



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO®



Instituto Tecnológico de Toluca

**“PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE AZÚCARES REDUCTORES
OBTENIDOS DE LA CORONILLA DE PIÑA”**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA
EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL**

**PRESENTA:
ROCIO GABRIELA CEJUDO SANABRIA
No. CONTROL:
M22281238**

**DIRECTOR DE TESIS:
DR. NICOLÁS FLORES ÁLAMO**

**CO-DIRECTOR:
DR. FREDY CUELLAR ROBLES**

METEPEC, ESTADO DE MÉXICO, AGOSTO DE 2024



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Toluca
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Meteppec, Edo. de México, 26/agosto/2024

DR. FRANCISCO JAVIER ILLESCAS MARTÍNEZ
ENCARGADO DE LA JEFATURA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
PRESENTE

Por este medio comunicamos a usted que la comisión Revisora designada para analizar la tesis denominada **"PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE AZÚCARES REDUCTORES OBTENIDOS DE LA CORONILLA DE PIÑA"**, que como parte de los requisitos para obtener el grado académico de Maestra en Ciencias en Ingeniería Ambiental presenta la **C. CEJUDO SANABRIA ROCIO GABRIELA** con número de control **M22281238** para sustentar el acto de Recepción Profesional, ha dictaminado que dicho trabajo reúne las características de contenido y calidad para proceder a la impresión del mismo.

ATENTAMENTE

DR. NICOLÁS FLORES ALAMO
DIRECTOR DE TESIS

DR. FREDY CUÉLLAR ROBLES
CODIRECTOR DE TESIS

DR. MARCOS JOSE SOLACHE RÍOS
REVISOR DE TESIS

DRA. MARÍA DEL CARMEN CARREÑO DE
LEÓN
REVISOR DE TESIS

ccp. Archivo
EAH



Av. Tecnológico S/N, Col. Agrícola Bellavista, Metepec, Edo. de México, C.P. 52148 Tels. Dirección:
7222087205, Subd. Académica: 7222087207, Subd. de Planeación: 7222087206, Subd. Administrativa:
7222087208, Correo: 7222087200, e-mail: info@toluca.tecnm.mx | toluca.tecnm.mx



2024
Felipe Carrillo
PUERTO
GOBIERNO DEL ESTADO DE MÉXICO
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Toluca
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Metepec, Edo. de México, 27/agosto/2024
DEPI-3200- 294/2024

**ROCIO GABRIELA CEJUDO SANABRIA
CANDIDATO AL GRADO DE MAESTRO EN
CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL
PRESENTE**

De acuerdo con los Lineamientos para la Operación de los Estudios de Posgrado en el Tecnológico Nacional de México y las disposiciones en este Instituto, habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora realizó con respecto a su Trabajo de Tesis titulado "PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE AZÚCARES REDUCTORES OBTENIDOS DE LA CORONILLA DE PIÑA ", la División de Estudios de Posgrado e Investigación de este Instituto, concede la Autorización para que proceda al envío del trabajo final vía correo institucional.

Sin más por el momento, quedo de usted.

ATENTAMENTE

*Excelencia en Educación Tecnológica
"Educación, integridad y ciencia"*

**FRANCISCO JAVIER ILLESCAS MARTÍNEZ
ENCARGADO DE LA JEFATURA DE LA DIVISIÓN
DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN**



ccp. Archivo
FJIM/EAH



Av. Tecnológico s/n. Col. Agrícola Villarica, Metepec, Edo. de México, C.P. 52141 Toluca.
Dirección:
Teléfono: 01(52) 771 2100000, 01(52) 771 2100001, 01(52) 771 2100002, 01(52) 771 2100003.
Administración:



2024
Felipe Carrillo
PUERTO

Metepec, Estado de México a 27 de agosto del 2024

DR. FRANCISCO JAVIER ILLESCAS MARTÍNEZ
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN
PRESENTE

Anteponiendo un cordial saludo, los abajo firmantes **DAMOS FE** que el archivo Tesis_Rocio_Gabriela_Cejudo_Sanabria.PDF es la versión final de la Tesis de la C. Rocio Gabriela Cejudo Sanabria con número de control: M22281238 que desarrolló como proyecto de investigación en la Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental.

Quedo atento a cualquier comentario.



Dr. Nicolás Flores Alamo
Director de Tesis



Dr. Fredy Cuellar Robles
Co-Director de Tesis



Rocio Gabriela Cejudo Sanabria
Tesisista

DEDICATORIAS

A mi esposo **Jair** y a mi hija **Jatziry**, por su apoyo y amor. Esta tesis es un tributo a su paciencia y comprensión que me han brindado en este viaje académico. Este logro es resultado de nuestro trabajo en equipo.

IN MEMORIAM

En honor a mi madre **Angelina**, mi fuente de fortaleza y sabiduría. Aunque ya no estés físicamente conmigo, tu memoria y amor continúan guiándome en cada paso de este camino

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores, **Dr. Nicolás** y **Dr. Fredy** por todo el apoyo y la confianza para la realización de este trabajo y por compartir sus conocimientos.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología **CONAHCYT** por la beca otorgada para la realización de los estudios de posgrado.

Al **Instituto Tecnológico de Toluca** por abrir sus puertas para realizar mis estudios de posgrado y al **Laboratorio de Ingeniería Ambiental** de la misma institución por las instalaciones brindadas para desarrollar presente trabajo de investigación

Al revisor de Tesis **Dr. Marcos** por sus observaciones que sin duda sirvieron de soporte en esta investigación.

Una mención especial a la **Dra. Carmen** por su paciencia, por estar siempre al pendiente de mí, demostrando su apoyo y entusiasmo en todo momento, y sobre todo por ser una gran ser humano ¡gracias por todo!

RESUMEN

La biomasa lignocelulósica se compone principalmente de celulosa, hemicelulosa y lignina, su aprovechamiento es de gran interés por ser un recurso disponible, económico y viable para la para la producción de bioetanol de segunda generación entre otros productos. Actualmente el uso de bioetanol como combustible es una alternativa para mitigar los daños ocasionados por el efecto invernadero. De manera general, el proceso de obtención de este biocombustible es la hidrólisis de la biomasa lignocelulósica para la producción de azúcares reductores, seguido de la fermentación y la separación mediante un proceso de destilación.

El objetivo de este trabajo fue aprovechar la coronilla de piña para la producción de bioetanol de segunda generación ya que ha mostrado un alto potencial para la producción del biocombustible, el sustrato se sometió a un proceso de hidrólisis ácida con H_3PO_4 1.0 M y 95 °C a diferentes tiempos de reacción (30, 60, 90, 120, 180 y 300 min) donde la mayor producción de azúcares reductores (3.7 g/L) fue a los 120 min, además se pudo observar que a mayor tiempo de reacción la producción de azúcares disminuye y la presencia de productos inhibidores aumenta, lo cual se puede atribuir a la degradación de estos. También se estudió la caracterización del sustrato antes y después de la hidrólisis mostrando disminución en el contenido de celulosa y hemicelulosa, así como cambios en el espectro FTIR lo anterior se puede atribuir a la conversión de celulosa y hemicelulosa a azúcares reductores

Cada una de las muestras obtenidas en los diferentes tiempos de reacción en la hidrólisis se sometieron a un proceso fermentativo para la producción de bioetanol en tres diferentes tiempos (24, 48 y 72 h) una temperatura de 28 °C usando la levadura *Saccharomyces cerevisiae* donde se identificó que a las 72 horas se tuvo la mayor producción de bioetanol.

El proceso de separación del bioetanol fue con ayuda de una destilación fraccionada donde se evaluó el rendimiento del producto (Yp/s) a partir de la cantidad de sustrato y la cantidad de bioetanol producido encontrando un valor de 71.6 % de rendimiento, finalmente se evaluó el poder calorífico de biocombustible el cual fue de 18.6 MJ/Kg.

ABSTRACT

Lignocellulosic biomass is mainly composed of cellulose, hemicellulose and lignin, its use is of great interest because it is an available, economical and viable resource to produce second-generation bioethanol among other products. Currently, use of bioethanol as a fuel is an alternative to mitigate damage caused by greenhouse effect. In general, process of obtaining this biofuel is hydrolysis of lignocellulosic biomass for production of reducing sugars, followed by fermentation and separation through a distillation process.

The objective of this work was to take advantage of the pineapple crown for production of second generation bioethanol since it has shown a high potential for production of biofuel, substrate was subjected to an acid hydrolysis process with H_3PO_4 1.0 M and 95 °C at different reaction times (30, 60, 90, 120, 180 and 300 min) where highest production of reducing sugars (3.7 g/L) was at 120 min, in addition it could be observed that longer reaction time, production of sugars decreases and presence of inhibitory products increases, which can be attributed to their degradation. The characterization of substrate before and after hydrolysis was also study, showing a decrease in content of cellulose and hemicellulose, as well as changes in the FTIR spectrum.

Each of the samples obtained in different reaction times in hydrolysis were subject to a fermentative process to produce bioethanol at three times (24, 48 and 72 h) at a temperature of 28 °C using the yeast *Saccharomyces cerevisiae* where it was identified at 72 hours highest production of bioethanol was had.

The bioethanol separation process was with of fractional distillation where yield of the product (Yp/s) was evaluated from amount of substrate and amount of bioethanol produced, finding a value of 71.6 % of yield, finally calorific value of biofuel was evaluated, which was 18.6 MJ/Kg.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
1. FUNDAMENTOS	3
1.1 Bioenergía	6
1.2 Origen de los combustibles	6
1.3 Biocombustibles y su clasificación	6
1.3.1 Primera generación	7
1.3.2 Segunda generación	7
1.3.3 Tercera generación	7
1.3.4 Cuarta generación	7
1.4 Bioetanol	8
1.5 Biomasa lignocelulósica	8
1.5.1 Celulosa	9
1.5.2 Hemicelulosa	9
1.5.3 Lignina	9
1.6 Piña	9
1.6.1 Biomasa lignocelulósica de la piña y otras fuentes	10
1.7 Hidrólisis	10
1.7.1 Hidrólisis alcalina	11
1.7.2 Hidrólisis enzimática	11
1.7.3 Hidrólisis ácida	12
1.8 Fermentación	13
1.8.1 Fermentación alcohólica	13
1.8.2 Levaduras	14
1.9 Destilación	15
1.9.1 Azeótropo	15
1.9.2 Destilación simple	15
1.9.3 Destilación fraccionada	16
1.10 Poder calorífico	16
1.10.1 Bomba calorimétrica	16
2. MÉTODO	18
2.1 Secado molienda y preparación del residuo de piña	19
2.2 Caracterización del sustrato	19
2.2.1 Caracterización del sustrato después de la hidrólisis	19
2.2.2 Análisis por FTIR	19
2.2.3 Determinación de la humedad	19

2.2.4 Preparación para sustrato libre de extractivos.....	19
2.2.5 Determinación de lignina	20
2.2.6 Determinación de holocelulosa.....	20
2.2.7 Determinación de celulosa y hemicelulosa	20
2.3 Obtención del sustrato mediante hidrólisis ácida.....	21
2.4 Determinación de azúcares reductores	21
2.4.1 Preparación del reactivo DNS	21
2.4.2 Preparación de la curva de calibración de azúcares reductores.....	22
2.4.3 Cuantificación de azúcares reductores en la muestra	22
2.5 Determinación de productos inhibidores en la muestra hidrolizada	22
2.5.1 Determinación de furfural	22
2.5.2 Determinación de HMF	23
2.7 Fermentación alcohólica	23
2.8 Determinación de la concentración de bioetanol por valoración redox	24
2.9 Destilación	24
2.10 Determinación del poder calorífico	24
3. RESULTADOS	26
3.1 Caracterización del sustrato	26
3.2 Caracterización del sustrato después de la hidrólisis	26
3.3 Análisis por FTIR	27
3.4 Determinación de azúcares reductores	29
3.4.1 Curva de calibración de glucosa.....	29
3.4.2 Cuantificación de azúcares reductores en la muestra	30
3.5 Determinación de productos inhibidores en la muestra hidrolizada	30
3.5.1 Determinación de furfural	30
3.5.2 Determinación de HMF	32
3.6 Determinación de bioetanol.....	33
3.7 Destilación del bioetanol	34
3.8 Determinación del poder calorífico	35
4. CONCLUSIONES	36
5. REFERENCIAS	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1	Composición de residuos agroindustriales.....	10
Tabla 2.1	Componentes para el medio de fermentación.....	23
Tabla 3.1	Composición química de la coronilla de piña antes de la hidrólisis.....	26
Tabla 3.2	Composición química de la coronilla de piña después de la hidrólisis.....	27
Tabla 3.3	Picos principales de los espectros FTIR en la coronilla de piña.....	27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1	Estructura de la biomasa lignocelulósica.....	8
Figura 1.2	Reacción química en la fermentación alcohólica.....	14
Figura 2.1	Metodología del proceso de producción de bioetanol.....	18
Figura 3.1	Espectros IR de la coronilla de piña antes y después de la hidrólisis ácida.....	28
Figura 3.2	Curva de calibración de glucosa.....	29
Figura 3.3	Producción de azúcares reductores durante la hidrólisis ácida.....	30
Figura 3.4	Curva de calibración de furfural.....	31
Figura 3.5	Producción de furfural durante la hidrólisis.....	31
Figura 3.6	Curva de calibración de HMF.....	32
Figura 3.7	Producción de HMF durante la hidrólisis	33
Figura 3.8	Concentración de bioetanol en las muestras fermentadas.....	34

INTRODUCCIÓN

Debido al aumento de las actividades antropogénicas, especialmente la industria y el transporte, la demanda y el consumo de combustibles fósiles han aumentado proporcionalmente, provocando graves problemas ambientales. Esto ha resultado de gran interés científico y ha motivado a buscar nuevas fuentes de energía (Ambaye *et al.*, 2021).

La producción de bioetanol de segunda generación permite el aprovechamiento de residuos agrícolas, los cuales pueden ser empleados como biomasa lignocelulósica (Robak, K. & Balcerek., 2018). Según Roukas & Kotzekidou (2022) existe un interés creciente en la valorización de los residuos generados por la industria alimentaria. Estos desechos se producen en grandes cantidades en todo el mundo y causan graves problemas ambientales. El aprovechamiento de residuos en la industria de frutas y verduras es un desafío importante que los gobiernos deben abordar para promover la sostenibilidad.

Se estima que los residuos de la piña pueden representar valores del 75 al 85 % del peso total del fruto entre estos se destaca la coronilla de piña, la cual se compone principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina por este motivo presentan un alto potencial como material lignocelulósico para la producción de bioetanol de segunda generación (Salafia *et al.*, 2022). La producción de biocombustibles a partir de biomasa lignocelulósica requiere de tres etapas: pretratamiento, fermentación y separación o purificación. El objetivo del pretratamiento es transformar a partir de una hidrólisis ácida las cadenas poliméricas complejas en azúcares fermentables (reductores), la etapa de fermentación consiste en convertir esos azúcares en bioetanol y finalmente la separación del biocombustible mediante un proceso de destilación (Abo *et al.*, 2019).

Según Tse *et al.* (2021) entre los diferentes microorganismos utilizados para la producción de bioetanol, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* la más utilizada debido a su buena capacidad fermentativa, alta tolerancia al etanol y otros inhibidores (ya sea formados durante los pretratamientos de la materia prima o producidos durante la fermentación) y su capacidad para crecer rápidamente en condiciones anaeróbicas.

El objetivo general de la investigación fue determinar las condiciones para la fermentación alcohólica de azúcares reductores obtenidos de la coronilla de piña, empleando la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y los objetivos específicos fueron:

obtener azúcares reductores a partir de coronilla de piña a partir de un proceso de hidrólisis ácida diluida con ácido fosfórico (H_3PO_4) 1.0 M, determinar el contenido de celulosa, hemicelulosa en la coronilla de piña antes y después de la hidrólisis ácida así como la caracterización mediante la técnica FTIR, determinar el tiempo de fermentación del hidrolizado obtenido a partir de la coronilla de piña para producción de bioetanol, determinar el rendimiento máximo en el proceso de fermentación con las condiciones de operación, destilar el bioetanol obtenido en la fermentación alcohólica y evaluar la calidad del bioetanol determinando su poder calorífico utilizando una bomba calorimétrica.

El presente trabajo está compuesto por tres secciones, la primera presenta los fundamentos relacionados con el proceso general para la producción de bioetanol. La segunda sección describe la metodología empleada para la hidrólisis ácida, caracterización, fermentación, destilación de la coronilla de piña y la determinación del poder calorífico del bioetanol, así como las técnicas y métodos analíticos utilizados. Finalmente, en la tercera sección se muestran y discuten los resultados obtenidos.

1. FUNDAMENTOS

La incorporación de fuentes renovables para producir combustibles, productos químicos y energía incluye la sostenibilidad, la reducción de gases de efecto invernadero y la creación de más puestos de trabajo en la fabricación fomentando el avance de los sistemas regionales y sociales mediante la implementación el aprovechamiento integral de la biomasa disponible, por su bajo costo y alta disponibilidad.

Bautista *et al.*, en el año 2021 concluye en base al marco legal en materia energética para México se tiene la posibilidad de energías renovables y diversificación del complejo energético. De acuerdo con lo establecido en la Ley General de Cambio Climático, existe el compromiso de reducir las emisiones de CO₂ hasta en un 50 % para el año 2050. La Ley para el Aprovechamiento de Energías Renovables y la Financiación de la Transición Energética ordena dentro de su régimen transitorio, la reducción del consumo de energía basada en fuentes fósiles para México a un máximo de 65 % para el año 2024, 60 % para el año 2035 y 50 % para el año 2050 Sin embargo, para explotar de manera óptima todo su potencial de manera sostenible, se deben involucrar investigadores, gobierno, universidades, inversionistas y sociedad.

En trabajos recientes se han estudiado residuos agrícolas del Estado de México de los cuales se destaca la coronilla de piña donde se evalúa la producción de azúcares reductores por hidrólisis ácida con H₂SO₄ y H₃PO₄, donde dicho material ha mostrado un alto potencial como materia prima en la obtención de biocombustibles, también se estudió la caracterización de los residuos antes y después de un proceso de hidrólisis ácida. La hidrólisis ácida ha sido uno de los tratamientos químicos más empleados debido a que puede utilizarse como un método de pretratamiento que antecede a la hidrólisis enzimática o como un medio para producir azúcares monoméricos a partir de una hidrólisis directa (Gutiérrez *et al.*, 2022).

En el estudio realizado por Salafia *et al.* (2022) se investigó el proceso de fermentación de azúcares solubles e insolubles de la pared celular. Además, se estudió el medio de fermentación para determinar proteínas, humedad, cenizas, lignina y glicerol con un enfoque en el aumento de la proteína de una sola célula debido al crecimiento de la levadura, lo que permite una valorización total del medio de fermentación resultante, sin el aumento de generación de residuos, con respecto a sostenibilidad del medio ambiente. Los azúcares solubles e insolubles en el material de partida fueron 32.12 % y 26.33 % respectivamente. Los principales azúcares insolubles resultantes de la hidrólisis de la pared celular detectada en el inicio de la fermentación fueron glucosa,

xilosa y ácido urónico. La glucosa y la manosa fueron los azúcares más predominantes en la fracción de azúcares solubles. El rendimiento teórico de etanol, calculado según pérdida de materia seca, llegó hasta el 85 % (3.9 % etanol).

En la revisión del trabajo por Ghazanfar *et al.*, (2022), el pretratamiento es necesario para utilizar adecuadamente las vainas de semillas para la producción de bioetanol a través de la fermentación utilizando la levadura *Saccharomyces cerevisiae* donde se visualizaron dos enfoques de fermentación diferentes, es decir, hidrólisis y fermentación separadas (SHF) y sacarificación y fermentación simultáneas (SSF). Los resultados del estudio muestran que la sacarificación máxima (58.6 % después de 24 h) y la cantidad de etanol más alto (57.34 g/L después de 96 h) con el sustrato tratado con vapor de hidróxido de potasio (KOH) en SSF. Este último donde el sustrato es tratado con vapor de KOH se optimizó aún más para los parámetros físicos y nutricionales mediante el diseño compuesto central (CCD).

En el año 2020 Llenque-Díaz *et al.*, en la investigación que tuvo como objetivo evaluar la producción de bioetanol a partir de cáscaras de cáscara de mandarina (*Citrus reticulata*), cascara de maracuyá (*Passiflora edulis*) y hojas de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) donde se fermentó con *Saccharomyces cerevisiae* MIT-L51 a temperatura ambiente (23-25 °C) durante 7 días en reposo. Se destiló a 78 °C por 3 h, y los rendimientos promedios fueron de 3.8 ± 0.2 % (v/v) (mL de bioetanol obtenido/100 mL de fermentado) para cáscaras de mandarina, 4.2 ± 0.1 % (v/v), para las cáscaras de maracuyá y 4.7 ± 0.1 % (v/v) de hojas de eucalipto, con un grado alcohólico del 80 % (volumen). Por lo tanto, se concluyó que los residuos vegetales evaluados pueden ser utilizados para la producción a gran escala teniendo como referencia las condiciones de ensayo.

En un estudio realizado por Gómora-Hernández *et al.*, (2020) se evaluó la cinética y termodinámica de la hidrólisis de la mazorca de maíz en ácido fosfórico diluido, obteniendo por primera vez diferentes concentraciones de ácido, temperaturas y tiempos de reacción. Los azúcares eran obtenidos principalmente de la degradación de hemicelulosa y celulosa. Los hidrolizados se pueden utilizar sin ningún tratamiento para la producción de biogás por fermentación oscura. Los ácidos usados para llevar a cabo la hidrólisis ácida incluyen sulfúrico, nítrico, acético, fluorhídrico, clorhídrico y ácidos fosfóricos. Entre estos, el ácido fosfórico tiene algunas ventajas tales como baja toxicidad y corrosividad, mínima formación de inhibidores y bajos costos operativos y de construcción del reactor (Lenihan *et al.*, 2010). Los residuos de fosfato se utilizan como

suplementos nutricionales, fertilizantes y trazas elementos en medio de cultivo bacteriano.

En la investigación realizada por Malik *et al.*, (2020) se desarrolló el estudio para mejorar la efectividad de dos pretratamientos químicos diferentes, alcalino y ácido, antes de la hidrólisis enzimática del tallo de algodón y el proceso de fermentación con la levadura *S. Cerevisiae* para la producción de etanol. Los pretratamientos alcalinos utilizaron peróxido de hidrógeno alcalino (AHP) e hidróxido de sodio (NaOH), mientras que los pretratamientos ácidos utilizaron ácido sulfúrico (H_2SO_4) y ácido fosfórico (H_3PO_4) en concentraciones de 1.0 %, 3.0 %, 5.0 % y 7.0 %. La producción máxima de etanol en la muestra de pretratamiento de H_3PO_4 al 5.0 % se mantuvo en 3.429 g/L. El pH inicial para la fermentación se fijó en 5.0, ya que se informa que es el mejor pH para mejores resultados. Los análisis de microscopía electrónica de barrido y transformada de Fourier de infrarrojos de la biomasa mostraron grandes alteraciones estructurales en la pretratada en comparación con la biomasa no tratada.

En la Universidad Iberoamericana de Puebla se realizaron trabajos para obtener bioetanol a partir de la fermentación anaerobia de residuos de cáscara y pulpa de piña (*Ananas comosus*) utilizando la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. La fuente de azúcares para la fermentación se obtuvo de dos vías: la primera consistió en una mezcla de jugo de piña y agua; mientras que la segunda estuvo comprendida de cáscara y pulpa de piña, mezclados con agua. El producto de la fermentación fue destilado mediante destilación Kjeldahl, seguido de una destilación convencional a 80 kPa y 80 °C. El destilado recuperado se sometió a un ensayo a la llama para comprobar su inflamabilidad y la presencia de etanol. El balance de materia mostró un rendimiento de 4.34 % de bioetanol en masa frente a la entrada de materia prima utilizando la mezcla de jugo de piña y agua (Pardo *et al.*, 2018).

Niwaswong *et al.* en el año 2014 realizaron una investigación para la obtención de bioetanol, utilizando como sustrato para la fermentación la cascara de piña que fue sometida a un proceso de hidrólisis con una solución de ácido sulfúrico 0.2 M. Los resultados demuestran que mediante una prueba de caracterización por FTIR al residuo del sustrato hidrolizado, se logró remover a la lignina y hemicelulosa. El porcentaje de celulosa cuantificada mediante la prueba TAPPI T203 fue de 20.44 % y la producción máxima de azúcares reductores fue el 82.01 ± 2.30 %. En la etapa de fermentación se obtuvo una producción 65.27 ± 2.45 % de etanol utilizando la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

1.1 Bioenergía

La bioenergía puede contribuir de manera importante a sustituir las fuentes de energía fósil y nuclear sin provocar aumento en las emisiones que producen el cambio climático. Permite la eliminación de buena parte de los desechos orgánicos rurales y urbanos, y es la única fuente energética capaz de sustituir al petróleo en el sector del auto transporte (Hirani *et al.*, 2018). La bioenergía proviene del aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica, que puede transformarse para obtener energía eléctrica, energía calorífica o biocombustibles.

1.2 Origen de los combustibles

La historia de los biocombustibles se inicia a fines del siglo XIX y nace prácticamente con el uso de los hidrocarburos como fuente de energía. La idea de usar aceites vegetales como combustible para motores de combustión interna data de 1895 (Mishra & Goswami, 2018).

Con la crisis del petróleo que se vivió en la década de los setenta disminuyó la oferta, con ello se disparó su precio en forma exorbitante, así como el precio de la gasolina, que se incrementó 100 %. A fines de 1979, a raíz de la crisis de los precios del petróleo, se estableció una mezcla de gasolina y etanol: los biocombustibles se presentaban como una alternativa al alza de los precios del petróleo y al posible agotamiento de los recursos no renovables.

En Brasil la crisis del petróleo también tuvo fuerte repercusión. En este país, en el año de 1975, se desarrolló el proyecto Pro-alcohol, cuyo objetivo era reemplazar el uso de los hidrocarburos. Finalmente, la guerra de Kuwait elevó más todavía los precios de los hidrocarburos, afianzando la idea de nuevas fuentes de energía alternativa (Mishra & Goswami, 2018).

1.3 Biocombustibles y su clasificación

Los biocombustibles son recursos energéticos procesados por el ser humano a partir de materiales, los cuales se les denomina biomasa. Pueden ser líquidos, sólidos o gaseosos, y su finalidad última es liberar la energía contenida en sus componentes químicos mediante una reacción de combustión (Alalwan *et al.*, 2019).

Existen varios tipos de biocombustibles, a los cuales se les clasifica de acuerdo con el insumo o materia prima y a la tecnología empleada para producirlos. Debido a los avances en la tecnología, esta clasificación se realiza por generaciones.

1.3.1 Primera generación

La producción de biocombustibles de primera generación utiliza materias primas alimentarias las cuales tienen un alto contenido de almidón (por ejemplo, maíz, trigo, cebada, yuca, patata), azúcares (por ejemplo, caña de azúcar, remolacha azucarera y sorgo dulce) y aceites (por ejemplo, aceite de semilla de girasol, aceite de soya, aceite de palma, aceite de ricino) (Robak & Balcerek., 2018). La producción a gran escala de este tipo de biocombustible ha generado una gran preocupación sobre el impacto socioeconómico y ambiental ya pone en riesgo la seguridad alimentaria.

1.3.2 Segunda generación

El bioetanol de segunda generación se produce normalmente a partir de biomasa lignocelulósica, como residuos agrícolas y forestales (bagazo de caña de azúcar, rastrojo de maíz, paja de trigo, aserrín, entre otros) (Hirani *et al.*, 2018). Esta biomasa suele ser relativamente barata y fácil de obtener. La lignocelulosa se considera una fuente de carbono renovable y sostenible y se encuentra en muchas materias primas vegetales. La cantidad de biomasa lignocelulósica disponible depende de las condiciones climáticas (Robak & Balcerek., 2018).

1.3.3 Tercera generación

La exploración continua de materias primas para la producción de biocombustibles llevó al descubrimiento del uso potencial de micro y macroalgas para la producción de biocombustible de tercera generación (Mat Aron *et al.*, 2020). Estos procesos de obtención de biocombustibles se encuentran en fase de desarrollo, sin embargo, se ha logrado producir biodiesel y etanol a nivel planta piloto y se considera una fuente potencialmente sostenible en escenarios futuros (Alalwan *et al.*, 2019).

1.3.4 Cuarta generación

Los biocombustibles de cuarta generación proceden de microalgas genéticamente modificadas. Estos microorganismos están modificados genéticamente para aumentar la ingesta de CO₂ durante la fotosíntesis, creando un descenso de carbono artificial y mejorando la producción de biocombustibles (Mat Aron *et al.*, 2020).

1.4 Bioetanol

El bioetanol es producido a partir de biomasa, la cual se considera una fuente de energía renovable y sostenible en el contexto de la economía circular. Además, el bioetanol es un biocombustible que tiene un contenido energético similar al de la gasolina, pero emite menos contaminantes tóxicos en comparación con los combustibles fósiles (Karimi *et al.*, 2021). El proceso de producción de bioetanol depende principalmente de el sustrato o materia prima utilizada. El bioetanol de segunda generación se produce a partir biomasa lignocelulósica siendo este un recurso disponible, económico y en algunas ocasiones considerado material de desecho. El uso de la biomasa como materia prima en la producción de bioetanol resuelve el problema de la seguridad alimentaria que se desarrolla debido al uso de cultivos alimentarios (trigo, maíz, caña de azúcar, etc.) en biocombustibles de primera generación (Clauser *et al.*, 2021).

1.5 Biomasa lignocelulósica

La biomasa es materia orgánica que puede utilizarse como una fuente de energía renovable proveniente de diferentes formas. Incluye cultivos agrícolas, residuos de cultivos, madera, residuos animales, grasa animal, residuos municipales, plantas acuáticas, hongos, entre otros. La lignocelulosa (celulosa, hemicelulosa y lignina) es el principal y más abundante componente de la biomasa producida por la fotosíntesis (Figura 1.1). El contenido habitual de celulosa, hemicelulosa y lignina en la biomasa es del 30-50 %, 15-35 % y 10-20 %, respectivamente (Manmai *et al.*, 2021).

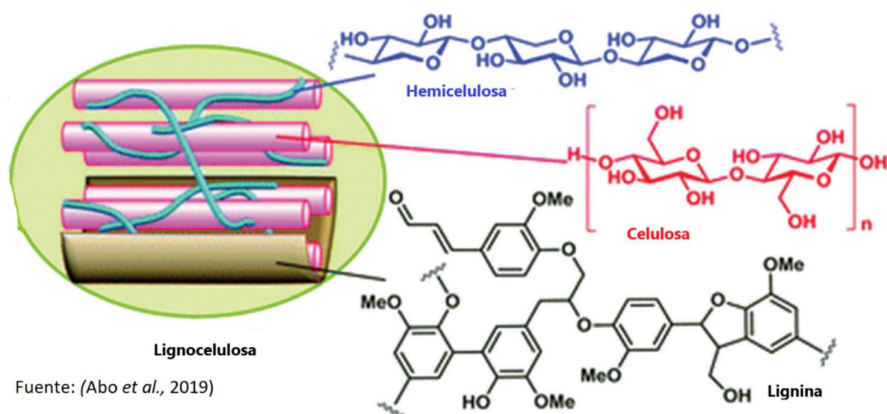


Figura 1.1 Estructura de la biomasa lignocelulósica

1.5.1 Celulosa

La celulosa es un polímero de unidades de glucosa que se unen entre sí mediante enlaces β -1,4 glucosídicos de manera lineal. Las cadenas de celulosa se encuentran estabilizadas mediante puentes de hidrógeno que forman fibrillas de celulosa que crean un fuerte soporte para las plantas (Baruah *et al.*, 2018) que por su tamaño se denominan micro y macrofilamentos. La estructura polimérica de la celulosa contiene ambas regiones: cristalina y amorfa. La parte cristalina presenta un orden en sus moléculas que supone una restricción a su degradación para la liberación de azúcares, mientras que la parte amorfa no está bien organizada ni es fácilmente accesible para la liberación de azúcares (Devi *et al.*, 2021).

1.5.2 Hemicelulosa

La hemicelulosa es una segunda estructura más importante en la lignocelulosa que involucra cadenas cortas de polisacáridos diferentes, como xilosa, manosa, arabinosa y glucosa (Manmai *et al.*, 2021). El xilano, homopolímero formado por xilosa, es el constituyente principal de las hemicelulosas. En comparación con la celulosa, las hemicelulosas presentan cadenas amorfas más pequeñas, lo que facilita su hidrólisis. De hecho, las hemicelulosas son solubles en agua y pueden extraerse de la pared de las células vegetales mediante soluciones ácidas (Abo *et al.*, 2019).

1.5.3 Lignina

La lignina es un heteropolímero de compuestos fenólicos aromáticos, principalmente unidades de fenilpropano unidas de forma no lineal formando una estructura rígida. La estructura de la lignina no se descompone fácilmente, por lo que, para acceder a la celulosa y la hemicelulosa en busca de productos valiosos, se requiere la despolimerización de la lignina (Devi *et al.*, 2021). La lignina es amorfa, hidrofóbica, termoplástica, no hidrolizable por ácidos y presenta propiedades mecánicas inferiores a la celulosa (Kalia *et al.*, 2011).

1.6 Piña

La *Ananas comosus* o mejor conocida como piña es una fruta con una producción promedio en la última década de 741 mil toneladas, México se afianza en el “Top Ten” de máximos productores de piña a nivel mundial (Gutiérrez *et al.*, 2022).

Los principales estados productores de piña en México son Veracruz, con una participación del 64.9 % del volumen nacional; Oaxaca, 12.8 %; Tabasco, 6.2 %;

Quintana Roo, 4.6 % y Jalisco, 2.8 %. En el estado de México el 100 % de su producción se encuentra en el municipio de Amatepec con 141.6 toneladas en el 2022 (SIAP, 2022) de la cual se generan residuos de gran porcentaje ya que una gran parte de la fruta es la cáscara y la coronilla, los cuales han sido tratados como basura sin obtener algún tipo de aprovechamiento o beneficio de ello, incluso, los residuos pueden contribuir a la contaminación del medio ambiente.

1.6.1 Biomasa lignocelulósica de la piña y otras fuentes

Diversas investigaciones han documentado la presencia de celulosa, hemicelulosa y lignina en distintos residuos (Sun & Cheng, 2002), la Tabla 1.1 muestra la composición de distintos residuos agroindustriales incluidos los residuos de la piña.

Tabla 1.1 Composición de residuos agroindustriales

Material lignocelulósico	Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)	Lignina (%)
Tallos de maderas duras	40-55	24-40	18-25
Tallos de maderas blandas	45-50	25-35	25-35
Papel	86-90	0	0-15
Paja de trigo	30	50	15
Césped	45	31.4	12
Piña (Corona)	45.53 ± 1.17	21.88 ± 0.22	13.88 ± 1.70
Piña (Cáscara)	40.55 ± 1.02	28.69 ± 0.35	10.01 ± 0.38
Piña (Corazón)	24.53 ± 1.68	28.53 ± 1.37	5.78 ± 0.429
Piña (Rastrojo)	32.2	21	2.83

Los residuos de piña (cáscara y corona) se consideran materiales lignocelulósicos que pueden utilizarse en la producción de bioetanol de segunda generación, en base a investigaciones realizadas es posible obtener azúcares reductores a partir un proceso de hidrólisis ácida usando ácido sulfúrico o ácido fosfórico y ser usados para la fermentación (Salafia *et al.*, 2022).

1.7 Hidrólisis

La producción de bioetanol requiere de una etapa de hidrólisis, cuyo objetivo es la despolimerización de la celulosa y la hemicelulosa en azúcares fermentables.

1.7.1 Hidrólisis alcalina

La hidrólisis alcalina es la adición de hidróxidos de potasio, sodio, amonio y calcio al tratamiento de la biomasa. Durante la reacción se produce la ruptura de los enlaces ésteres intermoleculares (éster, aril-éter, alquil-aril), es decir, el complejo de lignina-carbohidrato, mediante reacciones de saponificación y también se produce la posterior eliminación de los grupos acetilo y ácido urónico en la hemicelulosa (Mankar *et al.*, 2021). Con lo anterior se mejora la accesibilidad de las enzimas a la fracción de celulosa, ayudando así en la fermentación de azúcares para la producción de etanol.

Las principales ventajas de este tratamiento son su alta eficiencia para solubilizar la lignina, la baja corrosión y toxicidad de los reactivos utilizados, y la aplicación de esta tecnología en condiciones ambientales (Kim *et al.*, 2016).

1.7.2 Hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática es un método atractivo para la producción sostenible de etanol celulósico. Considerando la compleja red lignina-celulosa-hemicelulosa de la biomasa lignocelulósica, la hidrólisis enzimática es un proceso catalizado por enzimas llamadas genéricamente celulasas cuya acción conjunta produce la degradación de la celulosa (Zhang *et al.*, 2021)

Gran cantidad de microorganismos participan en la producción de celulasas y hemicelulasas, y la mayoría son hongos filamentosos, incluidos *Trichoderma spp.* y *Aspergillus spp.*, nativos o genéticamente modificados, es así como estudios han informado que la combinación de enzimas de estos dos microorganismos maximiza la conversión de lignocelulosa en azúcares monosacáridos (Broda *et al.*, 2022).

Si se añaden celulasas al material lignocelulósico la hidrólisis de la celulosa es demasiado lenta, debido a la asociación de esta con la lignina que constituye una barrera física a la penetración de los enzimas. Otros factores como la porosidad (área superficial accesible), la cristalinidad de la celulosa, el grado de polimerización y el contenido en lignina y hemicelulosa dificultan la accesibilidad de las celulasas reduciendo la eficiencia de la hidrólisis. Todos estos factores hacen necesaria una etapa de pretratamiento, previa a la hidrólisis de la celulosa, que altere la estructura del material lignocelulósico facilitando la acción de las enzimas (Aditiya *et al.*, 2016., Zhang *et al.*, 2021).

1.7.3 Hidrólisis ácida

La hidrólisis ácida es un proceso en el cual los polisacáridos como la hemicelulosa y celulosa contenidos en la biomasa se solubilizan mediante el empleo de ácidos en monosacáridos. El ácido es capaz de causar una ruptura entre los enlaces del polisacárido y la lignina, lo que ayuda a la disposición de la mayoría de los azúcares monoméricos (Solarte-Toro *et al.*, 2019). Los ácidos más utilizados son el ácido sulfúrico, acético, clorhídrico, fórmico y el ácido fosfórico (Rezania *et al.*, 2020).

La hidrólisis ácida se puede realizar de dos maneras diferentes: con el uso de ácido diluido (1-3 %) y temperaturas de 180 a 240 °C y con ácido concentrado (20-40 %) a temperaturas relativamente más bajas (50-100 °C). Este último puede lograr un rendimiento de 90 % de recuperación de azúcares, pero requiere un mayor costo de inversión para corregir los problemas causados por la corrosión y la disposición de residuos. Ambos enfoques tienen su propio conjunto de ventajas y desventajas. El tratamiento con ácido diluido tiene un menor consumo de ácido, pero la energía necesaria para todo el proceso es mayor debido a las temperaturas más altas. Por otro lado, el uso de ácido concentrado reduce el consumo de energía debido a la menor temperatura de reacción, pero requiere un mayor costo de inversión para corregir los problemas causados por la corrosión y la disposición de residuos (Solarte-Toro *et al.*, 2019 y Zhou *et al.*, 2021).

Durante la hidrólisis ácida no sólo se obtienen los azúcares fermentables (o reductores), sino que, debido a las condiciones en las que se desarrolla, también se originan una serie de compuestos llamados inhibidores.

a) Azúcares reductores

La hidrólisis de la biomasa lignocelulósica tiene como objetivo la obtención de azúcares fermentables provenientes del complejo formado por celulosa y hemicelulosa el cual a su vez está rodeado con lignina (Mamaní *et al.*, 2022). El componente principal de la celulosa es la glucosa y de la hemicelulosa es la xilosa. Tanto la glucosa como la xilosa son monosacáridos capaces de formar estructuras cíclicas y fácilmente fermentables por algunos microorganismos (Lenihan *et al.*, 2010). Estos azúcares funcionan como agentes reductores; esto es, que pueden donar electrones a otra molécula con la que reaccionan. En otras palabras, un azúcar reductor es un carbohidrato que contiene un grupo carbonilo (C=O) en su estructura (glucosa, xilosa y arabinosa) (Deshavath *et al.*, 2020).

b) Inhibidores

La hemicelulosa y la celulosa se descomponen mediante hidrólisis ácida y se obtienen azúcares solubles. En general, la hidrólisis de la hemicelulosa produce azúcares (glucosa, xilosa, manosa y galactosa) y ácidos orgánicos (ácido fórmico, acético). La xilosa es una pentosa, que puede deshidratarse aún más hasta formar furfural (Deshavath *et al.*, 2020). A diferencia de la hemicelulosa, la celulosa tiene una mayor estabilidad debido a un alto grado de polimerización, su cristalinidad y la presencia de enlaces de hidrógeno. En condiciones ácidas, la celulosa se puede hidrolizar a glucosa y luego la glucosa se puede transformar posteriormente en 5-hidroximetilfurfural (HMF). Durante la hidrólisis ácida, sólo se eliminan pequeñas cantidades de lignina en forma de fragmentos solubles. La lignina es un polímero aromático complejo con una estructura muy aleatoria. Este compuesto se degrada principalmente en fenoles (Świątek *et al.*, 2020., Zhou *et al.*, 2021).

1.8 Fermentación

En el área industrial proceso de fermentación, se puede definir como la intervención de microorganismos en la obtención de productos valiosos. Los microorganismos pueden producir compuestos complejos que son difíciles y costosos de obtener mediante síntesis química (Chai *et al.*, 2022). Desde un punto de vista estrictamente bioquímico, la fermentación es un proceso de metabolismo central en el que un organismo convierte un carbohidrato, como el almidón o el azúcar, en un alcohol o un ácido (Maicas, 2020).

Existen diferentes tipos de fermentaciones como: alcohólica, láctica y acética.

1.8.1 Fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica es un proceso en condiciones anaeróbicas (ausencia de oxígeno) originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono (de forma general, los azúcares) para transformarlos en etanol. En la Figura 1.2 se muestra la reacción que se lleva a cabo en dicho proceso, donde ocurre lo siguiente: la molécula de glucosa, mediante la glucólisis, se transforma en dos moléculas de ácido pirúvico, este sufre una descarboxilación, liberando CO₂ y transformándose en acetaldehído, el NADH cede sus electrones al acetaldehído producido anteriormente para formar el etanol (H₃C-CH₂-OH) y regresa el NAD⁺ a la glucólisis y en consecuencia el suministro de piruvato.

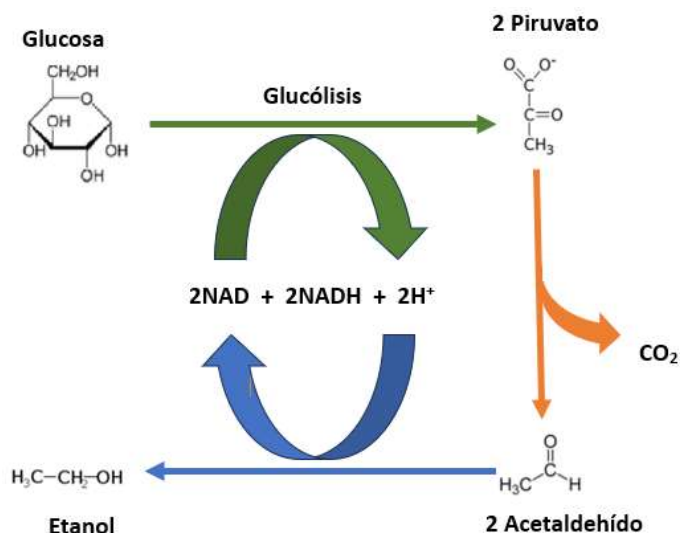


Figura 1.2 Reacción química en la fermentación alcohólica

La producción de etanol depende principalmente de la concentración de glucosa (el rendimiento teórico de alcohol es de aproximadamente 0.511 g de etanol por gramo de glucosa), pero la suplementación con nutrientes también es un parámetro importante que se debe considerar, ya que una cantidad adecuada de nutrientes como potasio, azufre, nitrógeno y algunos minerales, que a menudo son pobres o ausentes en los desechos agrícolas pueden mejorar significativamente el rendimiento de la producción de etanol (Salafia *et al.*, 2022).

Existe una gran cantidad de bacterias y levaduras que son capaces de fermentar azúcares los cuales son necesarios para su metabolismo y reproducción. La producción actual de etanol es mediante el uso de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la bacteria *Zymomonas mobilis* (Hatami-Manesh *et al.*, 2020., Malik *et al.*, 2020).

1.8.2 Levaduras

Las levaduras son microorganismos eucariotas que viven principalmente en el agua, el suelo, el aire y en las superficies de plantas y frutos. Quizás el hábitat más interesante en este punto sean estos últimos, ya que intervienen directamente en la descomposición del fruto maduro y participan en el proceso de fermentación. En este entorno natural, las levaduras pueden realizar su metabolismo y actividad fermentativa satisfactoriamente al disponer de los nutrientes y sustratos necesarios. A nivel nutricional, su crecimiento se apoya en la existencia de compuestos básicos como azúcares fermentables, aminoácidos, vitaminas, minerales y también oxígeno (Maicas, 2020).

1.8.2.1 Levadura *Saccharomyces cerevisiae*

La *Saccharomyces Cerevisiae* es una especie ampliamente utilizada y estudiada para la producción de bioetanol por ser robusta y apta para la fermentación de glucosa procedente de la hidrólisis de la biomasa lignocelulósica (Edeh, 2021). La utilidad biotecnológica de *S. cerevisiae* reside en sus características biológicas únicas, es decir, su capacidad de fermentación, resistencia a condiciones adversas de osmolaridad y pH bajo (valores alrededor de 3.5 o incluso menos), alta tolerancia a la presencia inhibidores (ya sea formados durante los pretratamientos de la materia prima o producidos durante la fermentación) y su capacidad para crecer rápidamente en condiciones anaeróbicas (Parapouli *et al.*, 2020., Maicas, 2020).

1.9 Destilación

La destilación es una etapa importante para la producción de etanol de calidad como combustible a partir de biomasa lignocelulósica. La destilación permite la separación efectiva de una sustancia componente (como el etanol) de una mezcla líquida miscible (como el caldo de fermentación) mediante procesos consecutivos de evaporación y condensación selectiva basados en una diferencia en sus volatilidades (Broda *et al.*, 2022). En la producción de etanol, es el principal medio de separación de etanol de soluciones acuosas.

1.9.1 Azeótropo

EL azeótropo se conoce como una mezcla de punto de ebullición constante. Durante la destilación del etanol el principal obstáculo es la formación de una mezcla azeotrópica de una solución de etanol y agua con una composición de 89.4 % en moles de etanol y 10.6 % en moles de agua a 78.2 °C y presión atmosférica estándar. El etanol hierve a 78.4 °C, el agua hierve a 100 °C, pero el azeótropo hierve a 78.2 °C, que es menor que cualquiera de sus constituyentes (Karimi *et al.*, 2021.; Kumar *et al.*, 2010).

1.9.2 Destilación simple

La destilación simple es la operación mediante la cual separamos una mezcla líquida en sus componentes, mediante un proceso de evaporación seguido de condensación. Se basa en el hecho de que el vapor obtenido al calentar la mezcla es más rico en el componente más volátil (Tejada *et al.*, 2010).

1.9.3 Destilación fraccionada

La destilación fraccionada es una técnica más efectiva para separar el bioetanol obtenido después de la fermentación según lo reporta Sukasem *et al.* (2017) quienes realizaron estudios de eficiencia en la modificación de un destilador artesanal.

La columna de destilación fraccionada proporciona un camino vertical a través del cual el vapor pasa desde el destilador al condensador antes de ser recolectado en el receptor. A medida que el vapor del destilador sube por la columna, una parte se condensa en la columna y regresa al destilador. Si la parte inferior de la columna de destilación se mantiene a una temperatura más alta que la parte superior de la columna, el condensado se revaporizará parcialmente a medida que fluye hacia abajo por la columna. El vapor no condensado, junto con el producido por la revaporización del condensado en la columna, asciende cada vez más en la columna y sufre una serie repetidas de condensaciones y revaporizaciones. Este proceso repetitivo equivale a realizar una serie de destilaciones simples dentro de la columna, donde la fase de vapor producida en cada paso se vuelve cada vez más rica en el componente más volátil; En consecuencia, el condensado que fluye hacia abajo por la columna se enriquece en el componente menos volátil (Gilbert & Martin, 2010).

1.10 Poder calorífico

La calidad de un combustible está representada por la cantidad de energía que contiene y puede liberar cuando se le somete a un proceso de conversión energético, esta cantidad se denomina poder calorífico y es la cantidad de energía (kJ o kcal) que produce la combustión de un kilogramo de este (Shehab *et al.*, 2022). El poder calorífico se puede representar de dos maneras: poder calorífico superior y poder calorífico inferior.

El poder calorífico inferior indica la cantidad de calor que puede proporcionar el combustible cuando toda el agua en los productos permanece como vapor, mientras el superior refleja el calor que puede liberar el combustible cuando toda el agua en los productos condensa (Ayala *et al.*, 2016). La medición del poder calorífico puede realizarse empleando la bomba calorimétrica.

1.10.1 Bomba calorimétrica

La bomba calorimétrica es un dispositivo que se usa para determinar el poder calorífico de un combustible cuando se quema a volumen constante.

Una bomba calorimétrica en un recipiente calorimétrico que contiene una cantidad medida de agua, en el que se sumerge un termómetro para medir la temperatura del agua, un dispositivo agitador para mantener el agua a una temperatura uniforme y, por lo tanto, definida y una "bomba" de volumen constante en la que los materiales combustibles puedan quemarse en oxígeno bajo presión. Para controlar la transferencia de calor entre el calorímetro y su entorno, el recipiente del calorímetro está rodeado por una "camisa" que está separada del recipiente por un espacio de aire de aproximadamente 1 cm de espesor (Jessup, 1960).

2. MÉTODO

En la Figura 2.1 se presenta el diagrama de flujo del método para la producción de bioetanol a partir de azúcares reductores de coronilla de piña.

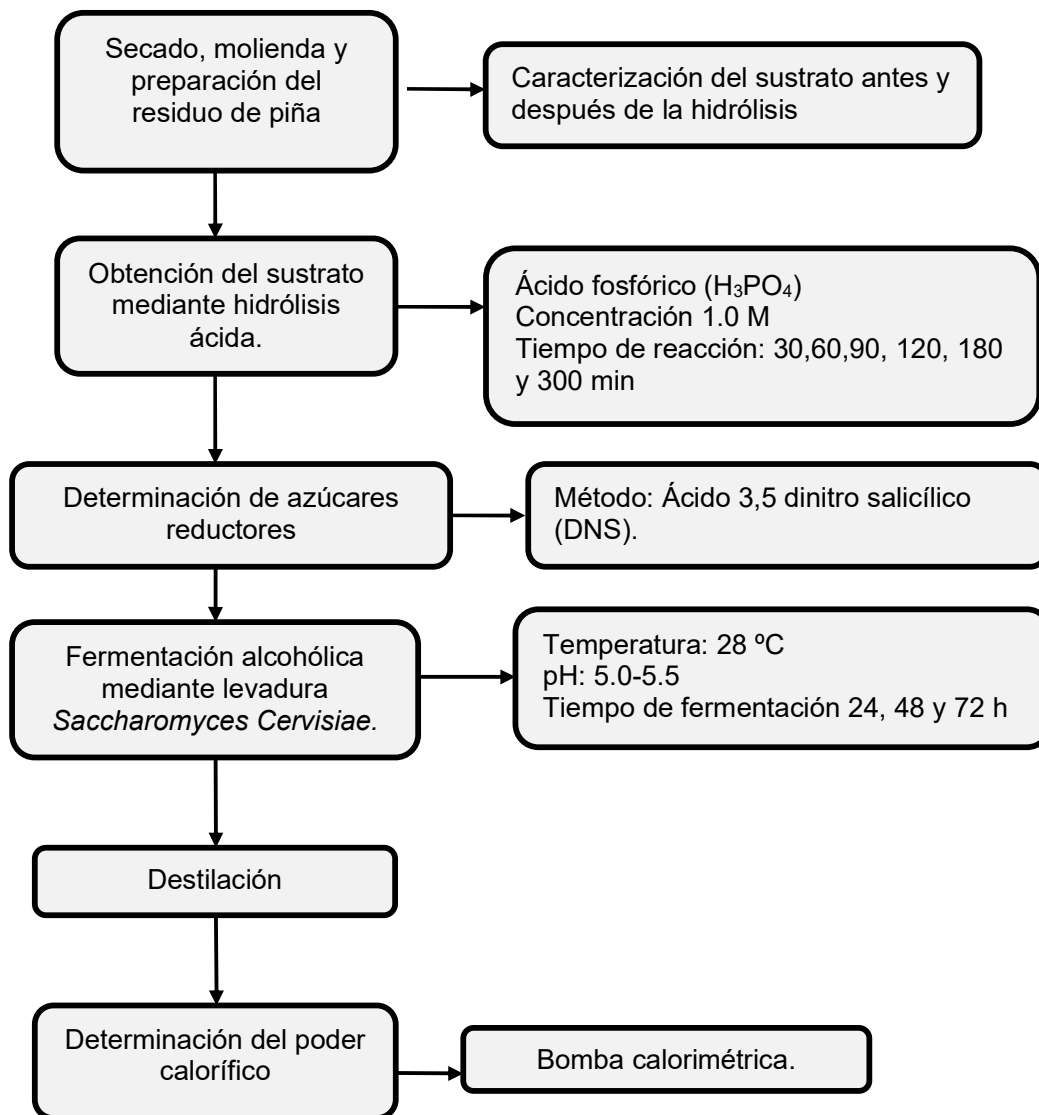


Figura 2.1 Metodología del proceso de producción de bioetanol

2.1 Secado molienda y preparación del residuo de piña

Las coronillas de piña fueron recolectadas y trasladadas al Laboratorio de Investigación en Ingeniería Ambiental (LIIA) del Instituto Tecnológico de Toluca (ITT). Los residuos se lavaron con agua desionizada, se secaron a una temperatura de 50 °C en una estufa de recirculación por 72 h, y se molieron a tamaño de partícula menores a 250 µm.

2.2 Caracterización del sustrato

Se realizó la identificación de los grupos funcionales presentes usando la técnica de FTIR. Por otro lado, se determinó el porcentaje de humedad, celulosa, hemicelulosa y lignina.

2.2.1 Caracterización del sustrato después de la hidrólisis

La fase sólida que se obtuvo después del proceso de hidrólisis ácida con H_3PO_4 1.0 M a 95 °C y 120 min se lavó con agua destilada a 50 °C para remover el exceso de iones atribuidos al ácido, se secó por 24 h a 105 °C y se determinó el porcentaje de celulosa, hemicelulosa y lignina. Así mismo, se evaluaron los cambios en los grupos funcionales usando la técnica de FTIR.

2.2.2 Análisis por FTIR

Las muestras se analizaron en un espectrómetro FTIR marca JASCO FT/IR-4X, con rango de trabajo entre 4000 a 400 cm^{-1} .

2.2.3 Determinación de la humedad

El análisis se realizó de acuerdo con la metodología de la norma Official Methods of Analysis A.O.A.C 934.0684 15th Edition 1990.

En una cápsula de aluminio la cual estaba previamente a peso constante se pesaron 5 g de muestra de la coronilla de piña previamente triturada y homogenizada. La muestra se sometió a calentamiento en una estufa de recirculación a 105 °C durante 4 horas, se enfrió en un desecador por 30 min y se pesó. El procedimiento anterior para la cápsula con la muestra se repitió hasta obtener peso constante.

2.2.4 Preparación para sustrato libre de extractivos

Para realizar las determinaciones de holocelulosa (celulosa y hemicelulosa) y lignina, la coronilla de piña debe estar libre de extractivos, para ello se siguió la metodología de la norma TAPPI 204 cm-97 (TAPPI, 2007).

Se pesaron 3.75 g de coronilla de piña seca en un cartucho de extracción, se colocó en el sistema a reflujo con un aparato Soxhlet, con una mezcla de 100 mL hexano (C_6H_{14}) y 75 mL de etanol (C_2H_6O) haciendo recircular el solvente 3 veces por hora. Luego de 4 horas, la muestra sin extraíbles se trasladó a un crisol de peso conocido, se secó en una estufa a 105 °C, se enfrió en desecador y se pesó. El procedimiento se repitió hasta llegar a peso constante.

2.2.5 Determinación de lignina

La determinación del porcentaje de lignina insoluble en ácido se realizó siguiendo la metodología TAPPI Reaffirmation of T 222 om-02 (TAPPI, 2006).

Se pesaron 500 mg de coronilla de piña seca y libre de extraíbles. La muestra se colocó en un vaso de precipitado, se agregaron en pequeños incrementos 15 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 72 % (v/V) mientras se mezclaba el residuo. Después se cubrió el vaso y se mantuvo en un baño a 20 °C durante 2 h mezclando manualmente cada 20 minutos. Se agregó agua destilada al vaso hasta una concentración del 3 % (v/V) de H_2SO_4 , se mantuvo en reflujo por 4 h. Se filtró la suspensión con papel filtro y se lavó con agua destilada hasta pH neutro, se secó en una estufa a 105 °C hasta registrar peso constante, se enfrió en el desecador y se pesó.

2.2.6 Determinación de holocelulosa

Para la determinación de holocelulosa se realizó siguiendo la metodología descrita en la norma ASTM D1104-56.

Se pesaron 2.5 g de coronilla de piña seca y libre de extractivos. Se agregaron 80 mL de agua destilada a 75 °C, 0.5 mL de ácido acético (CH_3COOH) y 1 g de clorito de sodio ($NaClO_2$). El matraz se mantuvo a 75 °C por 60 minutos, en ese momento se añadieron 0.5 mL adicionales de ácido acético y 1g de clorito de sodio. Lo anterior se repitió en ciclos de 60 minutos por 4 horas. Al final del período de 4 horas, el matraz se sumergió en agua a temperatura ambiente para detener la reacción. La mezcla se filtró usando un matraz de Kitasato y una bomba de vacío; se secó a 105 °C hasta registrar peso constante.

2.2.7 Determinación de celulosa y hemicelulosa

La determinación de celulosa se llevó a cabo siguiendo la metodología de la norma ASTM D1103-55 T.

Se pesó 1 g de holocelulosa obtenida en la prueba anterior, se hizo reaccionar con 25 mL de hidróxido de sodio al 17.5 % (p/V) por 45 minutos, luego se diluyó con 30 mL de agua destilada, se agitó y se dejó reposar. La suspensión de fibra se filtró al vacío, lavando con hidróxido de sodio al 17.5 % y agua destilada. Se agregaron 15 mL de ácido acético al 10 % durante 5 min mientras se continuaba aplicando vacío, la α -celulosa neutralizada se lavó con agua destilada. La muestra obtenida se secó a 105 °C por 4 horas, se transfirió a un desecador por 30 minutos y se pesó. El peso final es la α -celulosa.

La cantidad de hemicelulosa se determinó con la diferencia entre la holocelulosa y celulosa.

2.3 Obtención del sustrato mediante hidrólisis ácida

Se examinaron los efectos del tiempo de reacción. La hidrólisis ácida se realizó con H_3PO_4 con una concentración 1.0 M a una temperatura de 95 °C durante 30, 60, 90, 120, 180 y 300 min como tiempo de reacción.

La muestra se preparó mezclando 20 g de residuo de piña con 300 mL de H_3PO_4 1.0 en matraces bola de fondo plano colocándolos en un sistema a reflujo y se dejaron reaccionar. Al término de la hidrólisis el sistema se dejó enfriar a temperatura ambiente, las fases se separaron mediante filtración, en la fase líquida (hidrolizado) se determinó el contenido de azúcares reductores y productos inhibidores.

2.4 Determinación de azúcares reductores

Se cuantificó la cantidad de azúcares reductores usando el método ácido 3-5 dinitro salicílico descrito por Burgos (2019) el cual se basa en la reducción del ácido 3-5 dinitro salicílico por los azúcares cíclicos que poseen un grupo carbonilo en su estructura (azúcar reductor) al ácido 3-amino 5-nitrosalicílico, cuya presencia puede detectarse a una longitud de onda de 540 nm.

2.4.1 Preparación del reactivo DNS

El reactivo DNS se preparó agregando 30 g de tartrato de sodio y potasio tetrahidratado ($KNaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$) en una solución de 2 M de NaOH, posteriormente se agregó 1 g de ácido dinitro salicílico ($C_7H_4N_2O_7$), se aforó con agua destilada hasta un volumen final de 100 mL y se almacenó en ausencia de luz.

2.4.2 Preparación de la curva de calibración de azúcares reductores

La curva de calibración para azúcares reductores se construyó mediante el método de DNS a una absorbancia de 540 nm. Este método fue usado para evaluar las concentraciones de azúcares reductores de los diferentes tratamientos.

En un matraz volumétrico se preparó 50 mL de una solución patrón de glucosa 2 g/L. Se realizaron diferentes diluciones para obtener las siguientes concentraciones 0, 0.5, 0.7, 1.0, 1.5 y 1.7 g/L. Se añadieron 500 µL de cada solución y 500 µL del reactivo DNS en tubos tapa rosca cubiertos con papel aluminio para proteger la reacción de la luz. Los tubos se colocaron en un baño maría 92 °C por cinco minutos. Se detuvo la reacción en un baño de hielo por cinco minutos más y se agregaron 5 mL de agua destilada a cada tubo, se agitó y se realizó la lectura de la absorbancia a 540 nm en el espectrofotómetro Thermo Spectronic Helios Gamma 9423 UVG 1000. Se realizó una regresión lineal a la curva de calibración.

2.4.3 Cuantificación de azúcares reductores en la muestra

La cuantificación en la muestra se realizó por triplicado, se tomaron 500 µL del hidrolizado obtenido según los tiempos de reacción y se mezclaron en un tubo de vidrio con 500 µL de reactivo DNS. Los tubos se colocaron en baño maría a 92 °C durante 5 minutos, después se colocaron en un baño de hielo por 5 minutos para detener la reacción, se diluyeron con 5 mL de agua destilada, se agitó y se realizó la lectura de la absorbancia a 540 nm en el espectrofotómetro UV-VIS.

De la curva de calibración obtenida, se despejó la variable concentración en función de la absorbancia medida, y se reemplazaron los datos obtenidos.

2.5 Determinación de productos inhibidores en la muestra hidrolizada

2.5.1 Determinación de furfural

La preparación de la curva de calibración de furfural, se realizó a partir de una solución madre de 0.1 g/L de furfural grado reactivo en agua, después se tomaron las alícuotas correspondientes para obtener las siguientes concentraciones: 2, 4, 6, 8, 10, y 12 mg/L. La determinación de furfural en la muestra se realizó por triplicado, se tomaron 200 µL de los hidrolizados a los diferentes tiempos de reacción y se diluyeron con agua destilada hasta tener un volumen de 10 mL.

Las soluciones para la curva de calibración y las muestras se leyeron en el espectrofotómetro Thermo Spectronic Helios Gamma 9423 UVG 1000 a una longitud de onda de 277 nm.

2.5.2 Determinación de HMF

La preparación de la curva de calibración de HMF, se realizó a partir de una solución madre de 0.1 g/L de HMF grado patrón en agua, después se tomaron las alícuotas correspondientes para obtener las siguientes concentraciones: 2, 4, 6, 8, 10, y 12 mg/L.

La preparación de las muestras previa a la determinación de HMF se llevó a cabo tal y como se describe en el apartado anterior. Las soluciones para la curva de calibración y las muestras se leyeron en el espectrofotómetro Thermo Spectronic Helios Gamma 9423 UVG 1000 a una longitud de onda de 284 nm.

2.7 Fermentación alcohólica

Después de la hidrólisis a los diferentes tiempos de reacción (30, 60, 90, 120, 180 y 300 min), a la fase líquida (hidrolizado) se le ajustó el pH a 5.0 a 5.5 con solución de NaOH al 40 % (p/V) con ayuda de un potenciómetro. Luego se inoculó 0.2 % p/V de levadura *S. Cerevisiae* con 25 mL de hidrolizado y se incubó por 1 hora a 28 °C.

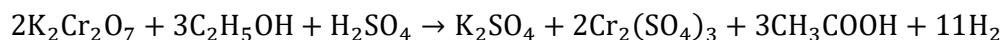
La fermentación alcohólica de acuerdo con lo reportado por Melgarejo & Urquiza., (2019), se realizó en matraces erlenmeyer de 250 mL con un volumen de trabajo aproximado de 100 mL en condiciones anaerobias a 28 °C, por un tiempo de 24, 48 y 72 horas y se agitó periódicamente de manera manual. Los nutrientes utilizados se muestran en la tabla 2.1.

Tabla 2.1 Componentes para el medio de fermentación

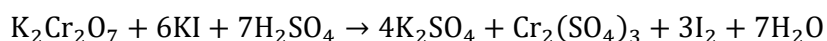
Componente	Concentración g/L
Sulfato de amonio	0.96
Extracto de levadura	6.5
Sulfato de magnesio	0.5
Mezcla hidrolizada	3.15 – 3.75

2.8 Determinación de la concentración de bioetanol por valoración redox

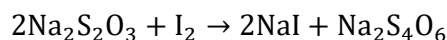
La cuantificación del bioetanol se realizó de acuerdo con la metodología reportada por Mengana-Trujillo *et al.* (2022). En un matraz Erlenmeyer, se preparó una mezcla de 25 mL de dicromato de potasio 1 mol/L y 10 mL de ácido sulfúrico concentrado, a la mezcla anterior se agregó 10 mL de la solución muestra y se dejó en reposo por 30 minutos donde ocurrió la siguiente reacción:



Transcurrido el tiempo se añadieron 10 mL de solución de yoduro de potasio al 10 %.



Se valoró de inmediato con solución de tiosulfato de sodio 0.1 N previamente estandarizada, utilizando 0.5 mL de solución indicadora de almidón.



Al mismo tiempo se preparó un blanco siguiendo el proceso anterior, utilizando agua en lugar de la solución muestra.

2.9 Destilación

El fermentado obtenido a partir del hidrolizado con la mayor concentración de azúcares reductores (tiempo de reacción 120 min) y tiempo de fermentación de 72 horas se sometió a un proceso separación por 5 horas (Sukasem *et al.*, 2017) mediante una destilación fraccionada con ayuda de una columna de Vigreux, con el objetivo de separar el bioetanol.

2.10 Determinación del poder calorífico

La determinación del poder calorífico se llevó a cabo siguiendo la metodología de la norma ASTM D240-19.

Con ayuda de la bomba calorimétrica se determinó poder calorífico al bioetanol. Se pesó 1 g de muestra se colocó en la capsula, se cortó una sección de alambre de ignición de 10 cm y se pesó en la balanza analítica se colocó en los electrodos de la bomba calorimétrica. Se presurizó el sistema con oxígeno a 20 atm. La bomba se introdujo en el recipiente con agua. Se conectaron los electrodos en la tapa de la bomba y estos a su vez al control de ignición, de acuerdo con la longitud del alambre de ignición

que fue montado previamente. Posteriormente se colocó la bomba dentro de la camisa adiabática. Se introdujo el termómetro. Se encendió el motor del agitador y se registraron las temperaturas cada 20 segundos hasta que se estabilizó. Se pulso el botón de inicio en el control de ignición y registraron los cambios de temperatura en periodos de 15 segundos hasta que se apreció nuevamente una estabilidad térmica.

3. RESULTADOS

3.1 Caracterización del sustrato

A continuación, se muestran los resultados de la caracterización de la coronilla de piña sin hidrolizar.

En la Tabla 3.1 se observa que la muestra de la coronilla de piña antes de la hidrólisis tiene el 6.06 % de extraíbles lo que corresponde principalmente a proteínas, vitaminas, lípidos, minerales, clorofila entre otros.

Los compuestos de mayor interés para la hidrólisis ácida corresponden a la lignina y a la holocelulosa (celulosa y hemicelulosa), de acuerdo a los resultados en la caracterización se obtuvo un total de 18.41 % para la lignina siendo similar al reportado por Gutiérrez *et al.*, (2022) (17.85 %) y menor a lo reportado por Mansor *et al.*, (2019) (22 %) lo cual indica que la coronilla de piña presenta un soporte estructural en la pared celular que le otorga rigidez y permeabilidad al agua ofreciendo una estabilidad a la degradación, la holocelulosa que conforma la coronilla de piña corresponde a un 43.63 % de celulosa y 27.10 % de hemicelulosa valores similares a los reportados por Banerjee *et al.*, (2017).

Tabla 3.1 Composición química de la coronilla de piña antes de la hidrólisis

Composición	%
Humedad	6.06 ± 0.13
Extractivos	5.27 ± 0.10
Celulosa	43.63 ± 0.28
Hemicelulosa	27.10 ± 0.68
Lignina	18.41 ± 0.43

Las diferencias en los porcentajes de celulosa, hemicelulosa y lignina se pueden atribuir a la clase, el tipo de especie de piña sembrada y el método utilizado para la determinación de la composición.

3.2 Caracterización del sustrato después de la hidrólisis

Se realizó un análisis de la composición de holocelulosa (hemicelulosa y celulosa) y lignina (Tabla 3.2) en la coronilla de piña después de la hidrólisis ácida (H_3PO_4 1.0 M a 95 °C y un tiempo de reacción de 120 min donde se obtuvo la mayor producción de azúcares reductores). Se puede observar que una proporción de la hemicelulosa y

celulosa fue solubilizada, lo cual se puede atribuir a la producción de azúcares reductores como pentosas y hexosas respectivamente (Zborowska *et al.*, 2021). También se puede observar el aumento de la fracción de lignina lo cual se puede atribuir a la designificación del sustrato.

Tabla 3.2 Composición química de la coronilla de piña después de la hidrólisis

Composición	%
Humedad	5.81 ± 0.11
Extractivos	6.81 ± 0.16
Celulosa	41.19 ± 0.20
Hemicelulosa	23.54 ± 0.71
Lignina	22.84 ± 0.64

3.3 Análisis por FTIR

En la Tabla 3.3 se muestra los números de onda de los principales picos presentes en los espectros de FTIR en la coronilla de piña.

Tabla 3.3 Picos principales de los espectros FTIR en la coronilla de piña

Numero de onda (cm-1)	Tipo de vibración		Compuesto
896	Glucosídico β1-4	Flexión C=H	Celulosa
1040, 1105, 1164	C-O, C-H	Estiramiento de C-O/Flexión en plano	Celulosa
1381	C-O-C	Estiramiento asimétrico	Celulosa
1246, 1736	C-O, C=O	Estiramiento C-O y C=O	Hemicelulosa
1427	C-H	Vibración de anillo aromático	Lignina
1512, 1605	Anillo aromático	Vibración de anillos aromáticos	Lignina
	C=O		
2849	C-H2	Estiramiento asimétrico	Lignina y hemicelulosa
2924	C-H	Estiramiento simétrico	Celulosa
3585	-OH	Estiramiento	Agua

De acuerdo con los datos presentados en la tabla 3.3 las vibraciones detectadas en la coronilla de piña corresponden a los característicos en los residuos lignocelulósicos (celulosa, hemicelulosa y lignina). La vibración de flexión en 896 cm⁻¹ (la vibración del anillo de glucosa y enlaces β) evidencian la presencia de celulosa (Gutiérrez *et al.*, 2022).

Las bandas de 1040, 1105 y 1164 cm⁻¹ (vibración de estiramiento y flexión) son representativas de los grupos C-O y C-H de la celulosa, mientras que los enlaces C-H de la porción alifática se observaron a 1427 cm⁻¹ (Gómora-Hernández *et al.*, 2020).

La banda en 1381 cm^{-1} (estiramiento asimétrico C-O-C en anillos) es correspondiente a la celulosa. El pico 1736 cm^{-1} y 1246 cm^{-1} corresponde al estiramiento de grupos carbonilo (C=O) en cetonas no conjugadas, carbonilo y grupos alifáticos presentes principalmente en hemicelulosa (Awoyale & Lokhat, 2021).

El pico en 1605 cm^{-1} (de anillo aromático unido a C=O) y 1512 cm^{-1} (enlaces C=C de anillos aromáticos) corresponden a vibraciones en lignina.

Las vibraciones de estiramiento simétrico (2924 cm^{-1}) y asimétrico (2849 cm^{-1}) corresponden a la celulosa, hemicelulosa y lignina según lo reporta Xu *et al.*, (2013) en el análisis por FTIR de algunos materiales lignocelulósicos. La vibración en 3585 cm^{-1} se asigna a estiramiento del grupo -OH de celulosa intra e intermolecular, agua, y de O-H libres.

Para visualizar los efectos de la hidrólisis ácida sobre las bandas de vibración de la coronilla de piña, se puede observar en la Figura 3.1 que las intensidades de las bandas correspondientes a celulosa, hemicelulosa y lignina (1246 a 1736 cm^{-1}) mostraron una disminución después de la hidrólisis ácida, lo que coincide con los hallazgos de Świątek *et al.*, (2020). Este comportamiento apoya la producción de azúcares (Awoyale & Lokhat (2021).

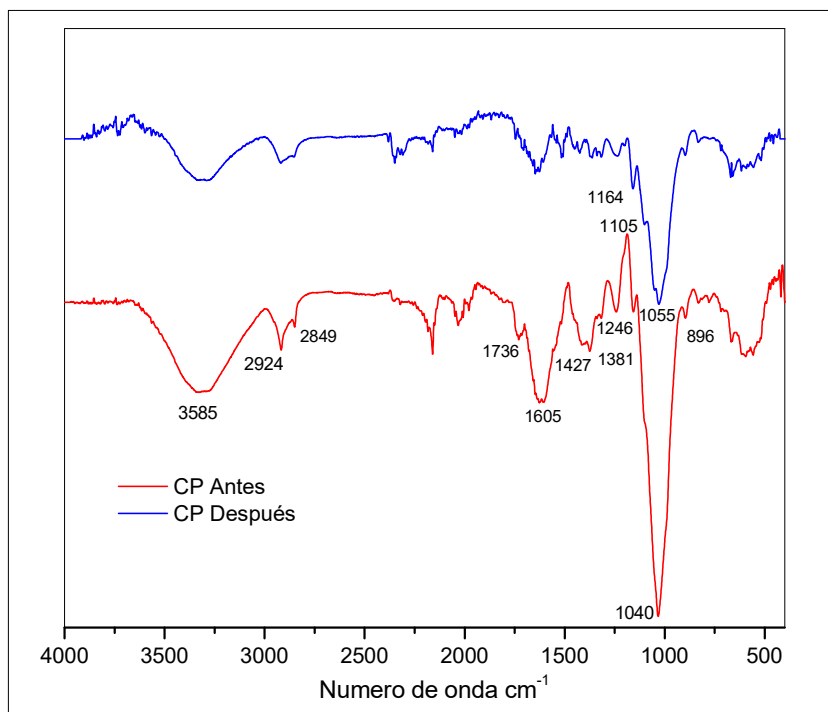


Figura 3.1 Espectros IR de la coronilla de piña antes y después de la hidrólisis ácida

Las bandas de celulosa (1105 y 1164 cm^{-1}) se observan más definidas, lo que sugiere que el contacto entre la coronilla de piña y la solución de H_3PO_4 fue eficiente en la recuperación de azúcares de la celulosa y la hemicelulosa (Gutiérrez *et al.*, 2022), además mostró la aparición de una banda a 1050 cm^{-1} después de la hidrólisis ácida, Presenda-Gerónimo *et al.*, (2020), menciona que este pico es asignado al enlace $\text{C}_{\text{aril}}-\text{O}$ el cual corresponde a hidrógenos aromáticos, confirmando así la remoción de lignina.

3.4 Determinación de azúcares reductores

3.4.1 Curva de calibración de glucosa

Luego de preparar las soluciones de glucosa y hacerlas reaccionar con el DNS, se procedió a medir las absorbancias de las soluciones de glucosa de 0.5 , 0.7 , 1.0 , 1.5 , 1.7 , y 2.0 g/L en un espectrofotómetro y se graficaron los resultados como se muestra en la Figura 3.2.

La curva de calibración se realizó para determinar la concentración de azúcares reductores presentes en la muestra hidrolizada.

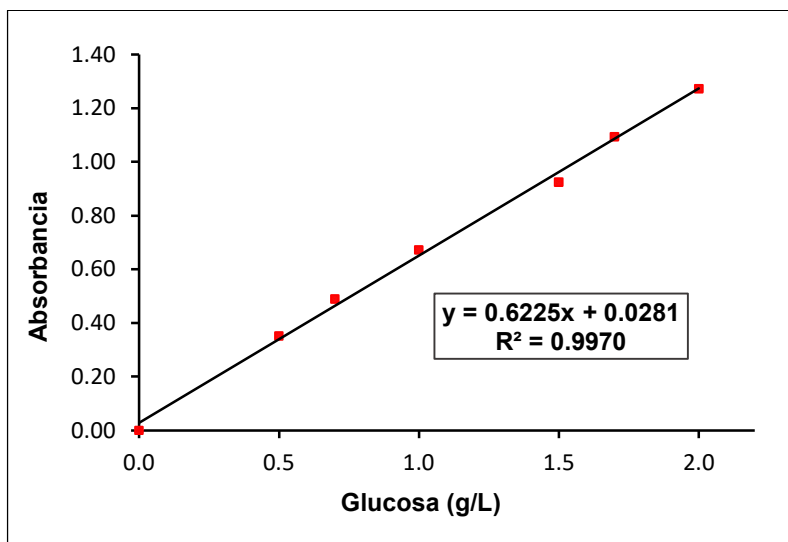


Figura 3.2 Curva de calibración de glucosa

Se determinó la ecuación de la recta y el coeficiente de correlación (R^2), se obtuvo un valor igual a 0.9970 . Un coeficiente de correlación cercano a 1 indica perfecta correlación entre los datos al relacionar la concentración con la absorbancia y la confiabilidad en los datos obtenidos.

3.4.2 Cuantificación de azúcares reductores en la muestra

Se procedió a medir las absorbancias de las muestras obtenidas después del proceso de hidrólisis los diferentes tiempos de reacción (30, 60, 90, 120, 180 y 300 min) en un espectrofotómetro UV-VIS. Las concentraciones de azúcares reductores para cada una de las muestras se calcularon a partir de la curva de calibración de la glucosa.

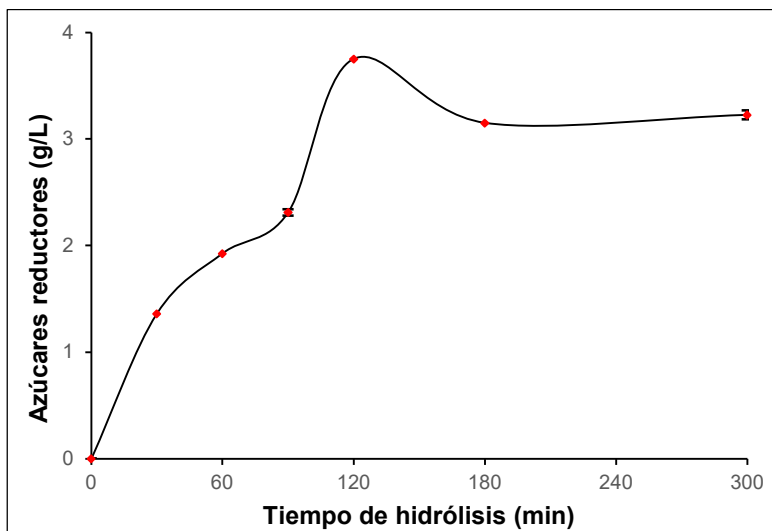


Figura 3.3 Producción de azúcares reductores durante la hidrólisis ácida

Los resultados de la hidrólisis con ácido fosfórico 1M de la coronilla de piña a diferentes tiempos de reacción se muestran en la Figura 3.3. La concentración de azúcares reductores aumentó simultáneamente con el tiempo de reacción y permaneció casi sin cambios después de experimentar un valor máximo. En el rango de 30 a 60 min la cantidad de azúcar liberada aumentó de 1.3 a 1.9 g/L. A medida que el tiempo de reacción aumentaba la concentración máxima de azúcares reductores fue de 3.7 g/L a los 120 min. La cantidad de azúcar liberada disminuyó ligeramente a 3.1 g/L a los 180 min y 3.2 g/L a los 300 min. Este comportamiento podría deberse a la descomposición del azúcar reductor en furfural según lo reportan Gutiérrez *et al* (2022). Un aspecto importante durante la hidrólisis ácida de materiales lignocelulósicos es la degradación de los azúcares reductores (Hatami-Manesh *et al.*, 2020).

3.5 Determinación de productos inhibidores en la muestra hidrolizada

3.5.1 Determinación de furfural

Después de preparar las soluciones de furfural de 2, 4, 6, 8, 10, y 12 mg/L se leyeron en un espectrofotómetro y se graficaron los resultados como se muestra en la Figura

3.4, obteniendo un coeficiente de correlación de (R^2) de 0.9993. La curva de calibración se realizó para determina la concentración de furfural en la muestra hidrolizada.

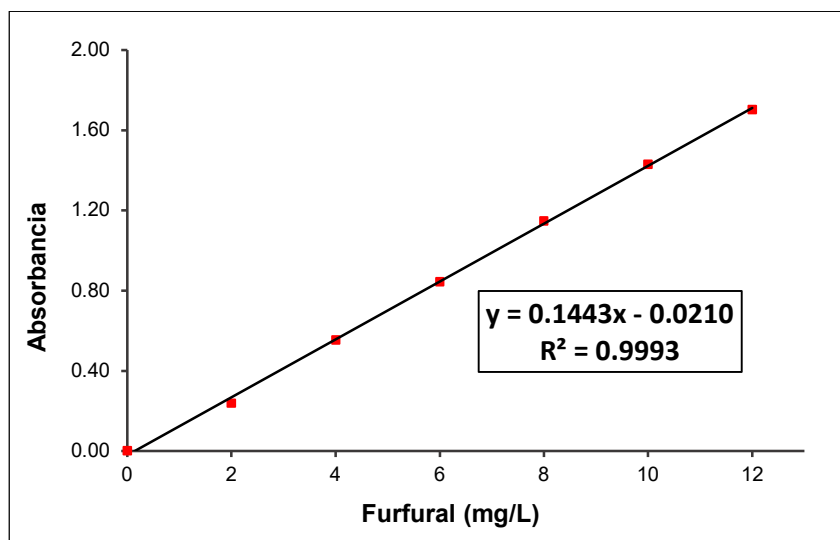


Figura 3.4 Curva de calibración de furfural

Los resultados presentados en la Figura 3.5 muestran que la cantidad de furfural presente en la muestra hidrolizada estuvo influenciada por el tiempo de reacción, como lo demuestra la mayor cantidad de furfural liberado en el tiempo de 300 min. Las cantidades de furfural (2.9 mg/L y 3.1 mg/L) formadas en 180 y 300 min respectivamente podrían explicar la tendencia a la baja observada para la producción de azúcares reductores en esta condición de reacción (Figura 3.3).

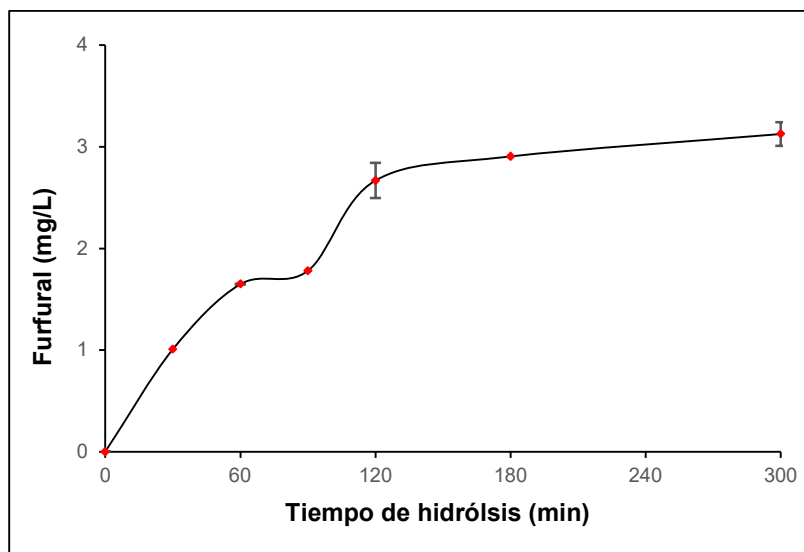


Figura 3.5 Producción de furfural durante la hidrólisis

Este comportamiento fue similar al reportado por Świątek *et al.*, (2020), quienes estudiaron la hidrólisis ácida diluida de residuos lignocelulósicos (madera y *miscanthus*) observando que la temperatura y el tiempo tienen un fuerte impacto en la formación de furfural.

3.5.2 Determinación de HMF

Después de preparar las soluciones de HMF de 2, 4, 6, 8, 10, y 12 mg/L se leyeron en un espectrofotómetro UV-Vis y se graficaron los resultados como se muestra en la Figura 3.6, obteniendo un coeficiente de correlación de (R^2) de 0.9976. La curva de calibración se realizó para determina la concentración de HMF en la muestra hidrolizada.

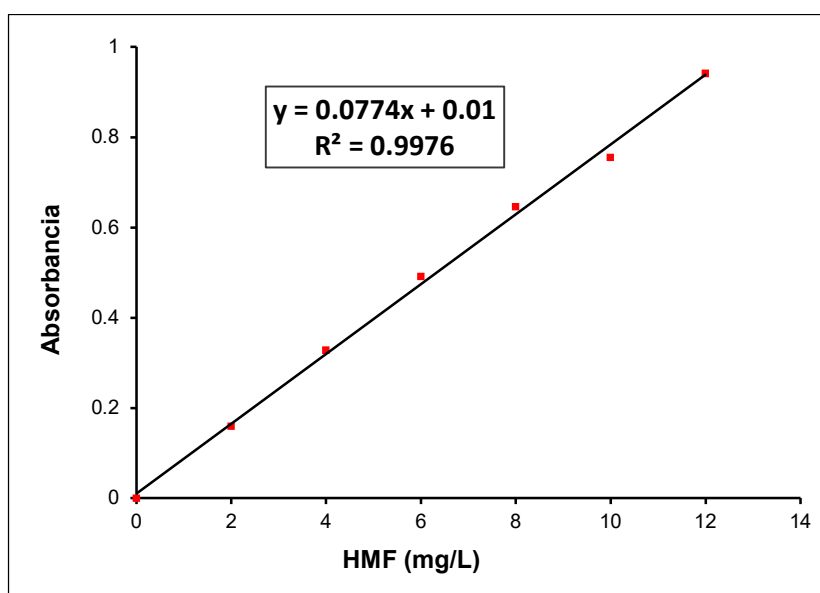


Figura 3.6 Curva de calibración de HMF

De acuerdo con la Figura 3.7 es posible observar una proporcionalidad entre la cantidad de HMF liberado y el tiempo de reacción en la hidrólisis. Los resultados muestran que la mayor cantidad de HMF (10.1 mg/L) fue a los 300 min en comparación con los otros tiempos de reacción. Este hallazgo coincide con lo reportado con Hatami-Manesh *et al.*, (2020) quienes informaron que, durante la hidrólisis ácida de un residuo de agua de arroz para la producción de etanol, la cantidad de HMF aumentó al prologar el tiempo de reacción.

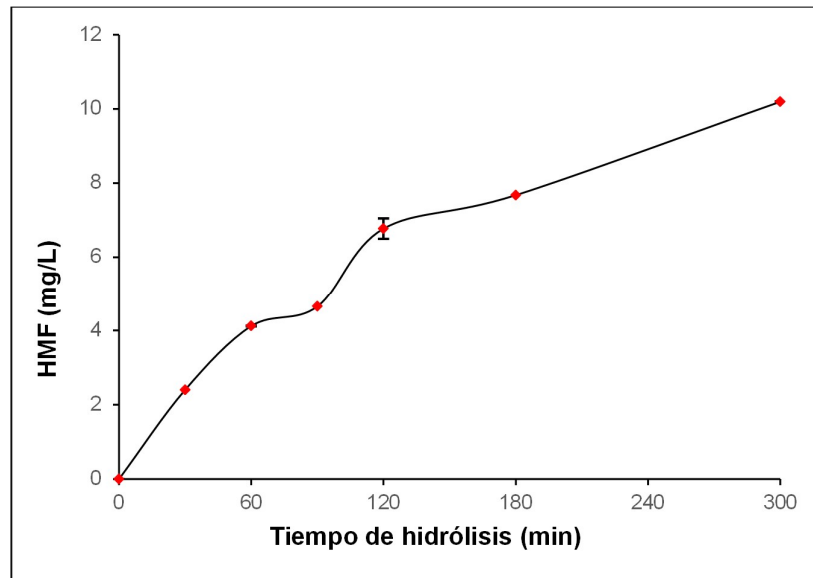


Figura 3.7 Producción de HMF durante la hidrólisis

3.6 Determinación de bioetanol

Se determinó la concentración de bioetanol en cada una de las muestras obtenidas después de la fermentación a partir de la determinación por el método de volumetría redox, los resultados se muestran en la Figura 3.9, donde se observa que los valores se encuentran en un rango de 0.011 y 0.100 g/L. Donde la mayor producción de bioetanol se tiene en la muestra con un tiempo de hidrólisis de 120 min y 72 horas de fermentación, lo cual se relaciona con la mayor cantidad de azúcares reductores y menor presencia de inhibidores, así mismo, es importante mencionar que en los tiempos de fermentación de 24 y 48 horas en los diferentes tiempos de reacción de la hidrólisis no se observa diferencia importante en la producción de etanol.

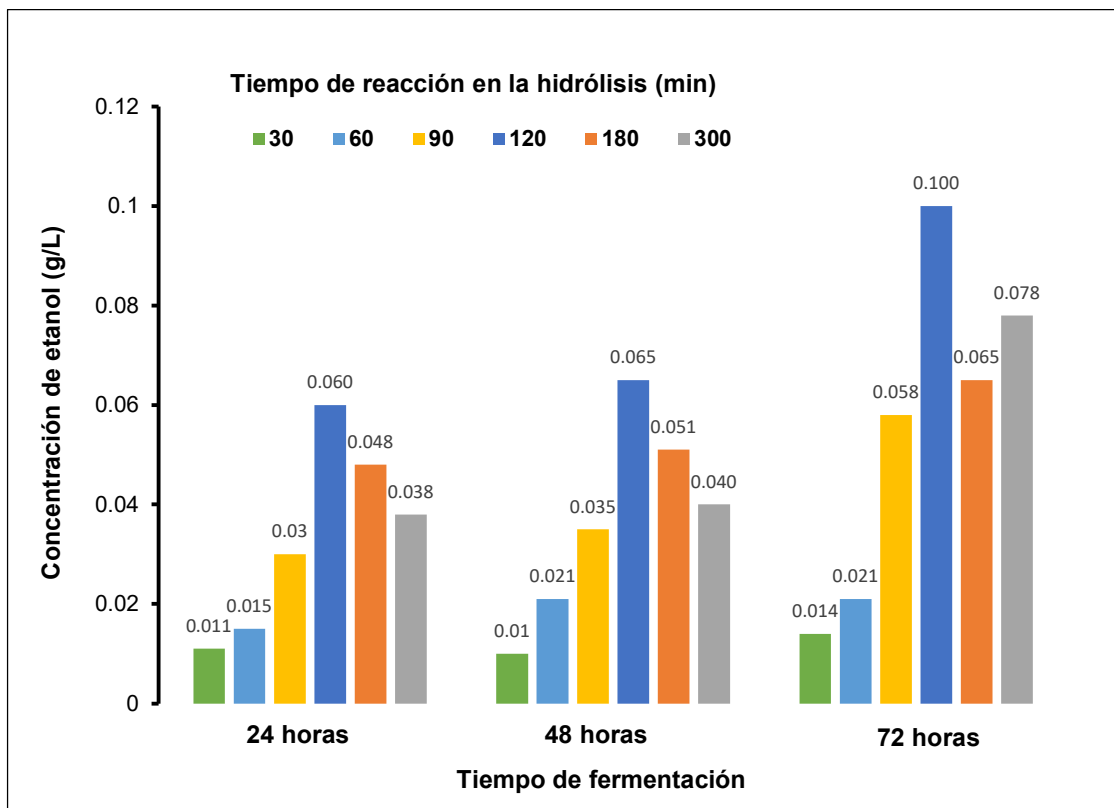


Figura 3.8 Concentración de bioetanol en las muestras fermentadas

La baja producción de bioetanol en los tiempos de hidrólisis de 180 y 300 min se puede atribuir al contenido menor y mayor de azúcares reductores e inhibidores respectivamente. El HMF y el furfural son conocidos como inhibidores del crecimiento causando daño a la membrana plasmática celular y reduciendo la productividad volumétrica, es decir la cantidad de etanol producido por litro de fermentado por hora (Ask *et al.*, 2013).

3.7 Destilación del bioetanol

El fermentado obtenido a partir del hidrolizado con la mayor concentración de azúcares reductores (tiempo de reacción 120 min) y tiempo de fermentación de 72 horas se sometió a un proceso separación por 5 horas mediante una destilación fraccionada con ayuda de una columna de Vigreux, con el objetivo de separar el bioetanol.

Se evaluó el rendimiento del producto Yp/s (cantidad de producto entre cantidad de sustrato), donde se determinó que Yp/s fué de 0.366 lo cual corresponde al 71.6 % de conversión de acuerdo con el rendimiento teórico estequiométrico para la

transformación de glucosa en etanol que es de 0.51 g de etanol por 1 g de glucosa (Beluham *et al.*, 2023).

En otros estudios, Salafia *et al.* (2022) reportaron un rendimiento de etanol del 85 %, mayor al del presente trabajo con tratamiento de hidrólisis ácida con H_2SO_4 a 100°C por 2.5 horas a partir de cáscara y corazón de piña, utilizando como microorganismo fermentativo *S. cerevisiae*. Hatami-Manesh *et al.* (2020) estudiaron la producción fermentativa del hidrolizado de agua de arroz, obtenido a partir de una solución diluida de H_2SO_4 al 4 % a 80 °C durante 100 minutos, mediante la levadura *S. cerevisiae* informaron un rendimiento de 80.4 % con una concentración de azúcares reductores de 47.5 g/L y una cantidad de furfural y HMF de 0.63 y 0.27 g/L respectivamente.

El rendimiento en la producción de bioetanol se ve influenciado por el tipo y la susceptibilidad del microorganismo a la presencia de inhibidores (Prasad *et al.*, 2018).

3.8 Determinación del poder calorífico

De acuerdo con las pruebas realizadas al bioetanol para la evaluación del poder calorífico con ayuda de la bomba calorimétrica, se encontró un valor de 18.6 MJ/Kg, lo que significa que presenta un 30.5 % menor al valor de etanol (26.8 MJ/Kg) publicado por CONUEE, 2024. Esta diferencia podría atribuirse a la diferencia entre la composición del biocombustible comercial y la presencia de moléculas de oxígeno en la estructura molecular del bioetanol obtenido (Abioye *et al.*, 2022).

4. CONCLUSIONES

La caracterización química de la coronilla de piña mostró que el residuo presenta viabilidad para la obtención de bioetanol. Además, mediante la espectrofotometría FTIR del residuo presenta vibraciones características de la celulosa, hemicelulosa y lignina las cuales después del proceso de hidrólisis mostraron cambios importantes los cuales se pueden atribuir a la producción de azúcares reductores. Las fracciones de hemicelulosa y celulosa solubilizada en la coronilla de piña después de la hidrólisis (ácido fosfórico 1.0 M, y 120 min) indicaron la producción de azúcares reductores como pentosas (xilosa y arabinosa) y hexosas (glucosa).

La hidrólisis de materiales lignocelulósicos es un paso crucial para la producción de azúcares y productos de degradación como el HMF y el furfural. Este estudio se realizó con la hidrólisis ácida con H_3SO_4 1.0 M a 95 °C y diferentes tiempos de reacción observando que el tiempo tiene influencia sobre el aumento en la cantidad de inhibidores y disminución de azúcares reductores, lo cual se puede atribuir a la degradación de estos.

La fermentación de los hidrolizados obtenidos se llevaron a cabo utilizando la levadura *S. cerevisiae* donde la mayor concentración de bioetanol fue en un tiempo de 72 horas y donde se pudo observar que a mayor presencia de compuestos inhibidores menos producción de bioetanol. Después del proceso de destilación fue posible determinar el rendimiento en la producción de etanol logrando el 71.6 % respecto al rendimiento teórico, además de la determinación del poder calorífico de biocombustible que fue de 18.6 MJ/Kg.

Con todo lo anterior se concluye que la coronilla de piña es una materia prima adecuada para la producción de bioetanol de segunda generación, además ser objeto de mejoras en su proceso de producción y su eficiencia energética.

5. REFERENCIAS

Abioye A.M., Sintali I. S, Salihu A. A., Innocent C. (2022). Production and characterization of bioethanol from snot apple (*Azanzagarckeana*). International Journal of Advances in Engineering and Management, 4, 447-456.

Abo, B. O., Gao, M., Wang, Y., Wu, C., Ma, H., & Wang, Q. (2019). Lignocellulosic biomass for bioethanol: an overview on pretreatment, hydrolysis, and fermentation processes. Reviews on environmental health, 34(1), 57-68.

Aditiya, H. B., Mahlia, T. M. I., Chong, W. T., Nur, H., & Sebayang, A. H. (2016). Second generation bioethanol production: A critical review. Renewable and sustainable energy reviews, 66, 631-653.

Alalwan, H. A., Alminshid, A. H., & Aljaafari, H. A. (2019). Promising evolution of biofuel generations. Subject review. Renewable Energy Focus, 28, 127-139.

Ambaye, T. G., Vaccari, M., Bonilla-Petriciolet, A., Prasad, S., van Hullebusch, E. D., & Rtimi, S. (2021). Emerging technologies for biofuel production: A critical review on recent progress, challenges, and perspectives. Journal of environmental management, 290, 112627.

American Society for Testing Materials. ASTM D1103-55 T Method of Test for Alpha-Cellulose in Wood. University of Florida, George A. Smathers Libraries, 1959a.

American Society for Testing Materials. ASTM D1104-56 Method of Test for Holocellulose in Wood. University of Florida, George A. Smathers Libraries, 1959b. 91.

American Society for Testing Materials. ASTM D240-19 Standard Test Method for Heat of Combustion of Liquid Hydrocarbon Fuels by Bomb Calorimeter. ASTM International: West Conshohocken, PA, USA, 2000.

Ask, M., Bettiga, M., Duraiswamy, V. R., & Olsson, L. (2013). Pulsed addition of HMF and furfural to batch-grown xylose-utilizing *Saccharomyces cerevisiae* results in different physiological responses in glucose and xylose consumption phase. Biotechnology for biofuels, 6, 1-15.

Awoyale, A. A., & Lokhat, D. (2021). Experimental determination of the effects of pretreatment on selected Nigerian lignocellulosic biomass in bioethanol production. Scientific Reports, 11(1), 557.

Ayala Blanco, E., Aparicio Ariza, A. A., & García Sánchez, C. E. (2016). Review of calculation of calorific value and dew point of natural gas and estimating uncertainties. *Revista ION*, 29(2), 87-99.

Banerjee, R., Chintagunta, A. D., & Ray, S. (2017). A cleaner and eco-friendly bioprocess for enhancing reducing sugar production from pineapple leaf waste. *Journal of Cleaner Production*, 149, 387-395.

Baruah, J., Nath, B. K., Sharma, R., Kumar, S., Deka, R. C., Baruah, D. C., & Kalita, E. (2018). Recent trends in the pretreatment of lignocellulosic biomass for value added products. *Frontiers in Energy Research*, 6, 141.

Bautista-Herrera, A., Ortiz-Arango, F., & Alvarez-Garcia, J. (2021). Profitability using second-generation bioethanol in gasoline produced in Mexico. *Energies*, 14(8), 2294.

Beluhan, S., Mihajlovski, K., Šantek, B., & Ivančić Šantek, M. (2023). The production of bioethanol from lignocellulosic biomass: pretreatment methods, fermentation, and downstream processing. *Energies*, 16(19), 7003.

Broda, M., Yelle, D. J., & Serwańska, K. (2022). Bioethanol production from lignocellulosic biomass challenges and solutions. *Molecules*, 27(24), 8717.

Burgos, L.J. (2019). Cuantificación de azúcares reductores del sustrato en residuos de piña con el método de ácido 3,5-dinitrosalicílico. *Fundación Universidad de América*.

Chai, W. Y., Teo, K. T. K., Tan, M. K., & Tham, H. J. (2022). Model predictive control in fermentation process A review. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2610, No. 1). AIP Publishing.

Clauser, N. M., González, G., Mendieta, C. M., Kruyeniski, J., Area, M. C., & Vallejos, M. E. (2021). Biomass Waste as Sustainable Raw Material for Energy and Fuels. *Sustainability*, 13(2).

Codex-Adopted–AOAC Method. AOAC Official Method 934.06 Moisture in Dried Fruits. 2000.

CONUEE (2024), Comisión Nacional para el Uso Eficiente de la Energía (Lista de combustibles y sus poderes caloríficos). México.

Deshavath, N. N., Mukherjee, G., Goud, V. V., Veeranki, V. D., & Sastri, C. V. (2020). Pitfalls in the 3, 5-dinitrosalicylic acid (DNS) assay for the reducing sugars: Interference of furfural and 5-hydroxymethylfurfural. *International journal of biological macromolecules*, 156, 180-185.

Devi, A., Singh, A., Bajar, S., Pant, D., & Din, Z. U. (2021). Ethanol from lignocellulosic biomass: An in-depth analysis of pre-treatment methods, fermentation approaches and detoxification processes. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(5), 105798.

Edeh, I. (2021). Bioethanol production: An overview. *Bioethanol technologies*, 1.

Ghazanfar, M.; Irfan, M.; Nadeem, M.; Shakir, H.A.; Khan, M.; Ahmad, I.; Saeed, S.; Chen, Y.; Chen, L. (2022). Bioethanol production optimization from KOH-pretreated bombax ceiba using *Saccharomyces cerevisiae* through Response Surface Methodology. *Fermentation* 2022, 8, 148.

Gilbert, J. C., & Martin, S. F. (2010). *Experimental Organic Chemistry A Miniscale and Microscale*.

Gómora-Hernández, J. C., Carreño-de-León, M. D. C., Flores-Alamo, N., Hernández-Berriel, M. D. C., & Fernández-Valverde, S. M. (2020). Kinetic and thermodynamic study of corncob hydrolysis in phosphoric acid with a low yield of bacterial inhibitors. *Biomass and Bioenergy*, 143, 105830.

Gutiérrez-López, D., Carreño-de-León, M. D. C., Solache-Ríos, M. J., Gómora-Hernández, J. C., Ventura-Cruz, S., & Flores-Alamo, N. (2022). Kinetic and thermodynamic study on acid hydrolysis of corn cob, rose stem, and pineapple crown. *Chemical Engineering Communications*, 210(9), 1581-1592.

Hatami-Manesh, M., Younesi, H., Bahramifar, N., Mohammadi, M., & Khakpour, H. (2020). Fermentative production of ethanol from acid hydrolyzate of rice water waste using *Saccharomyces cerevisiae*: Experimental and kinetic studies. *Waste and biomass valorization*, 11, 3465-3475.

Hirani, A. H., Javed, N., Asif, M., Basu, S. K., & Kumar, A. (2018). A review on first-and second-generation biofuel productions. *Biofuels: greenhouse gas mitigation and global warming*, 141-154.

Jessup, R. S. (1960). Precise measurement of heat of combustion with a bomb calorimeter (Vol. 7). US Department of Commerce, National Bureau of Standards.

Kalia, S., Dufresne, A., Cherian, B. M., Kaith, B. S., Avérous, L., Njuguna, J., & Nassiopoulou, E. (2011). Cellulose-based bio-and nanocomposites: a review. International journal of polymer science, 2011.

Karimi, S., Karri, R. R., Tavakkoli Yarak, M., & Koduru, J. R. (2021). Processes and separation technologies for the production of fuel-grade bioethanol: a review. Environmental Chemistry Letters, 19(4), 2873-2890.

Kim J. S., Lee Y. Y., Kim T. H. (2016). A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. Bioresource Technology, Vol. 199, 42-48.

Kumar, S., Singh, N., & Prasad, R. (2010). Anhydrous ethanol: A renewable source of energy. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14(7), 1830-1844.

Lenihan P., Orozco A., O'Neill E., Ahmad M. N. M., Rooney W., Walker G. M. (2010). Dilute Acid hydrolysis of lignocellulosic biomass. Chemical Engineering Journal. Vol. 156, 395-403.

Llenque-Díaz, L. A., Quintana Díaz, A., Torres Lino, L., & Segura Vega, R. (2020). Producción de bioetanol a partir de residuos orgánicos vegetales. REBIOL, 40(1), 21-29.

Maicas, S. (2020). The role of yeasts in fermentation processes. Microorganisms, 8(8), 1142.

Malik, K., Salama, E. S., Kim, T. H., & Li, X. (2020). Enhanced ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* fermentation post acidic and alkali chemical pretreatments of cotton stalk lignocellulose. International Biodeterioration & Biodegradation, 147, 104869.

Mamaní, A., Maturano, Y., Herrero, L., Montoro, L., & Sardella, F. (2022). Increase in fermentable sugars of olive tree pruning biomass for bioethanol production: application of an experimental design for optimization of alkaline pretreatment. Periodica Polytechnica Chemical Engineering, 66(2), 269-278.

Mankar, A. R., Pandey, A., Modak, A., & Pant, K. K. (2021). Pretreatment of lignocellulosic biomass: A review on recent advances. Bioresource Technology, 334, 125235.

Manmai, N., Unpaprom, Y. & Ramaraj, R. (2021). Bioethanol production from sunflower stalk: application of chemical and biological pretreatments by response surface methodology (RSM). *Biomass Conv. Bioref.* 11, 1759–1773.

Mansor Adila Maisyarah, Lim Jeng Shiun, Ani Farid Nasir, Hashim Haslenda, Ho Wai Shin. (2019). Characteristics of cellulose, hemicellulose, and lignin of MD2 Pineapple Biomass. *Chemical Engineering Transactions* (1):79-84, ISBN: 978-88-95608-69-3, ISSN: 2283-9216.

Mat Aron, N. S., Khoo, K. S., Chew, K. W., Show, P. L., Chen, W. H., & Nguyen, T. H. P. (2020). Sustainability of the four generations of biofuels a review. *International Journal of Energy Research*, 44(12), 9266-9282.

Melgarejo, T.L. & Urquiza, R.A., "Influencia de la temperatura y concentración de ácido sulfúrico en la hidrólisis ácida de raquis del banano, variedad *musa cavendish*, para la obtención de bioetanol por *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126", National University of Santa, Ancash, Perú, (2019).

Mengana-Trujillo, A. M., Tejera-Cisneros, H. E., Más-Diego, S. M., & Córdova-Rodríguez, V. V. (2022). Selección de una técnica analítica para la determinación de la concentración de etanol. *Tecnología Química*, 42(3), 503-520.

Mishra, V. K., & Goswami, R. (2018). A review of production, properties, and advantages of biodiesel. *Biofuels*, 9(2), 273-289.

Niwaswong, C., Chaiyamate, P., Chotikosaikanon, P., & Ruangviriyachai, C. (2014). Simple and enhanced production of lignocellulosic ethanol by diluted acid hydrolysis process of pineapple peel (*Ananas comosus*) waste. *African Journal of Biotechnology*, 13(38).

Parapouli, M., Vasileiadis, A., Afendra, A. S., & Hatziloukas, E. (2020). *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications. *AIMS microbiology*, 6(1), 1.

Pardo Saldaña, J. E., Ocegueda Amador, D., Sánchez Campos, A., & Valdivieso Rodríguez, U. A. (2018). Obtención de bioetanol a partir de residuos de cáscara y pulpa de piña (*Ananas comosus*).

Prasad, S., Malav, M. K., Kumar, S., Singh, A., Pant, D., & Radhakrishnan, S. (2018). Enhancement of bio-ethanol production potential of wheat straw by reducing furfural and 5-hydroxymethylfurfural (HMF). *Bioresource Technology Reports*, 4, 50-56.

Presenda-Gerónimo, A., Bolio-López, G. I., Azamar-Barrios, V. L., Ramírez-Casillas, J. A., Sarracino-Martínez, O., Hernández-Villegas, M. M., & De la Cruz-Burelo, P. (2020). Obtención de celulosa a partir de residuos de piña (*Ananas comosus* L. Merrill): Isolation of cellulose from pineapple waste (*Ananas Comosus* L.). *Agro Productividad*, 13(2).

Rezania, S., Oryani, B., Cho, J., Talaiekhosani, A., Sabbagh, F., Hashemi, B & Mohammadi, A. A. (2020). Different pretreatment technologies of lignocellulosic biomass for bioethanol production: An overview. *Energy*, 199, 117457.

Robak, K., & Balcerek, M. (2018). Review of second-generation bioethanol production from residual biomass. *Food technology and biotechnology*, 56(2), 174.

Roukas, T., & Kotzekidou, P. (2022). From food industry wastes to second generation bioethanol: a review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 21(1), 299-329.

Salafia, F.; Ferracane, A.; Tropea, A. (2022) Pineapple Waste Cell Wall Sugar Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* for Second Generation Bioethanol Production. *Fermentation* 2022, 8, 100.

Shehab, M., Stratulat, C., Ozcan, K., Boztepe, A., Coskun, F., Isleyen, F. S. A., ... & Moshammer, K. (2022). Improved Metrological Methodology to Address the Challenges Associated with the Determination of biofuels calorific value by bomb calorimeter. *Chemical Engineering Transactions*, 92, 433-438.

SIAP (2022). Servicio Agroalimentaria y Pesquera (Food, Agriculture and Fishing Information Service) (1st Ed.). México.

Solarte-Toro, J. C., Romero-García, J. M., Martínez-Patiño, J. C., Ruiz-Ramos, E., Castro-Galiano, E., & Cardona-Alzate, C. A. (2019). Acid pretreatment of lignocellulosic biomass for energy vectors production: a review focused on operational conditions and techno-economic assessment for bioethanol production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 107, 587-601.

Sukasem, N., Hareemao, T., & Sudawong, C. (2017). The mimic of fractional distillation technology for development of homegrown pot distillery for ethanol distillation. *Energy Procedia*, 138, 985-990.

Sun Ye & Cheng Jiayang. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Journal Bioresource Technology* 83(1):1-11, ISSN: 0960-8524.

Świątek, K., Gaag, S., Klier, A., Kruse, A., Sauer, J., & Steinbach, D. (2020). Acid hydrolysis of lignocellulosic biomass: Sugars and furfurals formation. *Catalysts*, 10(4), 437.

TAPPI. Acid-Insoluble Lignin in Wood and Pulp (Reaffirmation of T 222 Om-02). 2006.

TAPPI. Solvent Extractives of Wood and Pulp (Proposed Revision of T 204 Cm-97). 2007.

Tejada, L., Tejada, C., Villabona, A. & Alvear, M. (2010). Producción de Bioetanol a partir de la fermentación alcohólica de jarabes glucosados derivados de cáscaras de piña. *Educación en Ingeniería*, No. 10, 120-125.

Tse, T. J., Wiens, D. J., & Reaney, M. J. (2021). Production of bioethanol—A review of factors affecting ethanol yield. *Fermentation*, 7(4), 268.

Xu, F., Yu, J., Tesso, T., Dowell, F., & Wang, D. (2013). Qualitative and quantitative analysis of lignocellulosic biomass using infrared techniques: a mini review. *Applied energy*, 104, 801-809.

Zborowska, M., Waliszewska, H., Waliszewska, B., Borysiak, S., Brozdowski, J., & Stachowiak-Wencek, A. (2021). Conversion of carbohydrates in lignocellulosic biomass after chemical pretreatment. *Energies*, 15(1), 254.

Zhang, H., Han, L., & Dong, H. (2021). An insight to pretreatment, enzyme adsorption and enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass: Experimental and modeling studies. *Renewable and sustainable energy reviews*, 140, 110758.

Zhou, Z., Liu, D., & Zhao, X. (2021). Conversion of lignocellulose to biofuels and chemicals via sugar platform: an updated review on chemistry and mechanisms of acid hydrolysis of lignocellulose. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 146, 111169.