

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS.	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.	v
RESUMEN.	viii
ABSTRACT.	ix
ABSTRACT.	ix
INTRODUCCIÓN.	1
CAPITULO 1.	2
ANTECEDENTES	2
1.1. CULTIVO DE PIÑA.....	2
1.1.1. PRINCIPALES PRODUCTORES	4
1.1.2. DISPOSICIÓN Y APROVECHAMIENTO DE LOS RESIDUOS DEL CULTIVO DE PIÑA ..	5
1.2. BIOMASA LIGNOCELULOSICA.....	6
1.3. BIOETANOL DE SEGUNDA GENERACIÓN.....	8
1.4. PRETRATAMIENTOS PARA BIOMASA LIGNOCELULOSICA	9
1.4.1. PRETRATAMIENTOS HIDROTÉRMICOS	12
1.4.2. PRETRATAMIENTOS BIOLÓGICOS	14
1.5. MICROORGANISMOS AUTOCTONOS	17
1.6. JUSTIFICACIÓN	19
1.7. HIPÓTESIS	20
1.8. OBJETIVOS	21
1.9. DISEÑO EXPERIMENTAL	22
CAPITULO 2.	23
MATERIALES Y METODOS	23
2.1. MATERIAL LIGNOCELULÓSICO (RESIDUOS DE HOJAS DE PIÑA)	23
2.2. ACONDICIONAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA	23

2.3. AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS AUTÓCTONOS	23
2.3.1. ACTIVIDAD LACASA EN PLACA.....	24
2.3.2. ACTIVIDAD CELULASA EN PLACA	25
2.3.3. PRUEBAS FERMENTATIVAS.....	25
2.4. CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL LIGNOCELULÓSICO	25
2.4.1 ANÁLISIS FISICOQUÍMICO	25
2.4.2 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO (FT-IR)	26
2.4.3. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)	26
2.5. FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO	27
2.5.1. MICROORGANISMOS	27
2.5.2. FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO	27
2.5.3. CUANTIFICACION DE FENOLES.....	28
2.5.4. CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD LACASA	28
2.5.5. DETERMINACIÓN DE DESLIGNIFICACIÓN	28
2.6. HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE LOS SÓLIDOS PRETRATADOS.....	29
2.6.1 CUANTIFICACIÓN AZÚCARES REDUCTORES	29
2.6.3 CARACTERIZACIÓN DE LA HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA.....	30
2.7. PRETRATAMIENTO HIDROTÉRMICO	30
2.7.1. CARACTERIZACIÓN DE LOS HIDROLIZADOS	31
2.7.2. HIDROLISIS ENZIMÁTICA DE LOS SÓLIDOS PRETRATADOS.....	31
2.7.3. HIDROLISIS ENZIMÁTICA ASISTIDA DE LOS SÓLIDOS PRETRATADOS.....	32
CAPITULO 3.	33
RESULTADOS	33
3.1. AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE LA MICROBIOTA	33
3.2. EVALUACIÓN CUALITATIVA DE ACTIVIDAD LACASA Y CELULASA DE LAS CEPAS <i>Trametes hirsuta</i>	38
3.3. CARACTERIZACIÓN DE LOS RESIDUOS	39

3.4. FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO	40
3.4.1. HIDROLISIS ENZIMÁTICA DE LAS BIOMASAS PRETRATADAS EN FES	50
3.5. PRETRATAMIENTOS HIDROTÉRMICOS	56
3.5.1. HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE LA BIOMASA PRETRATADA.....	62
CONCLUSIONES.....	69
PERSPECTIVAS.....	70
BIBLIOGRAFÍA	71

RESUMEN

Los desechos del cultivo de piña generan contaminación en campo y costos de disposición para los productores, sin embargo, por su alto contenido de holocelulosa, son fuente potencial de carbono para la producción de bioetanol. Debido a que es una biomasa lignocelulósica, es necesario la aplicación de pretratamientos efectivos para acceder a los azúcares fermentables. En este trabajo, se evaluaron tres cepas de *T. hirsuta* en fermentación en estado sólido (FES) a 27 y 35 °C, como pretratamiento biológico y una tecnología de alta presión como pretratamiento fisicoquímico a temperaturas de 160, 170 y 180 °C con régimen isotérmico de 10, 25 y 40 min respectivamente (hidrotérmico). Los pretratamientos provocaron en la biomasa cambios composicionales y estructurales, que se analizaron por microscopia electrónica de barrido y espectroscopia de infrarrojo. La biomasa pretratada fue expuesta a una hidrólisis enzimática convencional, e hidrólisis enzimática asistida con extractos de *T. hirsuta*. Como resultado de la FES a 27 °C se produjo extracto enzimático con actividad lacasa de 6513.8 U/mL y a 35 °C una mayor tasa de deslignificación (28%). En la hidrólisis enzimática convencional se alcanzó un rendimiento de conversión de 90.8% de la holocelulosa, mientras que en la hidrólisis enzimática asistida fue posible hidrolizar el 100%. En los pretratamientos hidrotérmicos, se obtuvo una biomasa con 56% de celulosa a las condiciones de 180 °C con 25 min de residencia, los hidrolizados recuperados de esta fase contenían oligosacáridos derivados de la hemicelulosa específicamente xilooligosacaridos, así como furfurales, hidroximetil furfural, ácido fórmico, ácido levulínico y compuestos fenólicos con valor comercial. La hidrólisis enzimática convencional obtuvo un rendimiento del 100% con 0.56 g azúcares reductores por gramo de biomasa hidrolizada, mientras que, la hidrólisis enzimática asistida se logró este mismo desempeño en 12 h de reacción. La fermentación en estado sólido es un proceso económico y eficiente para la producción de azúcares fermentables, en comparación con los procesos hidrotérmicos, sin embargo, estos últimos pueden reducir en gran medida los tiempos de obtención de carbohidratos y recuperar compuestos de valor agregado como los furfurales, bajo el concepto de biorrefinería.

ABSTRACT

Pineapple crop waste generates contamination in the field and disposal costs for producers; however, due to its high holocellulose content, it is a potential source of carbon for bioethanol production. Because it is a lignocellulosic biomass, it is necessary to apply effective pretreatments to access fermentable sugars. In this work, three strains of *T. hirsuta* were evaluated in solid state fermentation (SSF) at 27 and 35 °C as biological pretreatment and a high pressure technology as physicochemical pretreatment at temperatures of 160, 170 and 180 °C with isothermal regime of 10, 25 and 40 min, respectively (hydrothermal). The pretreatments caused compositional and structural changes in the biomass, which were analyzed by scanning electron microscopy and infrared spectroscopy. The pretreated biomass was exposed to conventional enzymatic hydrolysis, and enzymatic hydrolysis assisted with *T. hirsuta* extracts. As a result of SSF at 27 °C, enzymatic extract with laccase activity of 6513.8 U/mL was produced and at 35 °C a higher delignification rate (28%). In conventional enzymatic hydrolysis, a conversion yield of 90.8% of holocellulose was achieved, while in enzyme-assisted hydrolysis it was possible to hydrolyze 100%. In the hydrothermal pretreatments, a biomass with 56% cellulose was obtained at 180 °C with 25 min residence time; the hydrolysates recovered from this phase contained oligosaccharides derived from hemicellulose, specifically xylooligosaccharides, as well as furfurals, hydroxymethyl furfural, formic acid, levulinic acid and phenolic compounds with commercial value. Conventional enzymatic hydrolysis obtained a yield of 100% with 0.56 g reducing sugars per gram of hydrolyzed biomass, while assisted enzymatic hydrolysis achieved the same performance in 12 h of reaction. Solid-state fermentation is an economical and efficient process for the production of fermentable sugars, compared to hydrothermal processes; however, the latter can greatly reduce the time to obtain carbohydrates and recover value-added compounds such as furfurans, under the biorefinery concept.