, J.; Silva, E.; Buitrago, G.; Ramos, J. 2000. Optimización de medio de cultivo para la fermentación de acetona-butanol. Proceedings of the first world conference and exhibition on biomass for energy and industry 5th to 9th of June 2000: 1175-1178.
- Montoya, D.; Arévalo, C.; Aristizabal, F.; Schwarz, W. 2001. New solvent-producing *Clostridium* sp. strains, hydrolyzing a wide range of polysaccharide, are closely related to *Clostridium butyricum*. *Journal of Industrial Microbiology y Biotechnology* 27: 329-335.
- Montoya, J.; Suárez, Z.; Montoya, D.; Aristizabal, F. 2006. Bioinformatic analysis and gene prediction in genomic sequences from *Clostridium* sp. ibun22A. *Rev. Colomb. Biotecnol*. 8 (1): 57-64.
- Montoya, José. 2009. Determinación de la secuencia de genes putativamente involucrados en la producción de 1,3-propanediol en la cepa nativa colombiana *Clostridium* sp. ibun 158b. (MSc Microbiology thesis). Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
- Nakamura, C., Whited, G. 2003. Metabolic engineering for the microbial production of 1,3-propanediol. *Current Opinion in Biotechnology*. 14: 454-459.
- Omni Tech International Ltd. 2008. A survey of recent chemical price trends; the potential impact of rising petrochemical prices on soy use for industrial applications. September [en línea] Disponible en: http://www.soynewuses.org/downloads/reports/Final_2008_Price_trend_study_final.pdf. (consulta: 11 de septiembre de 2009).
- Pachauri, N.; He, B. 2006. Value-added utilization of crude glycerol from biodiesel production: a survey of current research activities. Asabe Annual International Meeting (Oregon). (Paper Number: 066223). [en línea] Disponible en: <http://www.webpages.uidaho.edu/~bhe/pdfs/asabe066223.pdf> (consulta: 11 de septiembre de 2009).
- Papanikolaou, S.; Ruiz-Sanchez, P.; Pariset, B.; Blanchard, F.; Fick M. 2000. High production of 1,3-propanediol from industrial glycerol by a newly isolated *Clostridium butyricum* strain. *J. Biotechnol*. 77 (2-3): 91-208
- Papanikolaou, S.; Muniglia, L.; Chevalot, L.; Aggelis, G.; Marc, I. 2002. *Yarrowia lipolytica* as a potential producer of citric acid from raw glycerol. *Journal of Applied Microbiology*. 92 (4): 737-744.
- Paulo da Silva, G.; Mack, M.; Contiero, J. 2009. Glycerol: A promising and abundant carbon source for industrial microbiology. *Biotechnology Advances*. 27: 30-39
- Pérez, X.; Montoya, D. 2009. Estandarización de la concentración de glicerol industrial y de la fuente de nitrógeno en el medio de cultivo para la producción de 1,3-propanediol utilizando una cepa



- nativa de *Clostridium* sp, Memorias IV Simposio de Biofábricas. Medellín, 2009.
- Pike, R.; Sengupta, D.; Hertwig, T. 2008. Integrating biomass feedstocks into chemical production complexes using new and existing processes. Minerals Processing Research Institute. Louisiana State University. *White Paper. Minerals Processing*. November 3 [en línea] Disponible en: [http://www.mpri.lsu.edu/Integrating Biomass Feedstocks into Chemical ProductionComplexes - a White Paper.pdf](http://www.mpri.lsu.edu/IntegratingBiomassFeedstocksintoChemicalProductionComplexes-aWhitePaper.pdf) (consulta: 11 de septiembre de 2009).
- Prebo, B. 2008. usda Researchers Honored With sda/nbb Glycerine Innovation Award, New uses for glycerine find home for valuable biodiesel by-product. National Biodiesel Board News. Jefferson City, MO. Estados Unidos. May 19th. Available at: http://www.biodiesel.org/resources/pressreleases/gen/20080519_glycerine08awardnr.pdf (consulta: 11 de septiembre de 2009).
- Quilaguy, D.; Suárez, Z.; Aristizábal, F.; Bernal, M.; Montoya, D. 2006. Genome analysis of thirteen Colombian clostridial strains by pulsed field gel electrophoresis. *Electronic Journal of Biotechnology*. 9 (5): 541-550.
- Rosillo-Calle, F.; Pelkmans, L.; Walter, A. 2009. A global overview of vegetable oils, with reference to biodiesel. IEA Bioenergy Task 40. June. Available at: <http://www.bioenergytrade.org/downloads/vegetableoilstudyfinaljune18.pdf> (consulta: 11-09- 2009)
- Sarcabal, P.; Croux, C.; Soucaille P. 2001. Method for Preparing 1,3-Propanediol by a recombinant micro-organism in the absence of coenzyme B12 or one of its precursors. Agronomique Inst Nat Rech (Francia) - Centre Nat Rech Scient (Francia). Patent number: WO0104324. Publication date: 2001-01-18. Available at: <http://v3.espacenet.com/textdoc?DB=EPODOC&IDX=WO0104324&F=0>. (consulta: 25-11- 2006)
- Skraly, F.; Lytle, B.; Cameron, D. 1998. Construction and characterization of a 1,3-propanediol operon. *Appl Environ Microbiol*. 64 (1): 98-105.
- Solvay Chemicals Inc. 2008 Epicerol® Process, Growing Green. February, 2008. Disponible en: http://www.biodieselconference.org/2008/post/secure/_xl110oO/21%20Markets%20Buolos.pdf.
- SoyaTech. 2008. Glycerin Market in 2008 Is a Tale of Two Grades: Crude vs. Refined. Soyatech eNews. September 7. [en línea] Disponible en: http://www.soyatech.com/print_news.php?id=10355 (consulta: 11 de septiembre de 2009).
- Suárez, S. 2004. Contribución a la taxonomía de trece cepas nativas de *Clostridium* sp. mediante análisis multivariado de técnicas de caracterización genotípicas y fenotípicas. MSc Microbiology thesis. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá DC.
- Sun, J.; Heuvel, J.; Soucaille, P.; Qu, Y.; Zeng, A. 2003. Comparative genomic analysis of dha regulon and related genes for anaerobic glycerol metabolism in bacteria. *Biotechnol. Prog*. 19: 263-272.
- The Jacobsen Publishing Company. 2009. Biodiesel Bulletin. Wednesday, January 14th. [en línea] Disponible en: <http://www.thejacobsen.com/userImages/Samples/Biodiesel.pdf> (consulta: 11 de septiembre de 2009).
- Tullo, A. 2007. Chemicals from Renewables. *Chemical & Engineering News*: 14 (May 7th).
- US doe. 2006. US Department of Energy Hydrogen Program. [en línea] Disponible en: http://www1.eere.energy.gov/hydrogenandfuelcells/pdfs/doe_h2_program.pdf. (consulta: 5 de junio de 2006).
- Yazdani, S.; González, R. 2007. Anaerobic fermentation of glycerol: a path to economic viability for the biofuels industry. *Current Opinion in Biotechnology*, 18 : 1-7
- Zappi, M.; Hernandez, R.; Sparkz, D.; Horne, J.; Brough, M.; Arora, S.; Montsenbacker, D. 2003. A review of the engineering aspects of the biodiesel industry. Mississippi Biomass Council, msu, Jackson, Mississippi, August. [en línea] Disponible en: http://www.mississippi.org/programs/energy/Biodiesel%20Study/Eng_AspectsCh1.pdf (consulta: 11 de junio de 2005).
- Zeng A.; Biebl H. 2002. Bulk chemicals from biotechnology: The case of 1,3-propanediol and new trends. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol*. 74: 239-259.
- Zhu, M.; Lawman, P.; Cameron, D. 2002. Improving 1,3-propanediol production from glycerol in a metabolically engineered *Escherichia coli* by reducing accumulation of sn-glycerol-3-phosphate. *Biotechnol Prog*. 18 (4): 694-699.