

**BIOBUTANOL COMO COMBUSTIBLE ALTERNATIVO:
UN PANORAMA ACTUAL DEL POTENCIAL DE
*THERMOANAEROBACTERIUM
THERMOSACCHAROLYTICUM*
BIOBUTANOL AS AN ALTERNATIVE FUEL: A
CURRENT OVERVIEW OF THE POTENTIAL OF
*THERMOANAEROBACTERIUM
THERMOSACCHAROLYTICUM***

Yael García-Serrano^{1*}, Eva Ginez-Meneses¹, Agustín Martínez-Reyes¹, Krystel
Alessandra Molina-Pérez¹

¹Licenciatura en Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, Benemérita
Universidad Autónoma de Puebla, 7200, Puebla.

yael.garciase@alumno.buap.mx

evaginezmeneses@gmail.com

agustinmartinezreyes@gmail.com

alessandra.moli96@gmail.com

Resumen

La quema de combustibles fósiles ha provocado varios conflictos en todo el mundo que han repercutido en el calentamiento global. Existe una alternativa que sustituye el uso de estas fuentes: los biocombustibles. El biobutanol se ha convertido en un punto de referencia para la industria biotecnológica por sus ventajas frente a otros biocombustibles. Sin embargo, existen ciertas limitaciones en su producción como son: la composición de la materia prima, los tratamientos costosos y la complejidad de las vías metabólicas. En este artículo exponemos una visión general sobre el potencial actual de *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* TG57 como microorganismo con una eficiente capacidad de producción de biobutanol.

Palabras clave: *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum*, biobutanol, biomasa lignocelulósica, biocombustible

Abstract

Burning of fossil fuels has brought several conflicts worldwide, impacting on the overheating of the planet. There is an alternative that replaces the use of these sources: biofuels. Biobutanol has become a focal point for the biotechnology industry due to its advantages among other biofuels. However, there are certain limitations on its production such as: raw material composition, expensive treatments and the complex metabolic pathways. On this paper we expose an overview about the actual potential of *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* TG57 as a microorganism with an efficient biobutanol production capability.

Keywords: *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum*, biobutanol, lignocellulosic biomass, biofuel

Introducción

Los combustibles fósiles sacian alrededor del 83% de la demanda global de energía, convirtiéndose en un recurso indispensable para la vida actual (Wilches, 2011). Sin embargo, han surgido problemas relacionados a la quema de combustibles: desde el agotamiento de las reservas hasta la generación de gases de efecto invernadero, contribuyendo significativamente al cambio climático. Es por eso que se han redoblado los esfuerzos a favor de la producción de combustibles provenientes de fuentes renovables, que mejoren la tasa de abastecimiento y que provean mejores condiciones ambientales y de salud (Arora, Behera, & Kumar, 2015).

La producción biotecnológica de biocombustibles surge como alternativa a esta problemática (Wilches, 2011). Por ejemplo, el biobutanol se obtiene a partir de la fermentación de lignocelulosa, material presente en plantas verdes y algas. La ventaja de utilizar plantas verdes y algas es que son una fuente renovable y abundante en la

biosfera (Arora et al., 2015). Además, el biobutanol tiene el potencial de reemplazar la gasolina por tener propiedades similares (Huzir et al., 2018). Sin embargo, su producción se ve limitada debido a los elevados costos de pretratamiento de la materia prima vegetal, pues se requiere de enzimas que faciliten el acceso a los microorganismos a los azúcares provenientes de la lignocelulosa. Si los microorganismos no tienen acceso a estos azúcares no podrán usarlos como fuente de alimento (Arora et al., 2015; Jiang et al., 2019)

Una solución a este problema es el uso de bacterias capaces de producir enzimas termoestables que degraden directamente la celulosa como materia prima (Li, Zhang, Yang, & He, 2018). Dichos organismos tienen la ventaja de desarrollarse a altas temperaturas, pues esta condición permite liberar fácilmente la lignocelulosa (Arora et al., 2015),

El objetivo de esta revisión es presentar a *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* TG57, una cepa bacteriana recién descubierta, y su capacidad para producir biobutanol de una forma eficiente tras mostrar un panorama general de los biocombustibles hoy en día y sus perspectivas.

Biocombustibles en la actualidad

Problemática medioambiental

Uno de los mayores retos de la humanidad es estimular el crecimiento económico sin comprometer ni dañar al medio ambiente. El uso irracional e insostenible actual de los recursos de la tierra causa impactos negativos, como: pérdida de biodiversidad, alteraciones de los ecosistemas y cambio climático (Correa et al., 2019). El consumo excesivo de combustibles fósiles es la principal fuente de emisiones de gases de efecto

invernadero, responsables de la aceleración del calentamiento global (Pugazhendhi et al., 2019).

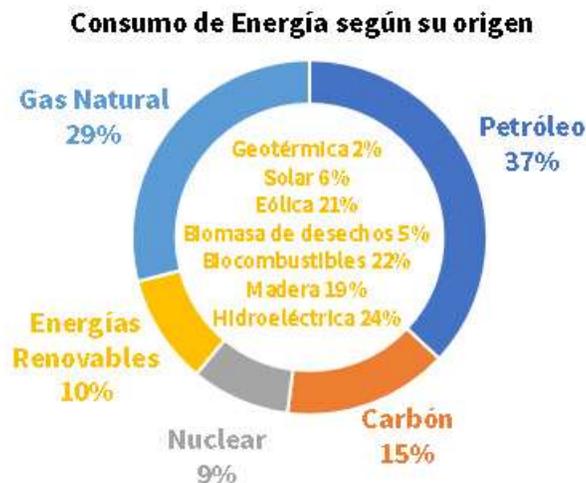


Figura 1. Gráfica de pastel del consumo de energía según su origen, adaptada de Huzir et al., 2018

En 2016 se reportó que el 81% de los combustibles usados fueron carbón, petróleo y gas natural (Figura 1). En el 2019 se observó un incremento del 2% del uso de estas fuentes, por lo que la energía que se consume sigue siendo en su mayoría de origen no renovable (Correa et al., 2019). Sin embargo, debido a que los combustibles fósiles comienzan a escasear y por sus efectos negativos al medio ambiente, se espera que haya una rápida adopción de sistemas de energías renovables que los reemplacen (Correa et al., 2019).

¿Qué son los biocombustibles?

Los biocombustibles son compuestos ricos en carbono que pueden ser usados para generar energía, tal como un combustible normal, la diferencia radica en que provienen de la transformación de compuestos orgánicos como plantas herbáceas, maderas, semillas, desechos de agricultura y bosques, así como algas (Correa et al., 2019).

El avance de las tecnologías en la producción de biocombustibles ha definido su clasificación por el tipo de materia prima que emplean: los de *primera generación* se producen a partir de azúcares, aceite comestible y almidón; los de *segunda generación*

se producen a partir de materia prima no comestible; los de *tercera generación* se producen a partir de algas; los de *cuarta generación* utilizan la captura de CO₂ u otras tecnologías de reciente desarrollo (Bhatia & Yang, 2017).

Los biocombustibles de *primera generación* han sido los más producidos hasta ahora, no obstante, el uso de cultivos destinados a la alimentación como su materia prima ha causado polémica. Es por esto que los biocombustibles de *segunda generación* presentan una gran ventaja sobre los de primera (Jiang et al., 2019), siendo la *lignocelulosa* un insumo potencialmente prometedor para estas tecnologías (Kumar & Gayen, 2011). Los combustibles de *tercera y cuarta generación* resultan ser más ventajosos con respecto a los dos primeros, sin embargo, aún permanecen en etapas de desarrollo (Bhatia, Kim, Yoon, & Yang, 2017).

En la actualidad, la producción de biocombustibles ha permanecido, en su mayoría, a nivel de laboratorio. Pocos países como *Brasil, Italia y Estados Unidos* han establecido plantas a escala comercial (Natalense & Zouain, 2013; Selbmann, 2015), sin embargo, en otros países no se aprovecha su empleo y producción debido al poco financiamiento destinado a la explotación de estos recursos (Bhatia et al., 2017)

Biobutanol como Biocombustible

Se le llama biobutanol al alcohol de cuatro carbonos obtenido a partir de biomasa natural, orgánica o biodegradable (Pugazhendhi et al., 2019). Aunque hay algunos problemas para purificarlo, su producción dada por microorganismos ha llamado la atención porque han surgido nuevas tecnologías y aplicaciones biotecnológicas que resultan en más y mejores rendimientos sin generar productos secundarios (Rathour, Ahuja, Bhatia, & Bhatt, 2018).

El butanol es un producto de la fermentación Acetona-Butanol-Etanol (ABE) (Gronenberg, Marcheschi, & Liao, 2013). Este se usó como alternativa a la pólvora y se

usó en la producción de hules durante la primera y segunda guerra mundial, respectivamente. En 1927 fue el principal combustible usado en la industria automotriz (Wilches, 2011).

La producción de butanol por la fermentación ABE se vio desplazada en 1960 por la industria petroquímica, hasta que el precio del crudo aumentó y se reiniciaron las fermentaciones industriales por la vía ABE. Actualmente, la demanda de fuentes de energía renovables hace que el butanol vuelva a llamar la atención gracias a que muestra mejores características que los combustibles tradicionales y otros biocombustibles (Rathour et al., 2018).

Algunas ventajas del butanol son: puede ser mezclado con gasolina a cualquier proporción y usado en vehículos sin modificar el sistema del motor, a diferencia del etanol que sólo puede ser usado como aditivo; libera más energía que la gasolina, etanol y metanol por cada ciclo del motor en marcha (Ranjan & Moholkar, 2012); es menos volátil que el etanol y la gasolina; es menos invasivo y más seguro (No, 2016).

Para producir biobutanol se recurre a la fermentación ABE. En esta fermentación se utiliza *C. Acetobutylicum* como fermentador y carbohidratos simples, como glucosa, azúcar o almidón de maíz como materia prima (Raganati, Procentese, Olivieri, Salatino, & Marzocchella, 2014). No obstante, estos materiales son caros y poco rentables (Ibrahim, Kim, & Abd-Aziz, 2018).

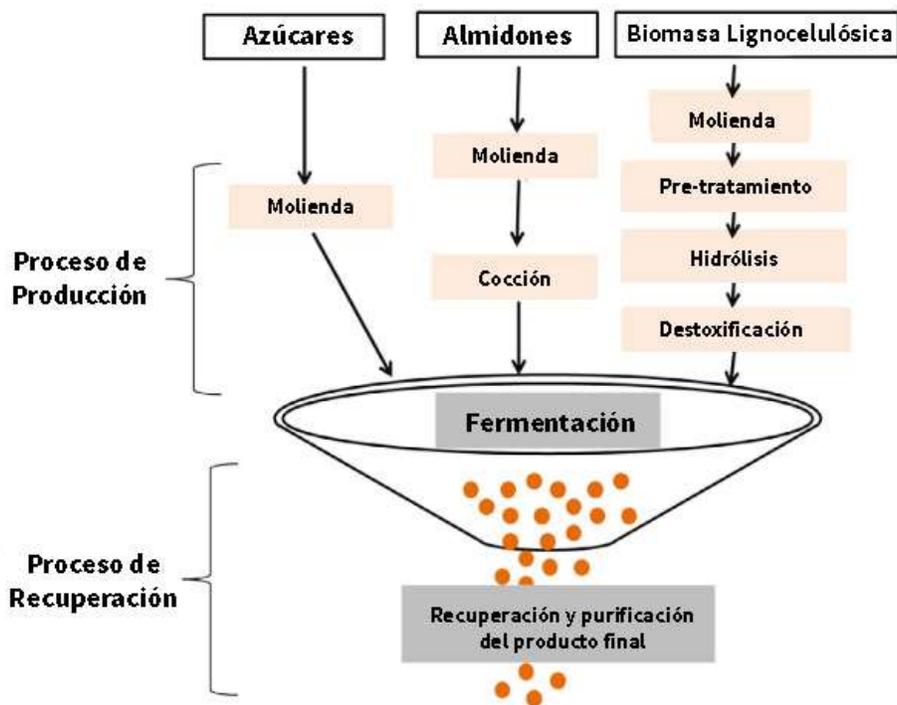


Figura 2. Proceso general de la producción de biobutanol, adaptado de Pugazhendhi et al., 2019

La alternativa más rentable y ecológica es usar residuos de trigo, cebada, yuca y maíz (Huzir et al., 2018). Estos sustratos suelen ser de naturaleza lignocelulósica, es decir, contienen compuestos fibrosos, principalmente celulosa, hemicelulosa y lignina. Estos últimos son polímeros de glucosa y xilosa, que sirven como alimento para la bacteria. A partir de esta materia prima se realiza la fermentación y se forman los productos del proceso ABE. Esta mezcla aún debe ser procesada para separar el biobutanol de los demás compuestos (Figura 2) (Ranjan & Moholkar, 2012).

Debido a la estructura compleja del material lignocelulósico, se debe tener un pretratamiento para facilitar el acceso a las bacterias y a sus enzimas (Figura 3) (Huzir et al., 2018). Dichos tratamientos siguen diferentes estrategias, tanto mecánicas como bioquímicas. Por ejemplo, la materia se puede moler, disolver en ácidos orgánicos, o

tratarla con agua caliente. Una alternativa más amigable con el medio ambiente de degradar la lignocelulosa es el uso de enzimas, hongos u otras especies de bacterias (Procentese et al., 2017).

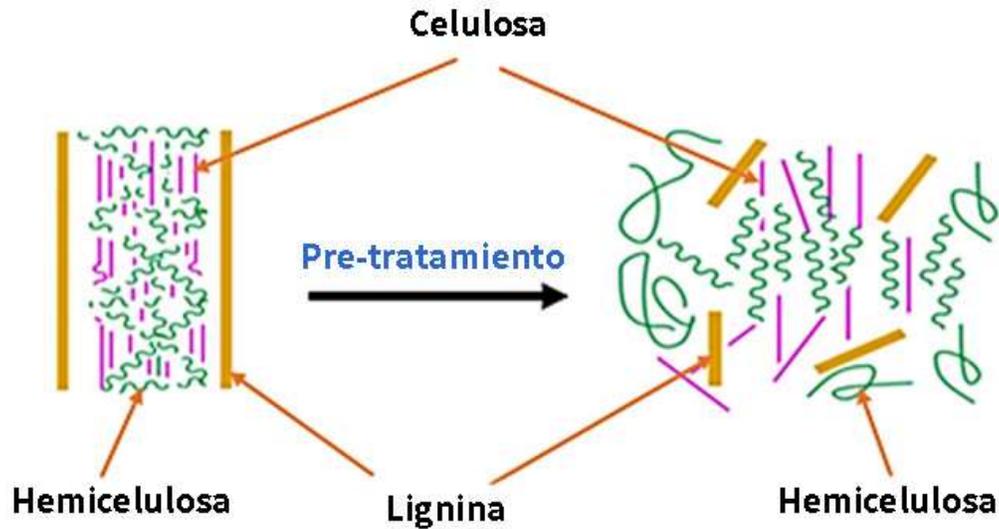


Figura 3. Esquema del efecto del pretratamiento al material lignocelulósico, adaptado de Pugazhendhi et al., 2019

A nivel internacional, diversas industrias producen butanol a partir de fermentaciones. Un ejemplo es Escocia, donde el butanol se deriva de la producción del whisky. Algunos países de la unión europea están desarrollando “The butaNEXT”, un proyecto efectuado por un consorcio de empresas multidisciplinarias, el cual tiene fines ambientales y económicos. En Singapur se descubrió una bacteria llamada “*Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* TG57” que es capaz de convertir la celulosa directamente en biobutanol (Bhandiwad, Guseva, & Lynd, 2013; Huzir et al., 2018). En la tabla 1, se muestran las principales compañías productoras a nivel industrial de butanol.

Tabla 1. Compañías involucradas en la producción de butanol. Obtenida de (Huzir et al., 2018)

Compañía	Materia prima	Localización	Fundada	Estatus	Observaciones
Butamax	Maíz	US	2009	Desarrollo de mercado	Empresa conjunta
Gevo	Maíz, Azúcar	US	2005	Desarrollo de mercado	Moderniza sus plantas
BUTALCO GmbH	Desechos agrícolas	Suiza	2007	Planta piloto	
Green biologics	Azúcar y desechos agrícolas	UK	2003	Desarrollo de mercado	Producción comenzó en 2017
Cathay Industrial Biotech	Desechos agrícolas	China	1997	Desarrollo de mercado	
Energy Quest	Petroquímicos	Malasia	2004	Desarrollo de mercado	
Laxmi Organic Industries	Azúcar de caña	India	2005	Desarrollo de mercado	
SaBuCo	Petroquímicos	Arabia Saudita	2013	Desarrollo de mercado	Comercialización en 2016
GS Caltex	Maíz y Tapioca	Korea	2007	Planta piloto	

***Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* como productor de biobutanol**

Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum TG57 es capaz de fermentar directamente hemicelulosa y otros polisacáridos en butanol (Arora et al., 2015). No obstante, esta bacteria disminuye el consumo de estos polisacáridos si el medio donde crece hay azúcares simples. Por esta razón, esta cepa se cultivó en un medio con microcristales de celulosa como única fuente de carbono, consiguiendo una cepa capaz de producir biobutanol directamente de celulosa (Li et al., 2018).

El cultivo de *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* TG57 se mantiene a pequeña escala en laboratorio debido a que es una cepa recién descubierta. Además se necesitan estudios para determinar una formulación que provea los nutrientes necesarios para un crecimiento óptimo, empleando materias primas accesibles y económicas (Li et al., 2018).

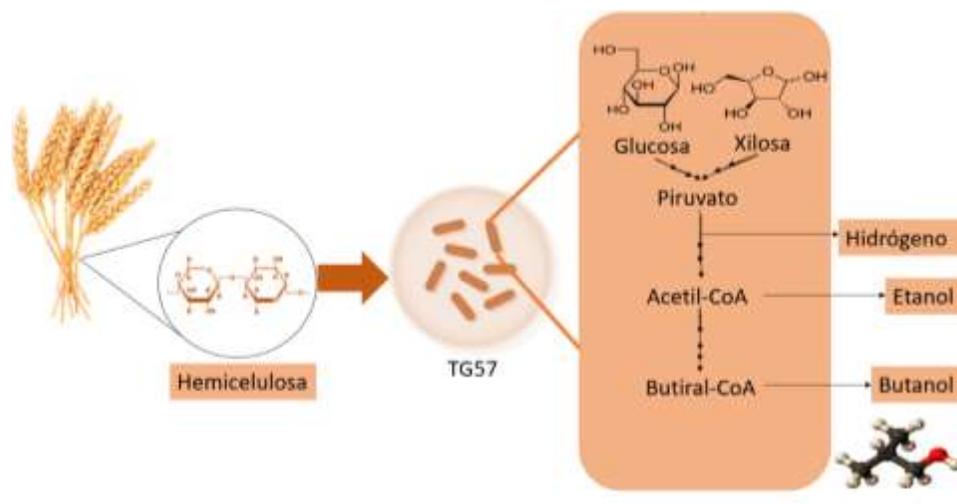


Figura 4. Esquema general de la ruta EB. La cepa TG57 de *T. thermosaccharolyticum* tiene la capacidad de degradar la hemicelulosa presente en la materia prima vegetal, a partir de la asimilación de la glucosa y xilosa, gracias a la presencia de enzimas liasas y deshidrogenasas que permiten la obtención final de butanol. (Adaptado de Jiang et al., 2017)

Tras el análisis del genoma de *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* TG57, se descubrieron enzimas responsables de la producción de butanol que no habían sido identificadas antes en otras cepas de la misma especie, incluso las íntimamente relacionadas a ésta (Li et al., 2018). De hecho, otras cepas de *T. thermosaccharolyticum* siguen una ruta fermentativa ABE, produciendo acetona, butanol y etanol en una proporción 3:6:1 (Jiang et al., 2019; Pugazhendhi et al., 2019).

Aunque otros microorganismos también son capaces de producir butanol naturalmente, su desventaja es que no logran fermentar lignocelulosa adecuadamente, o bien, producen otros compuestos que dificultan la obtención del butanol puro. Por lo mismo, se han desarrollado OGMs capaces de producirlo como se desea, sin embargo, su eficiencia es muy baja (Hon et al., 2017).

Estos datos refuerzan la idea de que *T. thermosaccharolyticum* TG57 tiene un gran potencial biotecnológico al producir biobutanol eficientemente y con menor costo por el uso de materia prima económica. Además, sus genes de interés se pueden expresar en otros modelos más sencillos o conocidos.

Retos en la producción de biobutanol

El nivel de producción de biobutanol por bacterias termofílicas todavía es bajo, esto debido a lo complicado de sus rutas metabólicas. Otro factor que juega un papel importante es la toxicidad del butanol, la cual influye en el crecimiento microbiano y en la propia producción de butanol (Jiang et al., 2017)

Una limitante actual en la ingeniería de rutas metabólicas para este proceso es la falta de recursos biológicos, puesto que sólo se conoce a *T. thermosaccharolyticum* TG57 como organismo termofílico silvestre con la capacidad de producir biobutanol y, por ende, una pobreza en enzimas termoestables que estén involucradas directamente (García, Pääkilä, Ojamo, Muurinen, & Keiski, 2011). Se espera que, una vez teniendo estos conocimientos, se logre hacer ingeniería genética para sobreexpresar los genes que promuevan la síntesis de biobutanol, o bien, apagar aquellos que propicien la formación de metabolitos no deseados como ácido láctico o acético (Jiang et al., 2017)

En la investigación moderna, el foco importante es la selección del mejor sustrato con base en sus propiedades: composición química, rentabilidad y accesibilidad (Pugazhendhi et al., 2019). Otros aspectos que se están estudiando son los consorcios microbianos en lugar de monocultivos, ya que tienen la capacidad de realizar tareas más complicadas y soportar entornos cambiantes (Jiang et al., 2019).

Se ha propuesto realizar un bioprocesamiento consolidado para *Thermoanaerobacterium* spp. el cual involucre la producción de enzimas, degradación de lignocelulosa y la fermentación en un solo paso para obtener un mayor rendimiento en la producción de biocombustibles (Xin, Dong, Zhang, Ma, & Jiang, 2019)

Perspectivas

El biobutanol resulta prometedor para satisfacer la demanda de recursos energéticos alternativos económicamente sólidos y aceptables ambientalmente. Se espera que el

estudio de los posibles sustratos, los microorganismos y las tecnologías proporcionen mayor comprensión de este proceso, el cual tiene falta de conocimientos para su optimización a nivel industrial. Se considera que la producción de biobutanol a gran escala traerá consigo beneficios económicos para el campo laboral. (Pugazhendhi et al., 2019)

El biobutanol es considerado “el combustible de la siguiente generación”, emergiendo como el combustible ideal para los sistemas de transporte debido a sus ventajas sobre los combustibles actuales (Goyal & Khanna, 2019).

Existe una disputa sobre el espacio de cultivo de algunas especies como sorgo dulce o caña de azúcar con respecto a su finalidad: satisfacer la rama alimenticia contra la demanda energética (Visioli et al., 2015). En contraste, la biomasa lignocelulósica derivada de los desechos industriales o residuos agrícolas y silvícolas podrían mitigar las preocupaciones “comida versus combustible” (Wei et al, 2013).

Próximamente se espera un incremento en la investigación sobre la producción de biobutanol en comparación a los procesos actuales de obtención de combustibles para buscar una opción rentable y más amigable con el ambiente, buscando el beneficio de los consumidores (Goyal & Khanna, 2019).

Conclusiones

El biobutanol puede representar una alternativa de solución a los problemas actuales producidos por el incremento en el uso de combustibles de origen fósil. Para aumentar su producción a nivel mundial se requiere generar conocimiento sobre microorganismos con la capacidad de producir este compuesto sin la necesidad del pretratamiento de la materia prima.

La cepa silvestre *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* TG57 apunta a ser un candidato ideal en la producción de biobutanol al poseer dentro de su genoma los genes

necesarios para utilizar polisacáridos complejos, como la lignocelulosa, y metabolizarlos para la producción de este biocombustible. Con esto se recalca el potencial biotecnológico que existe dentro de la diversidad de este género bacteriano, sin embargo, se requiere más trabajo de investigación y apoyo para promover ampliamente el uso de esta tecnología.

Agradecimientos

Agradecemos al Dr. Enrique González Vergara por la asesoría y el apoyo brindado durante la elaboración de este artículo de divulgación científica, así como a nuestros demás profesores que nos han ayudado en la comprensión de las diferentes temáticas abordadas en este escrito.

Referencias

- Arora, R., Behera, S., & Kumar, S. (2015). Bioprospecting thermophilic/thermotolerant microbes for production of lignocellulosic ethanol: A future perspective. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 51, 699–717. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.06.050>
- Bhandiwad, A., Guseva, A., & Lynd, L. (2013). Metabolic Engineering of *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* for Increased n-Butanol Production. *Advances in Microbiology*, 03(01), 46–51. <https://doi.org/10.4236/aim.2013.31007>
- Bhatia, S. K., Kim, S.-H., Yoon, J.-J., & Yang, Y.-H. (2017). Current status and strategies for second generation biofuel production using microbial systems. *Energy Conversion and Management*, 148(3), 1142–1156. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.06.073>
- Bhatia, S. K., & Yang, Y. H. (2017). Microbial production of volatile fatty acids: current status and future perspectives. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 16(2), 327–345. <https://doi.org/10.1007/s11157-017-9431-4>
- Correa, D. F., Beyer, H. L., Fargione, J. E., Hill, J. D., Possingham, H. P., Thomas-Hall, S. R., & Schenk, P. M. (2019). Towards the implementation of sustainable biofuel production systems. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 107(May 2018), 250–263. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.03.005>
- García, V., Pääkkilä, J., Ojamo, H., Muurinen, E., & Keiski, R. L. (2011). Challenges in biobutanol production: How to improve the efficiency? *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(2), 964–980. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2010.11.008>
- Goyal, L., & Khanna, S. (2019). Recent Advances in Microbial Production of Butanol as a Biofuel. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 7(2), 130–152.

<https://doi.org/10.3126/ijasbt.v7i2.24630>

Gronenberg, L. S., Marcheschi, R. J., & Liao, J. C. (2013). Next generation biofuel engineering in prokaryotes. *Current Opinion in Chemical Biology*, 17(3), 462–471.

<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.03.037>

Hon, S., Olson, D. G., Holwerda, E. K., Lanahan, A. A., Murphy, S. J. L., Maloney, M. I., ... Lynd, L. R. (2017). The ethanol pathway from *Thermoanaerobacterium saccharolyticum* improves ethanol production in *Clostridium thermocellum*. *Metabolic Engineering*, 42, 175–184.

<https://doi.org/10.1016/j.ymben.2017.06.011>

Huzir, N. M., Aziz, M. M. A., Ismail, S. B., Abdullah, B., Mahmood, N. A. N., Umor, N. A., & Syed Muhammad, S. A. F. (2018). Agro-industrial waste to biobutanol production: Eco-friendly biofuels for next generation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 94, 476–485.

<https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.06.036>

Ibrahim, M. F., Kim, S. W., & Abd-Aziz, S. (2018). Advanced bioprocessing strategies for biobutanol production from biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 91, 1192–1204.

<https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.04.060>

Jiang, Y., Lv, Y., Wu, R., Sui, Y., Chen, C., Xin, F., ... Jiang, M. (2019). Current status and perspectives on biobutanol production using lignocellulosic feedstocks. *Bioresource Technology Reports*, 7(March), 100245. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100245>

Jiang, Y., Xin, F., Lu, J., Dong, W., Zhang, W., Zhang, M., ... Jiang, M. (2017). State of the art review of biofuels production from lignocellulose by thermophilic bacteria. *Bioresource Technology*, 245, 1498–1506. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.142>

Kumar, M., & Gayen, K. (2011). Developments in biobutanol production: New insights. *Applied Energy*, 88(6), 1999–2012. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.12.055>

Li, T., Zhang, C., Yang, K.-L., & He, J. (2018). Unique genetic cassettes in a *Thermoanaerobacterium* contribute to simultaneous conversion of cellulose and monosugars into butanol. *Science Advances*, 4(3), e1701475. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1701475>

Natalense, J., & Zouain, D. (2013). Technology roadmapping for renewable fuels: Case of biobutanol in Brazil. *Journal of Technology Management and Innovation*, 8(4), 143–152. <https://doi.org/10.4067/s0718-27242013000500012>

No, S.-Y. (2016). Application of biobutanol in advanced CI engines – A review. *Fuel*, 183, 641–658. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.06.121>

Procentese, A., Raganati, F., Olivieri, G., Russo, M. E., de la Feld, M., & Marzocchella, A. (2017). Renewable feedstocks for biobutanol production by fermentation. *New Biotechnology*, 39, 135–140. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2016.10.010>

Pugazhendhi, A., Mathimani, T., Varjani, S., Rene, E. R., Kumar, G., Kim, S.-H., ... Yoon, J.-J. (2019). Biobutanol as a promising liquid fuel for the future - recent updates and perspectives. *Fuel*, 253, 637–646. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.04.139>

Raganati, F., Procentese, A., Olivieri, G., Salatino, P., & Marzocchella, A. (2014). Biobutanol production from hexose and pentose sugars. *Chemical Engineering Transactions*, 38, 193–198.

<https://doi.org/10.3303/CET1438033>

Ranjan, A., & Moholkar, V. S. (2012). Biobutanol: science, engineering, and economics. *International Journal of Energy Research*, 36(3), 277–323. <https://doi.org/10.1002/er.1948>

Rathour, R. K., Ahuja, V., Bhatia, R. K., & Bhatt, A. K. (2018). Biobutanol: New era of biofuels. *International Journal of Energy Research*, 42(15), 4532–4545. <https://doi.org/10.1002/er.4180>

Selbmann, K. (2015). Bio-, Agro- or even Social Fuels: Discourse Dynamics on Biofuels in Germany. *Environmental Values*, 24(4), 483–510. <https://doi.org/10.3197/096327115X14345368709943>

Visioli, L. J., Alves, E. A., Trindade, A., Kuhn, R. C., Schwaab, M., & Mazutti, M. A. (2015). Evaluation of biobutanol production by *Clostridium beijerinckii* NRRL B-592 using sweet sorghum as carbon source. *Ciência Rural*, 45(9), 1707–1712. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20140520>

Wei, N., Quarterman, J., Kim, S. R., Cate, J. H. D., & Jin, Y.-S. (2013). Enhanced biofuel production through coupled acetic acid and xylose consumption by engineered yeast. *Nature Communications*, 4(1), 2580. <https://doi.org/10.1038/ncomms3580>

Wilches, Á. (2011). Biocombustibles: ¿Son realmente amigables con el ambiente? *Revista Colombiana de Bioética*, 6, 89–102. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=189219032007>

Xin, F., Dong, W., Zhang, W., Ma, J., & Jiang, M. (2019). Biobutanol Production from Crystalline Cellulose through Consolidated Bioprocessing. *Trends in Biotechnology*, 37(2), 167–180.

<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.08.007>