

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	3
ANTECEDENTES.....	3
1.1 Biocombustibles.....	3
1.1.2 Bioetanol.....	3
1.1.3 Bioetanol: marco mundial y en México.....	6
1.2 Almidón .....	9
1.2.1 Enzimas amilolíticas .....	11
1.3 Fermentación.....	12
1.4 Tecnologías empleadas para la fermentación.....	14
1.5 Organismos nativos .....	15
1.5.1 Descripción general de hongos y levaduras.....	16
1.6 <i>Brosimum alicastrum</i> .....	20
1.6.1 Distribución y hábitat.....	20
1.6.2 Taxonomía.....	22
1.6.3 Descripción .....	22
1.6.4 Semillas .....	23
1.6.5 Usos .....	25
1.7 Justificación .....	27
1.8 Hipótesis.....	28
1.9 Objetivo general.....	29
1.9.1 Objetivos específicos .....	29
1.10 Estrategia experimental .....	30
CAPÍTULO II.....	31
MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
2.1 Materia prima.....	31
2.2 Material biológico .....	31
2.2.1 Reactivación de las levaduras y hongos .....	32
2.2.2 Mantenimiento de las levaduras y hongos .....	32
2.2.3 Conservación de las levaduras y hongos a mediano plazo .....	32
2.2.4 Conservación de las levaduras y hongos a largo plazo.....	32
2.2.5 Crecimiento de las cepas seleccionadas a distintas temperaturas.....	33
2.2.6 Hidrólisis de almidón soluble de las cepas en estudio.....	33

2.2.7 Tolerancia de las cepas en estudio a distintas concentraciones de etanol .....	34
2.2.8 Cinética de crecimiento de los aislados de levaduras en medio GELP .....	34
2.2.8.1 Preparación del inóculo.....	34
2.2.8.2 Cinética de crecimiento.....	35
2.2.8.3 Velocidad máxima de crecimiento y tiempos de duplicación .....	35
2.2.9 Cinética de liberación de azúcares reductores por los aislados <i>Trametes hirsuta</i> Bm-2 y RT-1 .....	36
2.2.9.1 Preparación del inóculo.....	36
2.2.9.2 Dinámica de la hidrólisis enzimática.....	36
2.3 Fermentación.....	37
2.3.1 Preparación del sustrato .....	37
2.3.2 Preparación del inóculo.....	37
2.3.3 Estrategia de SCFS .....	37
2.3.4 Destilación .....	38
2.3.5 Eficiencia del proceso .....	38
2.4 Métodos analíticos .....	38
2.4.1 Determinación de azúcares reductores directos (ARD).....	38
2.4.2 Evaluación de la concentración de azúcares reductores totales por HPLC .....	38
2.4.3 Determinación de la concentración de bioetanol por cromatografía de gases....	39
2.4.4 Análisis estadístico .....	39
CAPÍTULO III.....	40
RESULTADOS .....	40
3.1 Reactivación de los aislados de levaduras y hongos .....	40
3.2 Tolerancia de las cepas bajo estudio a distintas temperaturas.....	42
3.3 Hidrólisis de almidón soluble por los aislados de levaduras y hongos bajo estudio	47
3.4 Tolerancia de los aislados de levaduras y hongos bajo estudio a distintas concentraciones de etanol .....	50
3.5 Curva de crecimiento de los aislados nativos de levaduras en medio GELP.....	54
3.6 Cinética de liberación de azúcares reductores por <i>Trametes hirsuta</i> Bm-2 y RT-156	
3.7 Estrategias de sacarificación y cofermentación simultánea.....	61
CONCLUSIONES .....	71
PERSPECTIVAS .....	72
BIBLIOGRAFÍA.....	73

## RESUMEN

El uso de fuentes no renovables ha traído como consecuencia el cambio climático global derivado de las emisiones de GEI, especialmente CO<sub>2</sub>, llevando a la búsqueda de combustibles alternativos que no dependan de fuentes fósiles, como el bioetanol. Este biocombustible, puede obtenerse mediante la fermentación de los carbohidratos contenidos en la biomasa, y actualmente alrededor del 60 % de la producción mundial de etanol proviene de materias primas amiláceas, principalmente del maíz. Tomando en consideración el debate originado por el desvío del uso de materias primas destinadas para el consumo humano, hacia la producción de biocombustible (alimento vs. biocombustible), y al hecho de que la industria del bioetanol no ha florecido en México, se propone el uso de las semillas de *Brosimum alicastrum* para la producción de bioetanol, por su contenido de almidón (61-63 %) y porque en la actualidad rara vez son consumidas. El objetivo de esta tesis fue desarrollar una sacarificación y co-fermentación simultánea utilizando el basidiomiceto autóctono, *Trametes hirsuta* Bm-2 o RT-1, para hidrolizar el almidón presente en la harina de semillas de ramón, y la adición de levaduras nativas, *Candida tropicalis* PL-1 y *Hanseniaspora guilliermondii* TL-3, para fermentar los azúcares reductores producidos. Los resultados mostraron que *T. hirsuta* RT-1 fue más eficiente que *T. hirsuta* Bm-2 en la hidrólisis del almidón presente en la harina de semillas de ramón; que una agitación del hidrolizado con el hongo a 150 rpm a  $32 \pm 2$  °C por 24 h aumentó la concentración de azúcares reductores, y que la levadura *Candida tropicalis* PL-1 presentó el mejor desempeño fermentativo produciendo 18.93 g/L de etanol. Si bien, se demostró la viabilidad de la estrategia propuesta es necesario incrementar la hidrólisis del almidón en la suspensión de la harina de semillas de ramón para obtener una mayor concentración de ARD y en consecuencia más etanol.