

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE COAHUILA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN EN ALIMENTOS
MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE *SARGASSUM SPP*
APLICANDO PRETRATAMIENTOS HIDROTÉRMICOS

Presentado por:

Ing. Elizabeth Aparicio Velazco

TESIS

Presentado como requisito para obtener el grado de:

Maestra en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Saltillo, Coahuila, México.

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE COAHUILA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN DE ALIMENTOS
GRUPO DE BIOREFINERÍA**

La facultad de Ciencias Químicas a través del comité de tesis hace constar que la tesis titulada:

**PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE SARGASSUM SPP APLICANDO
PRETRATAMIENTOS HIDROTÉRMICOS**

Presentada por:
ING. ELIZABETH APARICIO VELAZCO

Ha sido aceptada como requisito para obtener el Título de:
MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

El trabajo presentado ha sido dirigido por el siguiente comité:



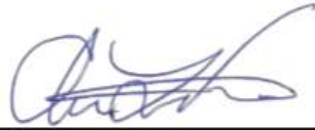
Dr. Rosa María Rodríguez Jasso
Directora

Universidad Autónoma de Coahuila



Dr. Héctor Arturo Ruiz Leza
Director

Universidad Autónoma de Coahuila



Dr. Araceli Loredo Treviño

Asesora

Universidad Autónoma de Coahuila



Dr. Cristóbal Noé Aguilar González

Asesor

Universidad Autónoma de Coahuila



Dr. Armando Robledo Olivo

Asesor externo

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro



Dr. Emily Kostas

External advisor

University College London

ABSTRACT

Macroalgae are a large group of plant-like organisms that dovetail in the third generation of renewable feedstocks within the biorefinery context, which implies the conversion of biomass to generate multiple bio-based products such as biofuels. These could be bioethanol, biogas, bio-oil, biodiesel, biohydrogen, biobutanol, amongst others. The storage components of macroalgae, namely carbohydrates and lipids, and the absence or near absence of lignin, make macroalgae an attractive raw material for conversion into biofuels. México's is current battling with an invasive macroalgae that is overpopulating its shoreline, could become beneficial for biofuel production.

In this research, bioethanol production from hydrothermally pretreated *Sargassum* spp under third generation biorefinery. The main stages are hydrothermal pretreatment (which aim to release the sugars from the material), enzymatic hydrolysis (which converts that structural sugars into fermentable sugars), and fermentation (where the fermentable sugars are converted into ethanol). First, the macroalgae was physicochemical analyzed in order to know the structural polysaccharides present, then different conditions of hydrothermal pretreatment were tested under central composite design, with temperature values of 150, 170, and 190 °C, and time values of 10, 30, and 50 minutes. Glucan, galactan, and fucoidan were quantified, being 10.4, 4.3, and 6.8 g/100 g (d.w). After the pretreatment, the same polysaccharides were analyzed with the object of compare the quantity of sugars, the condition of 190 °C – 50 minutes was the best condition

with 32.33 g/100 g (d.w.) of glucan. The enzymatic hydrolysis was tested with the help of enzymatic complexes like Cellic CTec2 and Cellic HTec 2, those are used in bioethanol production from lignocellulosic biomass, this stage was carried out under the same experimental design, with Filter Paper Units (enzyme loading) of 5, 10, and 15 per gram of glucan, and solids loading values of 5, 9, and 13%. Each experiment was performed at 25 ml working volume at 150 rpm, pH of 4.5, and 50 °C, sampling at 0, 6, 12, 24, 48, and 72 hours to analyze glucose concentration through HPLC. The best results were found at 10 UPF – 13% solids with a glucose concentration and yield of 42.65 g/L and 91% respectively. In the fermentation stage, *Saccharomyces cerevisiae* PE-2 from the microbiological collection of the Centre of Biological Engineering at University of Minho, Portugal was used. Pre-saccharification and fermentation (PSSF) strategy were carried out, where enzymatic hydrolysis of the pretreated Sg was conducted by 24 hours, after the pre-saccharification time, the temperature was adjusted at 35 °C, and the corresponding yeast suspension was inoculated, the fermentation time was tested throughout 72 hours. Samples were removed in certain times for glucose and ethanol analysis. 18.14 g/L of ethanol was achieved at 36 hours of total reaction time, corresponding to a yield of 76% compared with the theoretical yield. Therefore, bioethanol production is a feasible process from brown macroalgae biomass.

RESUMEN

Las macroalgas con un gran grupo de organismos parecidos a las plantas que pertenecen a la tercera generación de biomásas dentro de un concepto de biorrefinería, que implica la conversión de biomasa para generar productos como biocombustibles. Estos pueden ser bioetanol, biogás, bioaceite, biodiesel, biohidrógeno, biobutanol, entre otros. Los componentes de reserva de las macroalgas, como carbohidratos o lípidos, así como la ausencia o casi ausencia de lignina, hacen a las macroalgas una biomasa atractiva para su conversión en biocombustibles. México actualmente está enfrentándose ante una macroalga invasiva que está creciendo de manera desmedida en las costas mexicanas, la cual puede ser aprovechada para producción de biocombustibles.

En esta investigación, la producción de bioetanol a partir de *Sargassum spp* pretratado hidrotermalmente bajo un concepto de biorrefinería de tercera generación. En este proceso, las etapas principales son el pretratamiento hidrotérmico (que tiene como objetivo liberar los azúcares de la biomasa), la hidrólisis enzimática (que convierte los azúcares estructurales en azúcares fermentables) y la fermentación (donde los azúcares fermentables se convierten en etanol). Primero, las macroalgas se analizaron fisicoquímicamente para conocer los polisacáridos estructurales presentes, luego se probaron diferentes condiciones de pretratamiento hidrotérmico en un diseño compuesto central, con valores de temperatura de 150, 170 y 190 °C, y valores de tiempo de 10, 30, y 50 minutos. El glucano, galactano y fucoidano fueron analizados, siendo 10.4, 4.3 y

6.8 g / 100 g (d.w). Después del pretratamiento, se analizaron los mismos polisacáridos con el objetivo de comparar la cantidad de azúcares, la condición de 190 ° C - 50 minutos fue la mejor condición con 32.33 g / 100 g (d.w.) de glucano. La hidrólisis enzimática se probó con la ayuda de complejos enzimáticos como Cellic CTec2 y Cellic HTec 2, que son utilizados en la producción de bioetanol a partir de biomasa lignocelulósica, esta etapa se llevó a cabo bajo el mismo diseño experimental, con unidades de papel de filtro (carga enzimática) de 5, 10 y 15 por gramo de glucano, y valores de carga de sólidos de 5, 9 y 13%. Cada experimento se realizó en un volumen total de 25 ml a 150 rpm, pH de 4.5 y 50 ° C, la toma de muestras se llevó a cabo a las 0, 6, 12, 24, 48 y 72 horas para analizar la concentración de glucosa a través de HPLC. Los mejores resultados se encontraron a 10 UPF - 13% de sólidos con una concentración de glucosa y un rendimiento de 42.65 g/L y 91% respectivamente. En la etapa de fermentación, se utilizó *Saccharomyces cerevisiae* PE-2 de la colección microbiológica del Centro de Ingeniería Biológica de la Universidad de Minho, Portug