



CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A.C.

POSGRADO EN CIENCIAS EN ENERGÍA RENOVABLE

“BIOCONVERSIÓN DE MACROALGAS (*Sargassum* spp.) A
MONÓMEROS DE CARBOHIDRATOS COMO PLATAFORMA PARA LA
PRODUCCIÓN DE BIOTURBOSINA”

TESIS QUE PRESENTA

GUADALUPE ALHELI GONZÁLEZ BARRENECHEA

EN OPCIÓN AL TÍTULO DE

MAESTRA EN CIENCIAS EN ENERGÍA RENOVABLE

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO

20 DE NOVIEMBRE DE 2024

DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en las secciones de: Materiales y Métodos, Resultados y Discusión de este documento, proviene de las actividades de investigación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que, a razón de lo anterior, y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley Federal de Protección a la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y se registrarán, en todo caso, por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley Federal de Protección a la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.

Firma:  _____

Nombre: Guadalupe Alheli González Barrenechea

CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A. C.
POSGRADO EN ENERGÍA RENOVABLE



RECONOCIMIENTO

Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis de Guadalupe Alheli González Barrenechea titulado **Bioconversión de macroalgas (*Sargassum spp.*) a monómeros de carbohidratos como plataforma para la producción de bioturbosina**, fue realizado en la Unidad de Energía Renovable, en la línea de investigación de Bioenergía, en los laboratorios de Síntesis y de Biocombustibles del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. bajo la dirección del Dr. Raúl Tapia Tussell, perteneciente al Programa de Posgrado en Energía Renovable de este Centro.

Atentamente



Dr. José Luis Hernández Stefanoni
Director de Docencia

Mérida, Yucatán, México, a 20 de noviembre de 2024

AGRADECIMIENTOS

Al CONAHCYT por el apoyo económico otorgado a través de la beca de posgrado No. 823362.

Al Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. y a toda la comunidad que lo conforma, por abrirme las puertas y brindarme un trato amable y respetuoso durante mi formación académica.

Al laboratorio de Síntesis y Biocombustibles ERU 18, 19 y 20 por brindarme las herramientas necesarias para realizar mi trabajo de investigación.

Al Dr. Raúl Tapia Tussell, por sus consejos, acompañamiento y dirección en el proyecto de tesis, así como su disponibilidad y paciencia en todo momento.

Al Dr. Juan Carlos Chavarría Hernández por compartir sus conocimientos y su tiempo en la asesoría del proceso de hidrogenación.

A la Dra. Galdy Hernández Zárate por sus comentarios y apoyo durante el desarrollo de este proyecto.

Al Dr. Edgar Olgún Maciel por su importante apoyo en la redacción del documento, discusión de resultados, y asesoría para el desarrollo experimental.

A la Dra. Sara Elena Solís Pereira, por su apoyo en la revisión de tesis y comentarios para mejora del trabajo.

A la I.Q. Tanit Toledano Thompson, por el apoyo técnico, por todo el material facilitado, así como el apoyo con los procedimientos y equipos requeridos para esta investigación, además del asesoramiento de HPLC y toma de imágenes SEM.

A la Dra. Elda Isaura España Gamboa, por el apoyo técnico brindado en el uso del espectrofotómetro, centrifugas y análisis CHONS y FTIR.

Al Dr. Gilver Rosero Chasoy por su apoyo en el uso del reactor de hidrogenación, así como el asesoramiento académico para comprender modelos matemáticos como la superficie de respuesta y cinética enzimática.

A la M.C. Karla Jared Azcorra May, por su disponibilidad, acompañamiento y asesoría en el proceso de desarrollo del proyecto.

A la Dra. Eréndira Tonantzin Quintanar Orozco, por su apoyo en comentarios acerca del proyecto.

A mis compañeros y amigos de laboratorio, que llenaron de momentos agradables la estancia. Gracias por las pláticas y consejos, por escucharme y acompañarme en esta bonita etapa. Cindy, Karla, Ere, Alicia, Campos, Mane, Cristina, muchas gracias.

A mi familia por apoyarme en cada decisión que he tomado, por escucharme y estar siempre presentes incluso en la distancia. Sin ustedes nada de esto hubiera sido posible.

DEDICATORIA

A Dios, por todo lo que es y representa en mi vida.

A mis padres y hermano; Rosa y José, Alan;

por todo el amor y apoyo brindados.

Los amo.

ÍNDICE

LISTADO DE TABLAS	IV
LISTADO DE FIGURAS.....	IV
RESUMEN	VII
ABSTRACT	VIII
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1.....	3
ANTECEDENTES.....	3
1.1 Sargazo pelágico.....	3
1.1.1 Origen y distribución	3
1.1.2 Composición de las macroalgas	5
1.2 Impactos	6
1.2.1 Problemática.....	6
1.3 Usos potenciales.....	9
1.3.1 Biocombustibles.....	9
1.3.2 Bioetanol.....	10
1.3.3 Biogás	11
1.4 Bioturbosina (SAF).....	11
1.4.2 Procesos de producción de SAF.....	13
1.4.3 Normatividad	16
1.5 Biomasa lignocelulósica.....	17
1.5.1 Pretratamientos.....	17
1.6 Hidrólisis enzimática/ sacarificación	17
1.6.1 Fermentación.....	18
1.6.2 Levaduras	19
1.7 Hidrogenación de azúcares	20
1.7.1 Polioles	20
1.7.2 Catalizadores	20

1.8 Bioeconomía y economía circular	21
1.8.1 Economía del SAF	22
JUSTIFICACIÓN	24
HIPÓTESIS	25
OBJETIVO GENERAL	25
OBJETIVOS ESPECIFICOS	25
CAPÍTULO 2	26
MATERIALES Y MÉTODOS	26
2.1 Estrategia experimental	26
2.2 Colecta y acondicionamiento de la biomasa	27
2.3 Caracterización de la biomasa	28
2.3.1 Contenido de humedad y cenizas	28
2.3.2 Análisis elemental CHNS	28
2.3.3 Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)	29
2.3.4 Cuantificación de lignina y carbohidratos	29
2.3.5 Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)	29
2.4 Pretratamiento	30
2.5 Actividad celulasa (FPU)	31
2.5.1 Hidrólisis enzimática	31
2.5.2 Cinética enzimática	32
2.5.3 Cuantificación de azúcares reductores DNS	32
2.6 Microscopía electrónica de barrido (SEM)	33
2.7 Obtención de compuestos precursores de bioturbosina (SAF)	33
2.7.1 Obtención de polialcoholes por hidrogenación	34
2.7.2 Obtención de bioetanol por fermentación	35
2.7.3 Inóculo	35
2.7.4 Fermentación	37
2.8 Análisis estadístico	37
2.8.1 Superficie de respuesta	37
CAPÍTULO 3	39

RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
3.1 Caracterización de la biomasa	39
3.2 Pretratamiento	40
3.2.1 Análisis estructural antes y después del tratamiento oxidativo	41
3.2.2 Espectroscopía Infrarroja (FTIR)	42
3.3 Hidrólisis enzimática	43
3.3.1 Cinética enzimática	43
3.3.2 Azúcares reductores liberados en la hidrólisis de sargazo	44
3.4 Metodología de Superficie de Respuesta	46
3.5 Cromatografía Líquida de Alta Resolución	47
3.5.1 Análisis estructural de la biomasa posterior a la hidrólisis enzimática	49
3.6 Obtención de compuestos precursores de bioturbosina (SAF)	50
3.6.1 Producción de bioetanol	50
3.6.2 Activación del inóculo	50
3.6.3 Fermentación	50
3.7 Producción de polioles	53
3.7.1 Hidrogenación	53
3.8 Planteamiento de procesos para la producción de SAF a partir de los productos obtenidos	57
CONCLUSIONES	59
PERSPECTIVAS	60
REFERENCIAS	61

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1.1: Características del SAF obtenido por distintas rutas de procesamiento [10]... 15	15
Tabla 2.1 Diseño compuesto central..... 38	38
Tabla 3.1: Caracterización Sargazo mayo 2022 y 2023. P. Morelos, Q. Roo, México..... 39	39
Tabla 3.2: Caracterización Sargazo mayo 2022 y 2023 colectado en P. Morelos, Q. Roo, México, después del tratamiento oxidativo (10% v/v H ₂ O ₂ , 3 horas). 40	40
..... 40	40
Tabla 3.3: Parámetros Cinéticos de la Reacción Enzimática a Diferentes Relaciones Enzima/Sustrato..... 43	43
Tabla 3.4 Rendimiento y conversión de etanol con diferentes concentraciones de glucosa utilizando <i>Sargassum</i> spp. como materia prima y levadura <i>Kluyveromyces marxianus</i> . .. 51	51
Tabla 3.5: Hidrogenación de Glucosa utilizando Pd/C como Catalizador..... 53	53

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1.1: <i>Sargassum</i> pelágico del Caribe mexicano A: <i>S. natans</i> , B: <i>S. fluitans</i> [15]..... 3	3
Figura 1.2: Principales corrientes en el Atlántico Norte, el Mar de los Sargazos y el Gran Cinturón de Sargazos del Atlántico; GoM: Golfo de México [17]..... 4	4
Figura 1.3: Pared celular esquemática presente en algas pardas con polisacáridos característicos [18]. 5	5
Figura 1.4: Abundancia de <i>Sargassum</i> en el Caribe y Golfo de México, año 2017- agosto 2022, los colores cálidos representan alta abundancia [28]..... 7	7
Figura 1.5: Efectos de la marea marrón de sargazo (Sbt) en comunidades de pastos marinos en la costa del Caribe mexicano..... 8	8
Figura 1.6: Métodos de extracción de energía a partir de macroalgas. 10	10
Figura 1.7: Procesos de producción de bioturbosina (SAF) [46]. 14	14

Figura 1.8: Rutas metabólicas para la producción de etanol por medio de levaduras.....	19
Figura 1.9: Polioles derivados de los principales azúcares presentes en la biomasa lignocelulósica.....	20
Figura 1.10: Cadena de suministro de un solo nivel a sistema de cadena de suministro multibucle.....	22
Figura 2.1: Estrategia experimental para la obtención de compuestos precursores de bioturbosina.....	26
Figura 2.2: Sitio de colecta de la biomasa de sargazo en las Costas del Caribe mexicano	27
Figura 2.3: Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución HPLC con columna Metacarb 87H 300 x 7.8 mm (Aglient).....	30
Figura 2.4: Deslignificación oxidativa de <i>Sargassum</i> spp. A) Sin pretratamiento; B) Aplicación de pretratamiento; C) Sargazo pretratado.....	30
Figura 2.5: Microscopio Electrónico de Barrido (SEM), JSM-6360L, JEOL.....	33
Figura 2.6: Rotavapor Buchi® R-210.....	34
Figura 2.7: Reactor PARR.....	35
Figura 2.8: Cámara de Neubauer, cuadrantes utilizados.....	36
Figura 3.1: Microscopía electrónica de barrido de <i>Sargassum</i> spp. A) Control; B) Sargazo pretratamiento oxidativo.....	41
Figura 3.3 Función de cinética enzimática de la hidrólisis de sustrato con diferentes concentraciones de enzima.....	44
Figura 3.4: Concentración de azúcares reductores a una carga de trabajo.....	45
Figura 3.5: Análisis de varianza, tratamientos sargazo ($p < 0.05$), Prueba Tukey, Alfa= 0.05.....	46
Figura 3.6 Superficie de respuesta: Liberación de glucosa en función de la carga de sustrato y carga enzimática.....	47
Figura 3.7: Análisis de composición de monómeros de carbohidratos por HPLC: Sargazo sin tratamiento, carga 5%, enzima 0.25mL/mg de biomasa (Línea rosa); Sargazo tratado, carga 5% sin enzima (Línea azul); Sargazo tratado, carga 5%, enzima 0.25mL/mg de biomasa (Línea verde).....	48

Figura 3.8: Microscopía electrónica de barrido de <i>Sargassum</i> spp.....	49
Figura 3.9. Reactivación de levadura <i>Kluyveromyces marxianus</i> (Cicy-Ki).....	50
Figura 3.11: Difractograma del catalizador Paladio/Carbón.....	54
Figura 3.12 Tratamiento SPHC antes y después de hidrogenación.	55
Figura 3.13 Cromatogramas hidrogenación. A) Glucosa 5%, 3 horas; B) Jarabe sargazo 3h; C) Jarabe sargazo 5 h; La flecha roja señala el tiempo de retención de la glucosa, mientras que la flecha azul señala la presencia de manitol.	56
Figura 3.14 Proceso de generación de combustible sostenible de aviación a partir de <i>Sargassum</i> spp. A) Proceso ATJ; B) Reformado catalítico.	57

RESUMEN

La proliferación masiva de sargazo en las costas del Caribe mexicano ha provocado diversos problemas ambientales, económicos y turísticos. Este estudio tiene como objetivo obtener monómeros de carbohidratos como base para la producción de combustible sostenible de aviación (SAF) a partir de biomasa de *Sargassum* spp. lo cual permitirá explorar al sargazo como materia prima para la producción de biocombustibles, en particular bioetanol, mediante procesos de hidrólisis enzimática y fermentación, así como la obtención de polioles como precursores en el proceso de producción de SAF.

Se realizó una caracterización inicial de la biomasa de sargazo, seguida de un pretratamiento para mejorar su accesibilidad a las enzimas hidrolíticas obteniendo una deslignificación del 69%. Además, se evaluó la hidrólisis enzimática utilizando el complejo de celulasa Accellerase 1500 en sargazo pretratado y sin pretratar, variando las condiciones de carga de sustrato y la relación enzima/sustrato resultando un rendimiento de sacarificación del 82.61%.

Posteriormente se fermentó el hidrolizado de sargazo utilizando la levadura *Kluyveromyces marxianus* (Cicy-Ki), con el objetivo de producir bioetanol. Se compararon dos concentraciones de glucosa en los jarabes fermentados, una derivada del hidrolizado original y otra de un hidrolizado concentrado obteniendo un rendimiento de etanol del 88% respecto al teórico. Además, se realizaron pruebas para la producción de polialcoholes, específicamente manitol obteniendo 2.24 g/L de manitol a partir de 6.05 g/L de glucosa, utilizando el catalizador Pd/C.

Los resultados de este estudio demuestran el potencial del sargazo como fuente renovable para la producción de azúcares fermentables y polioles para la producción de biocombustibles y productos de alto valor añadido, contribuyendo a mitigar el problema ambiental asociado a la llegada masiva de esta macroalga a las costas.

ABSTRACT

The massive proliferation of *Sargassum* along the coasts of the Mexican Caribbean has caused various environmental, economic, and tourism-related issues. This study aims to obtain carbohydrate monomers as a basis to produce sustainable aviation fuel (SAF) from *Sargassum* spp. biomass, which will allow for the exploration of *Sargassum* as a raw material for biofuel production, particularly bioethanol, through enzymatic hydrolysis and fermentation processes, as well as the production of polyols as precursors in the SAF production process.

An initial characterization of *Sargassum* biomass was conducted, followed by a pretreatment to improve its accessibility to hydrolytic enzymes, achieving a delignification of 69%. In addition, enzymatic hydrolysis using the Accellerase 1500 cellulase complex was evaluated on both pretreated and untreated *Sargassum*, varying substrate load and enzyme/substrate ratio conditions, resulting in a saccharification yield of 82.61%.

Subsequently, the *Sargassum* hydrolysate was fermented using the yeast *Kluyveromyces marxianus* (Cicy-Ki) to produce bioethanol. Two glucose concentrations in the fermented syrups were compared: one derived from the original hydrolysate and the other from a concentrated hydrolysate, achieving an ethanol yield of 88% relative to the theoretical. Additionally, tests were conducted to produce polyols, specifically mannitol, obtaining 2.24 g/L of mannitol from 6.05 g/L of glucose using a PdC catalyst.

The results of this study demonstrate the potential of *Sargassum* as a renewable source to produce fermentable sugars and polyols for biofuel and high-value-added product manufacturing, contributing to mitigating the environmental problem associated with the massive arrival of this macroalgae on the coasts.

INTRODUCCIÓN

Desde 2011, el incremento de las arribaciones de sargazo en las costas del Caribe mexicano se ha vuelto evidente, generando considerables impactos en los ecosistemas y la salud humana. Se han identificado dos fuentes principales de origen: el Mar de los Sargazos en el Atlántico Norte y, más recientemente, el Gran Cinturón de Sargazos del Atlántico (GASB) [1]. Se considera que estas arribaciones masivas están influenciadas por factores como las descargas de nutrientes del río Amazonas, el aumento de la temperatura superficial del mar y los cambios en la circulación oceánica [2].

La presencia de cantidades abundantes de sargazo en playas genera un impacto ecológico, económico, y social, esto debido a la rápida descomposición de la biomasa acumulada en zonas turísticas, la cual genera compuestos tóxicos que pueden infiltrarse a los mantos acuíferos modificando la composición y calidad de estos [3]. Por otro lado, las grandes cantidades de esta macroalga impiden su recolección total, por lo que se tiende a utilizar maquinaria pesada que puede provocar erosión en las playas, así como destruir nidos de tortugas y otras especies endémicas [4].

A pesar de la implementación de protocolos para la recolección de sargazo, hasta el momento no se ha podido consolidar un sistema de almacenamiento eficiente, lo que ha provocado la movilización de contaminación de un sitio a otro, esto debido al traslado de sargazo de la playa a tiraderos, manglares o camellones, lo que podría generar mayor daño ambiental [5].

Por lo anterior se buscan nuevas alternativas para su máximo aprovechamiento, tales como la producción de fertilizantes, biorremediación, industria farmacéutica y cosmética. Por otro lado, diversas investigaciones sugieren el aprovechamiento de la macroalga en la industria alimentaria, sin embargo, debido a la capacidad del sargazo de acumular metales pesados aún no es viable [6].

Una alternativa con gran potencial para el aprovechamiento de sargazo es el sector de los biocombustibles. Las macroalgas son ricas en carbohidratos y proteínas, por lo que son candidatas para obtener diversos energéticos como el bioetanol o biogás, entre otros. En estudios recientes se ha demostrado la presencia de un material recalcitrante tipo lignina, lo cual hace necesaria la aplicación de pretratamientos que permitan acceder a la matriz de carbohidratos

presentes en su estructura para facilitar su aprovechamiento al ser transformados a biocombustibles [6], [7].

Por otra parte, el sector transporte contribuye a la emisión de Gases de Efecto Invernadero (GEI) [8], uno de los principales es el sector aéreo, el cual genera emisiones de compuestos como CO₂ (más de 900 millones de toneladas al año), además de otros contaminantes como metano, amoníaco y material particulado [9], es por lo que se han buscado alternativas que ayuden a mitigar los efectos contaminantes propios del uso constante y creciente de estos medios de transporte [10].

La bioturbosina, o combustible sostenible de aviación (SAF por sus siglas en inglés), es un combustible renovable proveniente de insumos de origen biológico (biomasa), está constituida por una mezcla de parafinas e isoparafinas similares a los hidrocarburos presentes en la turbosina fósil lo que hace posible la mezcla de este combustible renovable con el ya existente [11].

Las estrategias para la producción de SAF se enfocan en buscar que no compita con el sector alimenticio (cultivos energéticos). Para esto, se propone el uso de residuos agroindustriales y de tercera generación, tal como la biomasa de *Sargassum*, ya que tiene alto potencial en la elaboración de compuestos de valor agregado y biocombustibles.

Estudios previos han reportado la presencia de lignina en el sargazo que arriba al Caribe mexicano, así como carbohidratos de celulosa, hemicelulosa y alginatos [5], por lo que se plantea el uso de esta macroalga como materia prima para la obtención de carbohidratos como la glucosa, la cual por medio de procesos de fermentación e hidrogenación se pueden convertir en compuestos precursores para la obtención de combustible sostenible de aviación.

CAPÍTULO 1 ANTECEDENTES

1.1 Sargazo pelágico

El género *Sargassum* pertenece al grupo de algas pardas (*Phyla Phaeophyta*), las cuales desempeñan un papel importante en los ecosistemas marinos tropicales [12]. Estas macroalgas son de color marrón oliva o amarillento, presentan un diámetro de 20 a 80 cm. Estos organismos presentan vesículas llenas de gas compuesto por oxígeno y nitrógeno que funcionan como flotadores, con un diámetro promedio de 1 cm [13].

El desarrollo y la morfología de muchas algas pardas están directamente influenciados por las condiciones ambientales. La reproducción de esta alga es por medio de fragmentación vegetativa, estas crecen en temperaturas entre 24° y 30°C con salinidades de 36 hasta 42 partes por millón (ppm) y puede duplicar su masa en 10 días [13], [14].

1.1.1 Origen y distribución

El sargazo se distribuye en el Atlántico Sur Tropical y el Atlántico Norte, incluye el Mar de los Sargazos, en un área de 2 millones de kilómetros cuadrados [3]. El arribo masivo de *Sargassum* a costas del Caribe mexicano se ha observado a partir del 2011, con dos especies predominantes *S. natans* y *S. fluitans* (Figura 1.1) [15].



Figura 1.1: *Sargassum* pelágico del Caribe mexicano A: *S. natans*, B: *S. fluitans* [15].

El Mar de los Sargazos (Figura 1.2) ocupa extensas regiones de masas flotantes, con una biomasa estimada de entre 4 y 11 millones de toneladas flotantes reportado hasta el 2011, extendidas en unos 3 millones de km². El *S. fluitans* proviene del Mar de los Sargazos, y se ha registrado desde Bermudas y Virginia hasta el Golfo de México y Colombia, pero también en aguas del medio oriente, al sur de China y en islas del Pacífico, mientras que *S. natans* parece tener una distribución más amplia, pues se ha registrado en las costas del Atlántico occidental, desde Massachusetts hasta Brasil, además de Francia, el océano Índico hasta Australia [16].

El Mar de los Sargazos se ve limitado por cuatro corrientes: la del Golfo, la del Atlántico Norte, la de Canarias y la Ecuatorial del Norte. Situado entre las regiones más productivas del océano, este juega un papel global importante en cuanto al secuestro de carbono y otros procesos ecológicos. La masa de *Sargassum* que se encuentra en el Mar de los Sargazos se origina en el Golfo de México (GoM), en los últimos años se han detectado a partir de imágenes satelitales, masas de *Sargassum* pelágico en una zona denominada Región de Recirculación Ecuatorial Norte (NERR) o Gran Cinturón de Sargazo del Atlántico (GASB) [1], que queda aguas afuera de Brasil. En esta zona se han hallado grandes acumulaciones que pueden ser transportadas hacia el este y el oeste con las corrientes, hacia el Caribe oriental y África [16].

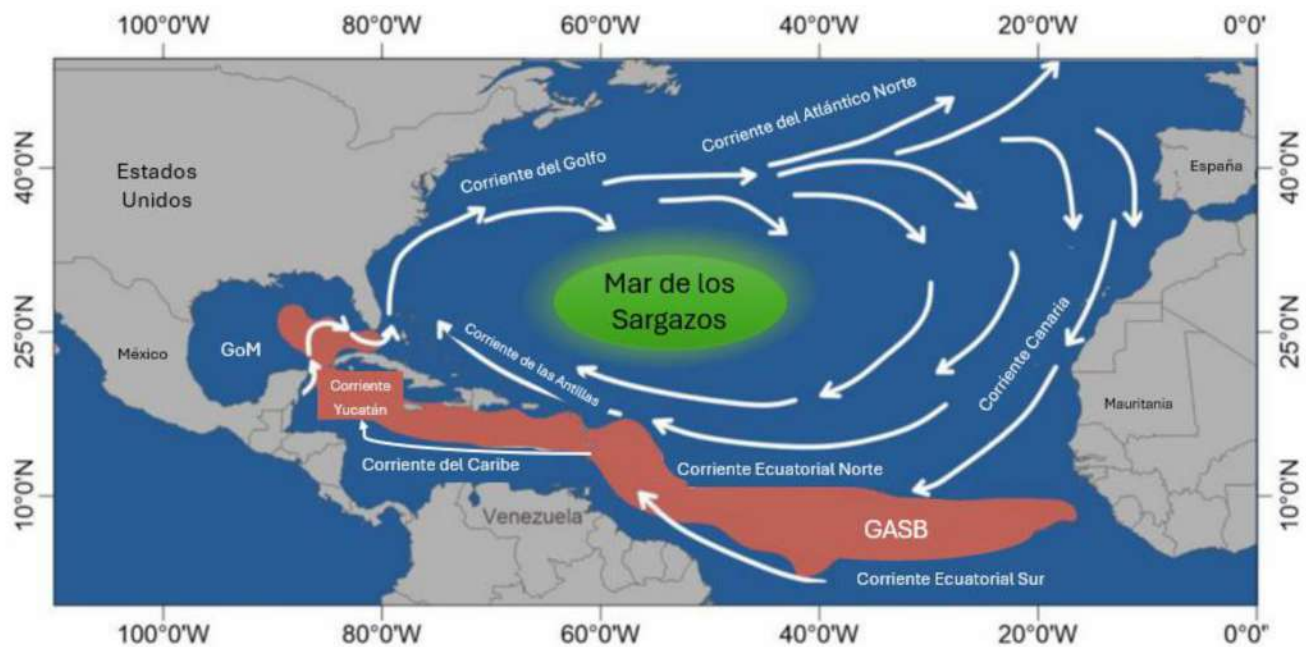


Figura 1.2: Principales corrientes en el Atlántico Norte, el Mar de los Sargazos y el Gran Cinturón de Sargazos del Atlántico; GoM: Golfo de México. Modificado [17].

1.1.2 Composición de las macroalgas

La pared celular de las macroalgas (Figura 1.3) suele estar formada por un esqueleto fibrilar siendo la celulosa el material más abundante en este esqueleto. En las algas pardas, predomina el ácido algínico (alginato) con cantidades menores de polisacáridos sulfatados (fucoidanos), es por esto, que la pared celular suele ser gelatinosa, al estar formada de estas dos capas. Tanto las algas pardas como las rojas contienen grandes cantidades de polisacáridos [14], [18].

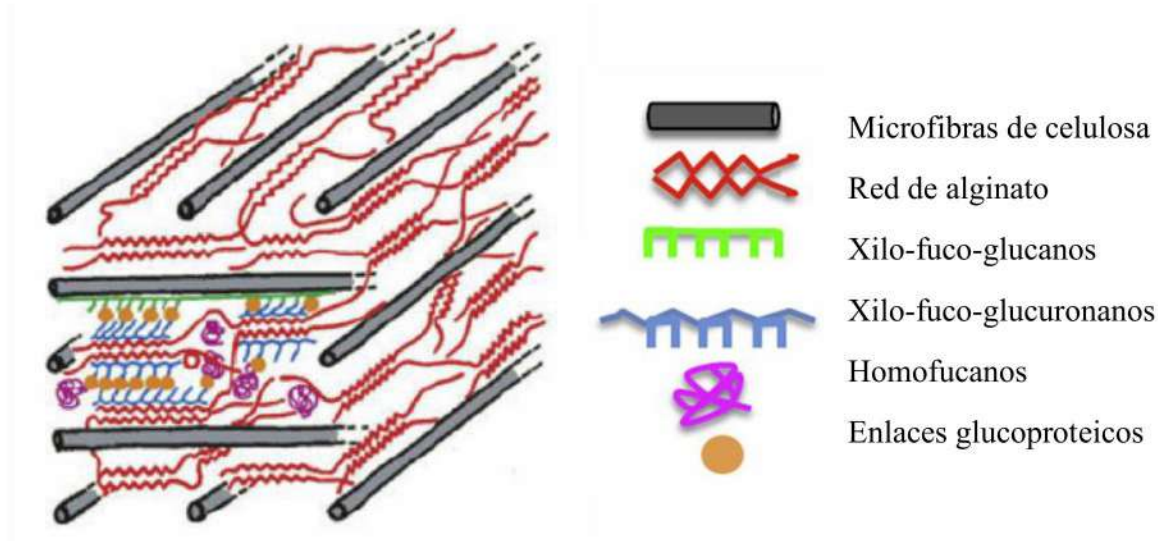


Figura 1.3: Pared celular esquemática presente en algas pardas con polisacáridos característicos [18].

Sus pigmentos fotosintéticos son clorofilas A y C y xantofilos (fucoxantina y flavoxantina), responsables del color amarillo pardo a pardo oscuro. El fucosterol es el principal esteroide en esta especie de algas pardas. Su pared celular contiene además de celulosa, ácido algínico y sales sulfatadas. Estos compuestos dan resistencia y flexibilidad al alga, ya que forman geles en la matriz intercelular, ayudando a resistir tensiones por olas y corrientes marinas, ya que intervienen en el cambio iónico y ayudan a evitar la desecación del alga en zonas litorales [19], [20].

La biomasa de sargazo suele tener un bajo contenido de lípidos (0.40% - 1.10%). El principal ácido graso encontrado en esta macroalga es el ácido palmítico, constituyendo el 35 al 57.33% del total de ácidos grasos [21].

1.2 Impactos

Las macroalgas son de gran importancia en los ecosistemas acuáticos, debido a su participación en los ciclos del C y N. Su presencia y abundancia es controlada por la disponibilidad de luz y el C inorgánico disuelto, además de verse influenciadas por factores como la temperatura, salinidad y concentración de nutrientes. Cabe destacar que sus requerimientos de N y P son mínimos, además han desarrollado un mecanismo para aumentar la captación de C inorgánico cuando son iluminadas por luz azul [14], [22].

La presencia de *Sargassum* en el mar puede ser benéfica para ciertas especies marinas como el pez león, tortugas marinas jóvenes, pez rey y atún, ya que proporciona alimento y refugio [23]. Además, el sargazo es vital para las tortugas recién nacidas vulnerables a los depredadores oceánicos. En cantidades moderadas, la presencia de algas en la playa puede ayudar a combatir la erosión, pero en altas concentraciones puede afectar negativamente ya que perturba la anidación de tortugas y el retorno de las recién nacidas; además de provocar serios daños ambientales y disminuir el turismo en la zona afectada. Además, las grandes cantidades de sargazo en flotación puede impedir la penetración de luz en el fondo marino, limitando la fotosíntesis en hierbas marinas y corales [23].

1.2.1 Problemática

Durante la última década, se han registrado arribazones de *Sargassum* pelágico, que provienen del océano Atlántico y que se ha acumulado en las costas del Caribe. Estos arribazones masivos pueden deberse a una combinación de procesos que incluyen la eutrofización por la contaminación humana, los cambios en las condiciones oceánicas y el cambio climático [3].

La eutrofización ocurre principalmente debido a los derrames en el río Amazonas y en la costa de África occidental, que aportan nutrientes al sargazo y favorecen su crecimiento masivo. Asimismo, las variaciones en las condiciones oceanográficas, como el aumento de la temperatura, contribuyen a una mayor proliferación del sargazo en el mar del Caribe [24].

A partir del 2014 se presentaron grandes arribazones de *Sargassum* en el Mar Caribe en temporada de verano. Durante 2018-2019, se registraron alrededor de 20 kg por m² de sargazo en las costas del Caribe mexicano en los meses con mayor afluencia turística [25]. Estudios recientes señalan la formación de dos nuevas regiones de retención y consolidación de *Sargassum*, la primera en la costa occidental de África y la segunda en el Atlántico occidental incluyendo la corriente del norte de Brasil [26].

En 2018, el gobierno de Quintana Roo reportó la recolección de 522,226 toneladas de sargazo de las playas y zonas costeras. La llegada masiva de *Sargassum* a costas del Caribe mexicano en la temporada de verano puede afectar la economía de la región al disminuir la ocupación hotelera [27]. De mayo a noviembre del 2019, la Secretaría de Marina (SEMAR) informó una recolección de 85,000 toneladas de sargazo, con una participación de 22,600 personas [27].

La Universidad del Sur de Florida, a través del laboratorio de oceanografía óptica, ha implementado el sistema de vigilancia de sargazo basado en satélite (SaWS). En la figura 1.4 se muestra la proliferación de *Sargassum*, en el periodo del 2017 al 2022. En todas estas regiones, la cantidad total de *Sargassum* aumentó de aproximadamente 14 millones de toneladas en abril de 2022 a aprox. 18.8 millones de toneladas en mayo de 2022, superando todos los años de floraciones observadas anteriormente [28]. De acuerdo con el mapa de la Figura 1.4, junio es el mes con mayor abundancia de *Sargassum*, patrón que se repite desde 2017.

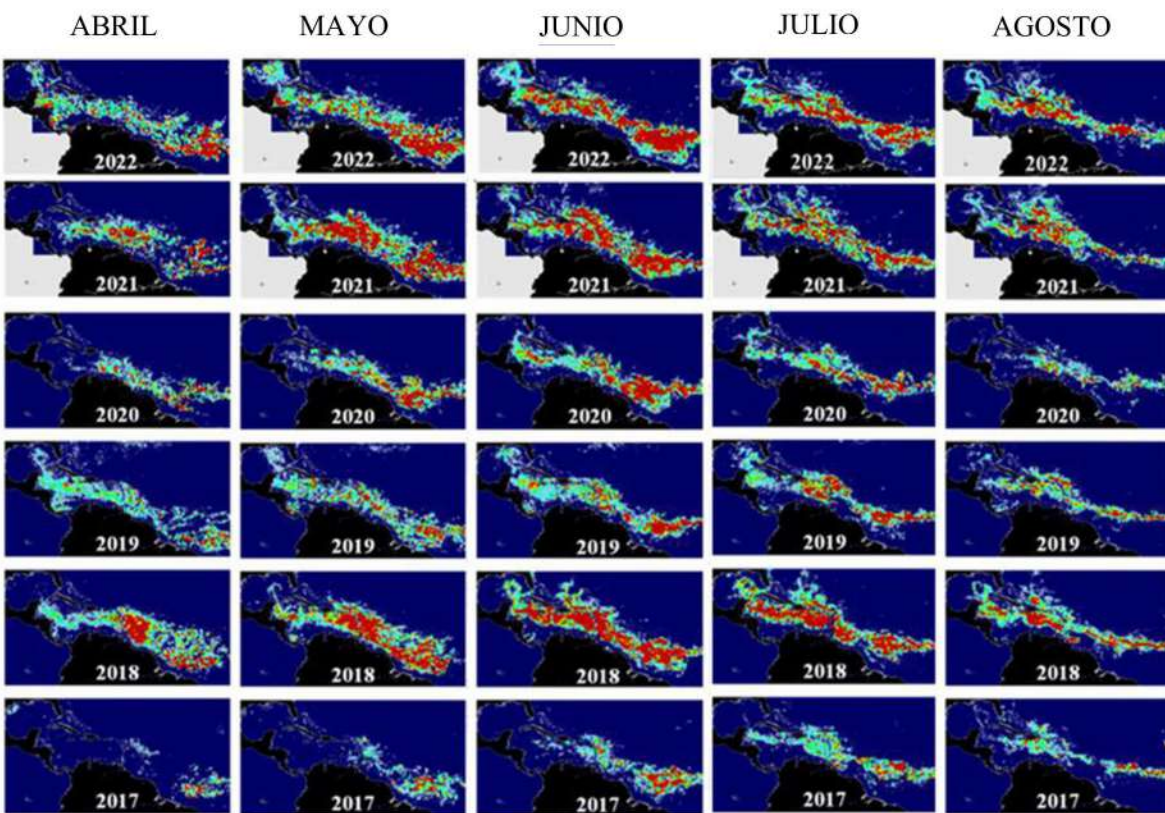


Figura 1.4: Abundancia de *Sargassum* en el Caribe y Golfo de México, año 2017- agosto 2022, los colores cálidos representan alta abundancia. Modificado [28].

Los efectos de las grandes cantidades de mareas marrones de sargazo (Sbt, por sus siglas en inglés) en aguas cercanas a la costa generan reducción de luz y oxígeno en las zonas afectadas (Figura 1.5), así como un cambio de pH [3], provocando un aumento parcial en la mortalidad de especies endémicas de los arrecifes, praderas marinas y degradación de biomasa subterránea. En cuanto a la materia que llega a las playas, su rápida descomposición genera lixiviados con alto potencial de contaminación, ya que pudiendo contener compuestos altamente tóxicos como el arsénico, se pueden infiltrar a mantos acuíferos y contaminar cadenas hidrológicas importantes para la península de Yucatán [29], [30].

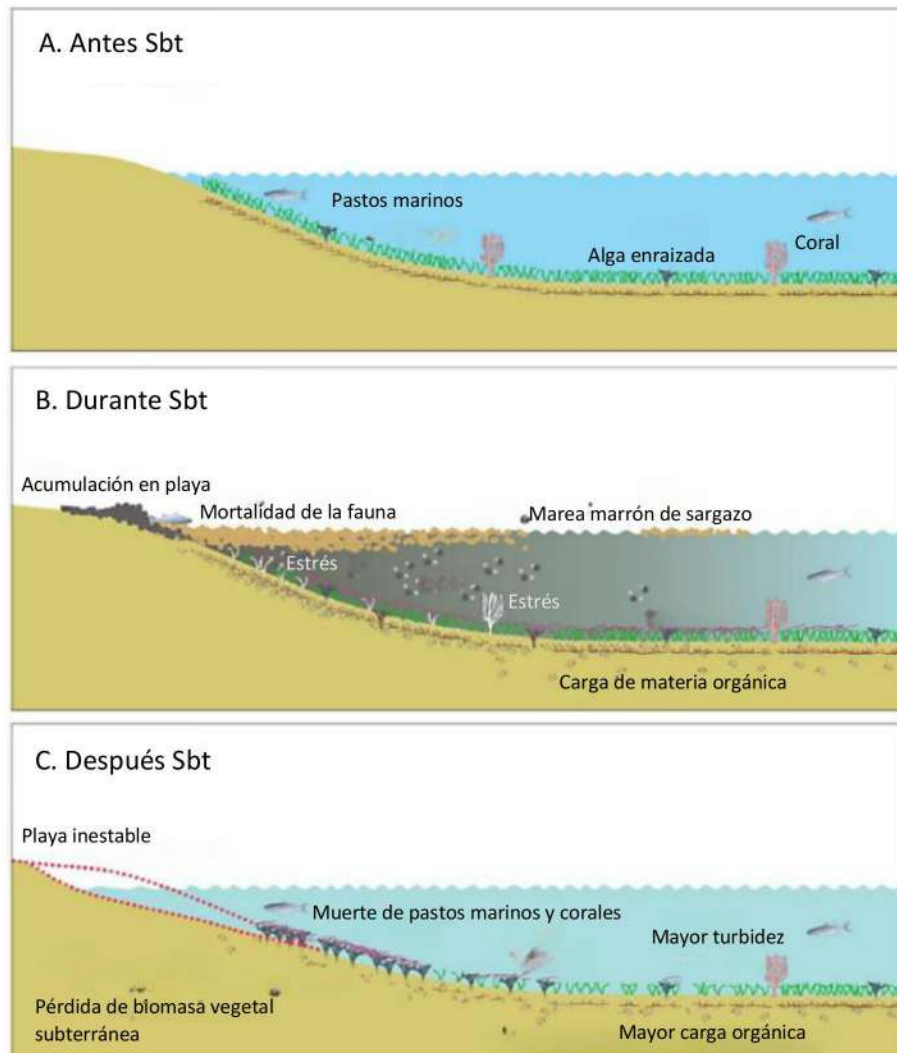


Figura 1.5: Efectos de la marea marrón de sargazo (Sbt) en comunidades de pastos marinos en la costa del Caribe mexicano. A: Antes del Sbt, pradera marina en buen estado, con aguas claras. B: Durante Sbt, lixiviados y partículas de materia orgánica de las algas colorean el agua, corales bajo estrés debido a la reducción de luz, hipoxia y turbidez. C: Después del Sbt, hierbas marinas y corales cercanos a la costa se pierden, aumento de materia orgánica, playas inestables, pérdida de praderas marinas cercanas a la costa. Modificado [3].

1.3 Usos potenciales

Las algas se han destacado como una fuente de biomasa potencialmente sostenible para la producción de materiales de alto valor agregado, a nivel industrial, comercial, farmacéutico, entre otras, en especial, las algas pardas ya que albergan compuestos con amplia capacidad de aplicación, como los fucoidanos, alginatos, lignina, florotaninos [31].

En algunas especies, los alginatos pueden constituir hasta el 20% - 40% del peso seco. Estos compuestos al ser químicamente complejos no son rentables para su síntesis química, por lo cual se siguen extrayendo de algas recolectadas. Los alginatos, son polisacáridos utilizados en diversas industrias, ya que gelifican soluciones acuosas, por lo que pueden ser usados como aditivos espesantes en alimentos y en la industria textil, farmacéutica, entre otros [32].

1.3.1 Biocombustibles

Son un tipo de combustible energético derivado de fuentes orgánicas, denominadas biomasa, esta se obtiene a partir de plantas y otros residuos agroindustriales. Los biocombustibles son utilizados para sustituir a los combustibles no renovables que se obtienen de materia prima fósil (petróleo) [33].

Al aumentar la demanda mundial de energía, se han disminuido las fuentes de combustibles fósiles, es por esto, que los biocombustibles han surgido como alternativa, ya que pueden producirse por medio de biomasa renovable. Ante esta problemática, las macroalgas pueden ser una fuente prometedora para la producción de biocombustibles. El uso de biomasa de macroalgas presenta ventajas importantes en comparación con la biomasa terrestre, ya que no hay competencia por el uso de tierras agrícolas, agua dulce y fertilizantes, además de no competir con productos que regularmente se cultivan para consumo humano [18], [31].

Las macroalgas se consideran un recurso renovable y neutro en carbono (C), actualmente se clasifican como biomasa de tercera generación que puede utilizarse en la producción de bioenergía. Al contar con especies ricas en carbohidratos es adecuada para la producción de bioetanol y otro tipo de biocombustibles. Diversos estudios han propuesto rutas potenciales para la utilización de *Sargassum* como materia prima para la producción de biocombustibles bajo esquemas de bioeconomía circular y biorrefinería. [34], [35].

Una forma de clasificar la extracción de energía es de acuerdo con su procesamiento, en el caso de las macroalgas obtenemos lo siguiente [36]:

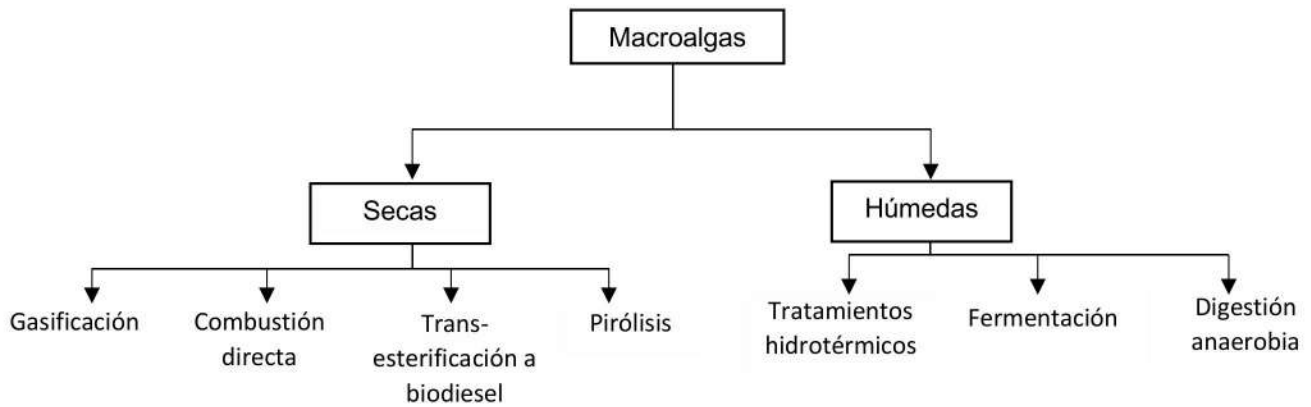


Figura 1.6: Métodos de extracción de energía a partir de macroalgas.

1.3.2 Bioetanol

El bioetanol es un biocombustible líquido, puede producirse a partir de diferentes materias primas de biomasa. Su número de octano es 108, es atractivo debido a su naturaleza renovable de base biológica, además de estar oxigenado (35%), lo que ofrece la posibilidad de reducir las emisiones de partículas en los motores de encendido por compresión [7].

La biomasa lignocelulósica, como residuos agrícolas y cultivos energéticos son las materias principales para la producción de bioetanol de segunda generación al ser el recurso más abundante en el planeta [7]. Otra fuente emergente para el desarrollo de este biocombustible es el sargazo proveniente de las playas costeras, el cual sugiere ser un material apto para la producción de bioetanol por medio de estrategias como un pretratamiento, hidrólisis o sacarificación y fermentación simultánea para terminar con la destilación. Entre estas propuestas destacan autores como Aparicio et al [7], [35] quienes lograron la fermentación de sargazo mediante un pretratamiento de alta presión el cual disminuyó la presencia de lignina, dejando disponible la celulosa para la sacarificación y fermentación.

1.3.3 Biogás

El biogás se compone principalmente de metano (50 -75%) y dióxido de carbono (25% -50%), otros gases y vapor de agua, se produce a partir de material orgánico complejo descompuesto por microorganismos por medio de digestión anaeróbica. Es una valiosa fuente de energía sostenible, ya que puede utilizarse como fuente de electricidad y calor cuando sea necesario, además puede almacenarse [37].

La digestión anaeróbica es un proceso biológico degradativo, donde materiales orgánicos de un sustrato son convertidos en biogás [37]. Utilizando el proceso de digestión anaeróbica es posible convertir gran cantidad de residuos en subproductos útiles. En este proceso, más del 90% de la energía disponible por oxidación directa se transforma en metano [38].

Los estudios bioquímicos y microbiológicos realizados hasta ahora dividen el proceso de descomposición anaeróbica de la materia orgánica en cuatro fases o etapas [38]:

- Hidrólisis
- Etapa fermentativa o acidogénica
- Etapa acetogénica
- Etapa metanogénica

La utilización de *Sargassum* para la elaboración de biogás es una alternativa viable, debido a su alto contenido de carbohidratos. Cabe destacar que los procesos de digestión anaerobia pueden inhibirse debido a la presencia de polifenoles en el alga, lo cual abre nuevos estudios a futuro para un óptimo tratamiento [39].

1.4 Bioturbosina (SAF)

El término bioturbosina únicamente es utilizado en México como correspondencia al término usado para combustible de aviación (turbosina), globalmente conocido como Jet-A1. Otros conceptos que hacen referencia a este tipo de biocombustible son combustibles alternativos para la aviación o combustibles sostenibles para la aviación (CSA). En inglés se hace referencia a este tipo de combustibles como *alternative aviation fuels*, *jet biofuel*, *biojet*, *green jet fuel* y *sustainable aviation fuels* (SAF) siendo este último el término más utilizado a nivel mundial [40].

El SAF es una opción prometedora para la recuperación y amplio crecimiento del sector de transporte aéreo. Este combustible no solo puede producirse a partir de materia prima biológica, también existen otras alternativas de obtención a través de hidrógeno verde, captura de CO₂, etc.,

mediante diversos procesos de conversión [8]. La tecnología más madura es el hidroprocesamiento de triglicéridos (HEFA), ya que se obtienen altos rendimientos. Los insumos que se han utilizado mayormente para producir SAF, incluyen aceites vegetales (comestibles, no comestibles y residuales), biomasa lignocelulósica (residuos agrícolas y forestales), así como azúcares y almidones (residuos agroindustriales) [41].

Entre las especies que producen aceites no comestibles encontramos [41]:

- *Jatropha curcas*: cultivo energético no alimenticio; puede crecer en suelo improductivo y en condiciones climáticas desfavorable. Tiene alto rendimiento de aceite y es resistente a sequias y plagas. Rendimiento de aceite de 26.4 a 56.9% en peso contenido en la semilla.
- *Camelina sativa*: crece en suelos infértiles, requiere menos fertilizante y puede servir como un cultivo rotacional; se estima que su semilla tiene un contenido de aceite de 33 a 42% en peso y un rendimiento por hectárea de 1 tonelada.
- *Ricinus communis* (Higuerilla): es una planta abundante en todo el país, se adapta a los cambios de temperatura; su semilla tiene un alto contenido de aceite 50 a 70%.
- *Elaeis guineensis* (Palma de aceite): planta con tallo único y esbelto, su rendimiento nacional es de 12.8 toneladas por hectárea, extrayendo hasta el 20% de su peso en aceite crudo.

Otra fuente de biomasa son las microalgas, estas son organismos fotosintéticos que convierten la luz del sol, agua y dióxido de carbono en biomasa y representan el insumo de tercera generación para producir múltiples combustibles incluyendo SAF. Dada su eficiencia fotosintética para producir biomasa, tasas altas de crecimiento y gran contenido de aceite (70-85%), se consideran un insumo importante para producir grandes cantidades de SAF y desarrollarse sustentablemente en el futuro [42].

1.4.1 Composición del SAF

La turbosina fósil contiene alrededor de 8 a 16 átomos de carbono y el Jet A un aproximado del 60% de n-alcanos e isoalcanos, estos obtenidos de la destilación de petróleo crudo. La composición del SAF varía dependiendo de la materia prima y el proceso de producción, siendo principalmente los ciclo, iso y n alcanos de 8, 12 o 16 carbonos. Cabe destacar que el contenido de aromáticos en este tipo de biocombustible es muy bajo o nulo, reduciendo las emisiones de material particulado durante su combustión [43].

1.4.2 Procesos de producción de SAF

Actualmente existen diferentes tecnologías para la producción de SAF- Los principales debido a su certificación por la ASTM (Sociedad Estadounidense para Pruebas y Materiales, por sus siglas en inglés) son la síntesis de Fischer – Tropsch (FT), los procesos de hidrotratamiento (HRJ, Hydroprocessed Renewable Jet) y Queroseno parafínico sintético de alcohol (ATJ-SPK) o alcohol a turbosina [41], [43].

Para llegar al proceso FT, la biomasa sólida es gasificada para obtener un gas sintético conocido como syngas, posteriormente se somete a síntesis FT para obtener con este paso los SPK (queroseno parafínico sintético), convirtiendo el gas de síntesis en cadenas hidrocarbonadas. Esta ruta es la preferida para la producción de combustibles líquidos a partir de gas natural, carbón y biomasa [44], [45].

El proceso de hidrotratamiento consta de dos secciones principales; en la sección reactiva, la materia prima de triglicéridos se convierte por primera vez en hidrocarburos de cadena larga lineal, con hidrógeno y un catalizador sólido a alta presión y temperatura, para ello se realizan reacciones de desoxigenación y descarbonilación, generando agua, monóxido de carbono y dióxido de carbono como subproductos. Los combustibles lineales de cadena larga generados en el primer reactor entran a un segundo reactor, donde se cortan las cadenas y se produce la isomerización. De esta manera las cadenas de hidrocarburos están en rango de C8-C16 correspondientes a la composición del SAF [41].

En cuanto al proceso ATJ-SPK, la materia prima debe ser rica en carbohidratos que a su vez se puedan descomponer en azúcares y convertirse en alcohol, posteriormente el alcohol pasa por un proceso de deshidratación, oligomerización, hidrogenación y fraccionamiento teniendo como producto final parafinas SPK [43].

La Secretaría de Energía (SENER) en su mapa de ruta tecnológica de bioturbosina, menciona los siguientes procesos de obtención de combustible sustentable de aviación [46]:

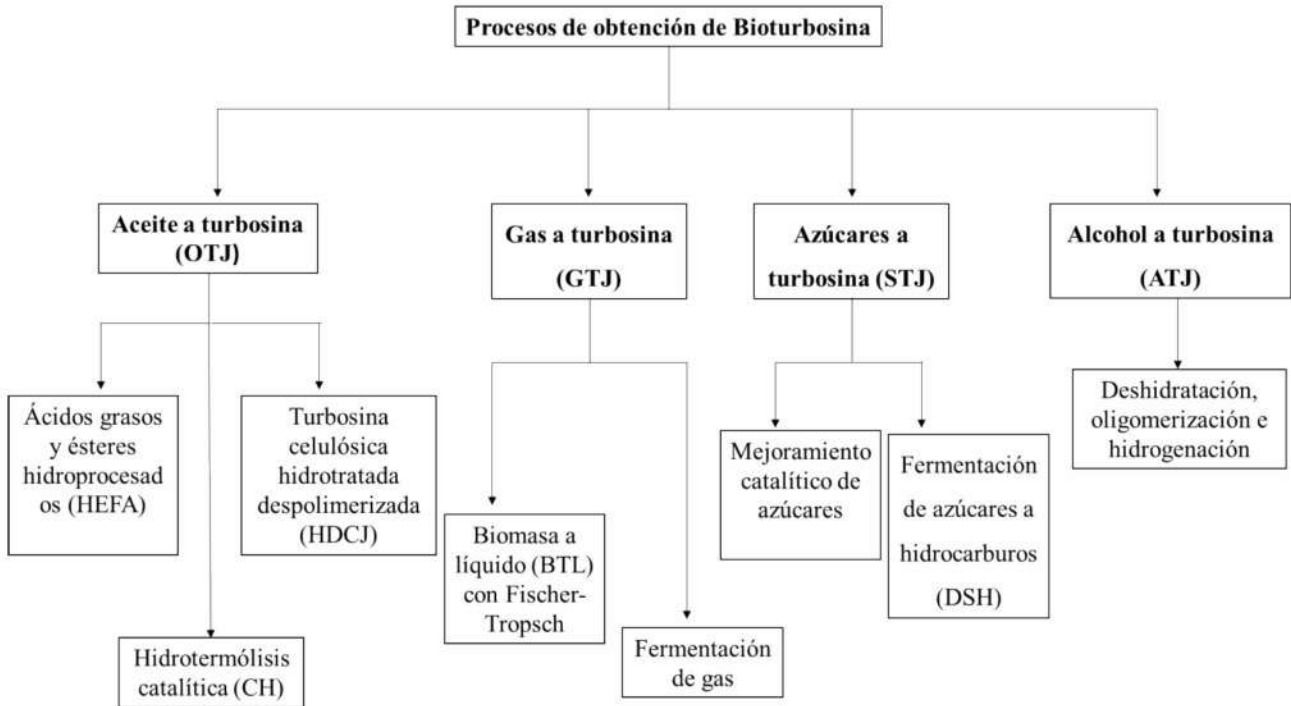


Figura 1.7: Procesos de producción de bioturbosina (SAF) [46].

Para aumentar la sustentabilidad del SAF, es necesario hacer el menor daño posible al recolectar y procesar la materia prima. La principal diferencia entre el SAF con respecto a la turbosina de origen fósil es la ausencia de componentes aromáticos, esto provoca que su densidad esté por debajo del mínimo establecido de acuerdo con las especificaciones requeridas, ya que puede ocasionar derrames en el circuito de distribución de combustible. Estas desventajas se ven mitigadas al mezclar el biocombustible con turbosina fósil. Por esta razón la norma ASTM D7566 establece el uso de mezclas de turbosina fósil + SAF en un rango hasta 50% [45].

A continuación, se muestra una tabla con las características principales y escala potencial del SAF obtenida por distintas rutas de procesamiento [10]:

Tabla 1.1: Características del SAF obtenido por distintas rutas de procesamiento [10].

RUTA PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES	CERTIFICACIÓN	TIPO DE MATERIA PRIMA	COSTO DE MATERIA PRIMA	ESCALA POTENCIAL
FISCHER – TROPSCH (FT)	ASTM 2009 Máximo 50% de mezcla con combustible fósil	Biomasa de residuos de madera y agricultura (Lignocelulósicos)	Bajo	Muy grande
ÁCIDOS GRASOS HIDROPROCESADOS (HEFA)	ASTM 2011 Máximo 50% de mezcla con combustible fósil	Aceites vegetales, aceites usados de la industria alimentaria, grasas animales, aceite de algas	Alto para aceites comestibles Medio para grasas animales	Media
OLIGOMERIZACIÓN DE ALCOHOLES EN EL COMBUSTIBLE PARA LA AVIACIÓN (ATJ)	En proceso de certificación ASTM	Azúcares Almidones	Medio	Media
HIDROCARBUROS DIRECTOS DEL AZÚCAR (DSHC)	ASTM 2014 Máximo 10% de mezcla con combustible fósil	Azúcares Materiales celulósicos	Medio	Media
ACEITE DE PIRÓLISIS HIDROGENADO (HPO)	En proceso de certificación ASTM	Madera (Lignocelulósico) Biomasa	Medio	Media

1.4.3 Normatividad

La ASTM es una de las organizaciones internacionales de estándares más grande del mundo. El trabajo de ASTM se aplica desde el acero hasta la sostenibilidad, incluyendo los combustibles, en este caso el SAF. Debido a la creciente demanda de combustible de aviación, se ha planteado el uso del biocombustible alternativo, por lo cual, la ASTM el 11 de junio de 2011 aprobó la mezcla de hasta 50% de SAF en motores de aviones comerciales y militares [47], [48]

El sector de la aviación prevé un incremento anual de un 5% de 1990 a 2050, por lo que la utilización de combustible para la aviación incrementara un 3% en el mismo periodo. Al ser una de las industrias con mayor impacto ambiental en cuanto a las emisiones de GEI, este sector se ha comprometido con la estabilización de emisiones, por lo que se pretende el mejoramiento de eficiencia de motores para lograr cero emisiones netas al año 2050 [41].

Por su parte, Estados Unidos, por medio de la Administración Federal de Aviación (FAA) estableció la meta de consumir 3750 millones de litros de SAF cada año a partir del 2018 [46]. En cuanto a producción, México ha tratado de alinearse con las iniciativas mundiales, pero aún no existe una estrategia para desarrollar y producir SAF en el país. Según el volumen de pasajeros en 2022 (107 millones), México necesitaría invertir en la construcción o adaptación de al menos cuatro refinerías dedicadas a la producción de SAF [49].

La conformación del CEMIE Bio Clúster Bioturbosina fue otro esfuerzo dirigido a establecer un consorcio de innovación en el tema. Este organismo impulsaba la investigación y desarrollo tecnológico mediante la integración de capacidades y recursos en tres áreas: obtención de biomasa, proceso de transformación y mercado de aviación, sin embargo, no llegó a consolidarse [46].

Unos de los primeros esfuerzos de México para impulsar el uso de energías limpias son la Ley de Desarrollo y Promoción de los Bioenergéticos y la Ley para el Aprovechamiento de Energías Renovables y el Financiamiento de la Transición Energética (LAERFTE), la cual fue abrogada en 2015 y en su lugar se expidió la Ley de Transición Energética (LTE) [50], [51].

1.5 Biomasa lignocelulósica

La biomasa lignocelulósica es el material biorrenovable más abundante en el planeta. Consiste en una matriz compleja, compuesta principalmente por polisacáridos, polímeros fenólicos y proteínas que constituyen la parte esencial de las paredes celulares de plantas. Esta biomasa posee una estructura espacial compleja en la cual la celulosa (un carbohidrato polimérico) se encuentra envuelta por una densa estructura formada por hemicelulosa (otro carbohidrato polimérico) y lignina (un compuesto aromático) [52], [53], esta conformación requiere de la remoción y/o modificación de la lignina para poder acceder a los carbohidratos, para lo cual la biomasa debe ser sometida a pretratamientos específicos en función de las características de la biomasa.

1.5.1 Pretratamientos

La conversión bioquímica de la biomasa lignocelulósica requiere el uso de pretratamientos, ya que cuenta con una estructura polifenólica (lignina) que impide su aprovechamiento. La lignina protege de ataques microbianos y da rigidez a las plantas, por lo que es un material difícil de procesar. Asimismo, mantiene unida a la celulosa y hemicelulosa en la estructura lignocelulósica. Por lo tanto, la acción del pretratamiento permite la degradación/modificación de la lignina, exponiendo a la celulosa y hemicelulosa a las enzimas que convierten los carbohidratos complejos en azúcares simples. Los pretratamientos químicos incluyen métodos ácidos, alcalinos, de deslignificación oxidativa y con solventes ácidos orgánicos como el ácido acético. En general, los pretratamientos químicos son altamente selectivos para materias primas específicas [52], [54].

Los pretratamientos oxidativos facilitan la ruptura de estructuras aromáticas, la sustitución electrofílica, la separación de cadenas laterales y la apertura de enlaces éter alquil-arílicos. En este proceso, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) se transforma en radicales hidroxilo (OH^\cdot), que actúan sobre la biomasa. Sin embargo, el mecanismo es menos selectivo, lo que provoca pérdidas de hemicelulosa y celulosa durante el tratamiento [55].

1.6 Hidrólisis enzimática/ sacarificación

Como se ha mencionado, el pretratamiento es un paso importante, seguido de la hidrólisis y la fermentación de la biomasa pretratada. La hidrólisis de los polisacáridos involucra el rompimiento de las cadenas de carbohidratos para producir azúcares simples. En el caso particular de la

celulosa y hemicelulosa, se produce glucosa y xilosa, respectivamente. Para hidrolizar la celulosa, en principio, pueden emplearse enzimas o compuestos químicos. Sin embargo, la tendencia actual se orienta a la hidrólisis enzimática debido a su factibilidad, mientras que la hidrólisis química requiere de soluciones con altas concentraciones de químicos (ácidos, álcalis o sales), lo cual no es apropiado para el crecimiento de los microorganismos fermentantes [52], [56].

El tratamiento enzimático involucra varias enzimas comerciales como celulasas: endoglucanasas, celobiohidrolasa y celobiasa, amilasas, entre otras. Este tipo de hidrólisis presenta diversas ventajas; requiere menos energía, las condiciones de operación son suaves (pH 4.5-5.0) a temperaturas de 40-50°C, no hay problemas de corrosión y son de baja toxicidad [53].

1.6.1 Fermentación

Es un proceso catabólico anaerobio en donde ocurre la degradación de moléculas orgánicas como la glucosa para obtener energía [57]. La fermentación alcohólica (Figura 1.8) comienza en la conversión de moléculas de glucosa en piruvato (glucólisis), posteriormente el piruvato es transformado en acetaldehído gracias a la acción de enzimas piruvato descarboxilasas (PDC), después con ayuda de la enzima alcohol deshidrogenasa (ADC) se forma etanol, el cual se considera como un residuo metabólico de la extracción de energía a partir de la glucosa [58].

Debido a la presencia de hexosas y pentosas (azúcares de 6 y 5 carbonos) la fermentación óptima de hidrolizados lignocelulósicos se dificulta, ya que, en su mayoría las levaduras utilizadas como *Saccharomyces cerevisiae* solo fermentan hexosas [58], por lo que se han desarrollado diversas estrategias para resolver este problema entre las que tenemos la fermentación en Co-cultivo, fermentación secuencial (SF), sacarificación y fermentación simultánea (SSF) y bio- proceso consolidado (CBP). Estas estrategias plantean resolver el problema de consumo de pentosas realizando la reacción de hidrólisis y fermentación en un mismo reactor con cepas capaces de fermentar hexosas y/o pentosas. Siendo el CBP la más eficiente, ya que un organismo puede producir enzimas y fermentar en el mismo reactor, esto con ayuda de técnicas de biología molecular [59]:

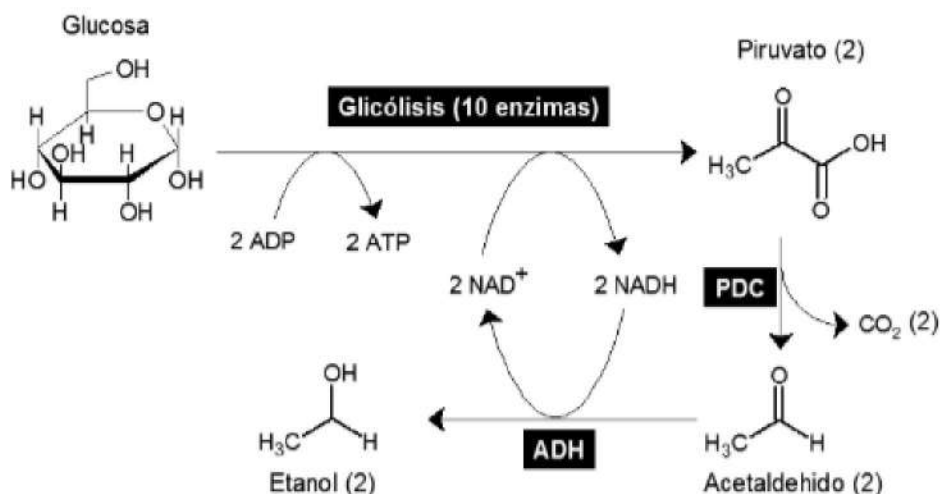


Figura 1.8: Rutas metabólicas para la producción de etanol por medio de levaduras [58].

1.6.2 Levaduras

Son hongos unicelulares (reino Fungi), se reproducen asexualmente por gemación y fisión. Estos microorganismos son utilizados en la producción de pan, cerveza y productos fermentados. Tienen alta importancia científica, industrial y alimenticia, siendo *Saccharomyces cerevisiae* la especie con mayor importancia biotecnológica utilizada principalmente para la fermentación alcohólica [60].

Una de las levaduras que ha sido adoptada por las industrias es *Kluyveromyces marxianus*, ya que posee características beneficiosas para su aprovechamiento como la capacidad de utilizar una amplia gama de azúcares, incluida la lactosa y la inulina, esta levadura puede ser aislada en diversos hábitats, como aguas residuales de industrias azucareras, y plantas. Una de estas fuentes es el henequén, de la cual se aisló una cepa de esta levadura, la cual se nombró Cicy-Ki [61], [62].

Esta levadura se caracteriza por su termotolerancia a temperaturas entre 44 y 52°C , tolerancia a los ácidos y tiene una tasa de crecimiento mayor que *Saccharomyces cerevisiae*. Debido a esto, *Kluyveromyces marxianus* ha mostrado resultados prometedores en la producción de etanol lignocelulósico, empleándose con éxito en procesos de sacarificación y fermentación simultáneas SSF, además ha mostrado aplicaciones potenciales en la producción de hidrocarburos aromáticos [63].

1.7 Hidrogenación de azúcares

El proceso de hidrólisis enzimática descompone cadenas largas de carbohidratos en azúcares simples [52]. Estos azúcares pueden ser fermentados o transformados en otros compuestos mediante reacciones químicas. Además de la producción de etanol a través de la fermentación, los azúcares pueden convertirse en polioles, compuestos de gran interés industrial que no requieren pasar por el proceso de fermentación.

1.7.1 Polioles

Los alcoholes de azúcar o polioles son precursores de una amplia variedad de productos de interés. Estos poseen grupos hidroxilo que pueden ser transformados para obtener compuestos de mayor valor agregado. Los polioles derivados de biomasa (Figura 1.9) con mayor importancia e interés son el sorbitol, manitol, y xilitol, estando presentes en diferentes áreas en la industria. El sorbitol y manitol se obtienen mediante hidrogenación de glucosa, fructosa y manosa, mientras que el xilitol es derivado de la conversión de la xilosa, estas reacciones son llevadas a cabo en presencia de catalizadores [64].

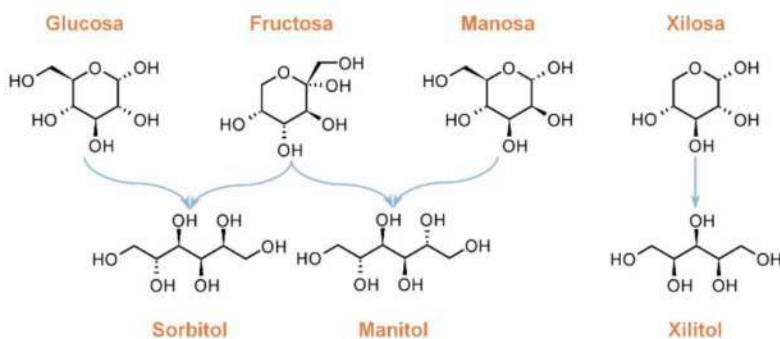


Figura 1.9: Polioles derivados de los principales azúcares presentes en la biomasa lignocelulósica [64].

1.7.2 Catalizadores

Los catalizadores reducen la energía de activación de una reacción al alterar el mecanismo de reacción, algunos catalizadores permiten la formación de productos específicos al tener acceso preferencial a distintos productos. Existen catalizadores homogéneos y heterogéneos, los homogéneos suelen requerir condiciones de reacción más suaves y se encuentran en la misma

fase que los reactivos, mientras que los heterogéneos destacan por su ventaja en la separación de productos ya que suelen ser sólidos o reactivos gaseosos [65].

Los sistemas catalíticos utilizados para la hidrogenación de carbohidratos comparten dos componentes principales; un catalizador de metal de transición (Pt, Ru, Ni, Pd), y un ácido diluido o material de soporte sólido con suficiente acidez (carbono oxidado, sílice-alúmina o zeolitas ácidas) [66] .

El catalizador empleado a nivel industrial para la producción de polioles es el Níquel Raney, debido a su bajo costo, sin embargo, la lixiviación de la fase activa del catalizador hace que se incremente el costo en las etapas de purificación del producto final [64].

Los catalizadores de Paladio (Pd) son empleados en variedad de reacciones orgánicas de hidrogenaciones de hidrocarburos. Este metal, es capaz de reaccionar con el hidrogeno y adsorberlo hasta 900 veces su propio volumen, por lo cual se considera un catalizador eficiente [67].

1.8 Bioeconomía y economía circular

La bioeconomía consiste en la producción y utilización de recursos biológicos teniendo el conocimiento de principios que puedan innovar para brindar bienes y servicios de una forma sostenible, esto engloba desde industrias alimentarias hasta bioenergía y biocombustibles. El concepto de bioeconomía va más allá de la economía circular, haciendo hincapié en la innovación, funcionalidad y propiedades de los productos, siendo parte independiente del concepto de economía circular [68].

Por otro lado, la economía circular es un sistema de aprovechamiento de recursos donde se busca disminuir la producción al mínimo indispensable y cuando sea necesario, con el fin de extraer, producir, consumir, reparar, reusar y reciclar. De acuerdo con la definición [69], la economía circular contempla desde el principio todo el circuito de la cadena de valor (Figura 1.10), tomando en cuenta el uso de los materiales, diseño del producto, forma y modelo de producción, consumo de energía, modelo de consumo y distribución del proceso productivo [70].

El concepto de economía circular presenta una gran relevancia en la evolución de la economía global como una alternativa a la economía lineal que ha sido principalmente adoptada en el pasado. El sistema de economía circular proviene de la generación de recursos, optimizando la sostenibilidad y favoreciendo al medio ambiente [52], [70].

Al ser un concepto global, incorpora diferentes significados, a pesar de tener diversos puntos, se puede resumir en la elaboración de planes de acción definidos apoyados por indicadores específicos [71]. Las fortalezas del sistema de economía circular se dirigen a eliminar los desperdicios de la cadena de valor para lograr el beneficio cuantificable de reducir los costos directos de materiales y disminuir la dependencia de recursos. Asimismo, su incorporación en la fase de investigación y desarrollo da lugar a la fabricación de tecnologías de mayor calidad y duración. Por otro lado, debido a los procesos a lazo cerrado, la economía se encuentra menos expuesta a las fluctuaciones de precios de materias primas resultando en un uso más eficiente de los recursos en términos de volumen y valor [52].

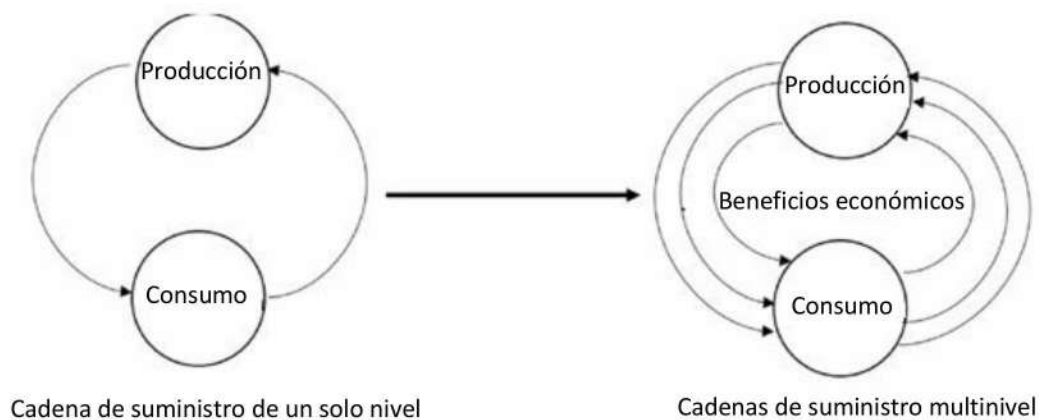


Figura 1.10: Cadena de suministro de un solo nivel a sistema de cadena de suministro multibucle [70].

En este sentido, la producción sostenible de SAF a partir del sargazo se alinea con los principios de la economía circular, ya que permite aprovechar esta macroalga sin recurrir a recursos fósiles como materia prima. Este enfoque no solo da un valor útil al sargazo, sino que también contribuye a la limpieza de las playas, produce una variedad de productos de interés a través de su procesamiento, y reutiliza los residuos generados durante la transformación de la biomasa [72].

1.8.1 Economía del SAF

El transporte aéreo va en constante crecimiento, se calcula que la demanda mundial de pasajeros por tráfico aéreo ha aumentado un 7.4% en 2018. Las proyecciones a 2031 indican un aumento en la flota de aviones en 28, 200 unidades nuevas tanto para pasajeros como para carga, estimando para 2036, 7,800 millones de personas viajando en este medio de transporte [73].

México consume más de 3 200 millones de litros anuales de combustible de aviación, que se distribuye en 62 aeropuertos [74]. Aeropuertos y Servicios Auxiliares (ASA) opera, administra,

construye y conserva aeropuertos, esta empresa paraestatal es la encargada de prestar servicios de suministro de combustibles en la república mexicana. En su catálogo de precios y servicios se encuentra la fórmula de cálculo para el cobro del SAF, la cual muestra el costo del BioKPS (Bio-Queroseno Parafínico Sintético) se integra por los siguientes elementos [75]:

$$BKPS = G + E + R + P + T + S$$

G = Costo del grano/semilla LAB origen

E = Costo de la extracción de aceite LAB en planta, incluyendo el proceso de limpieza físico químico del mismo para el cumplimiento satisfactorio de las especificaciones de calidad requeridas para su refinación.

R = Costo de la refinación del aceite vegetal LAB planta

P = Costos de producción, que incluyen los relacionados al control de calidad, costos de transporte (del lugar de la compra de la semilla al almacén de la aceitera + de la aceitera a la Estación de Combustibles de transición + de la Estación de Combustibles de transición a la frontera + de la frontera a la biorrefinería). Asimismo, incluyen otros costos como manejo de contenedores o isotanques, así como todas aquellas acciones, elementos, equipos y servicios necesarios para la verificación de la calidad y certificación del Bio-keroseno Parafínico Sintético (BioKPS), de acuerdo con la especificación ASTM Internacional D7566 última versión.

T = Costos de transporte, son los costos asociados con el traslado de la refinería a la granja de almacenamiento designada por ASA.

S = Servicios adicionales, representan aquellos costos de naturaleza administrativa y legal no relacionados directamente con la producción del biocombustible, tales como impuestos y gestiones aduanales por exportación e importación de producto.

JUSTIFICACIÓN

En los últimos años, la llegada masiva de sargazo a las playas del Caribe mexicano ha generado serias preocupaciones ambientales, económicas y sociales. Aunque esta alga no representa una amenaza directa en su forma fresca, la acumulación en grandes cantidades en las costas afecta negativamente los ecosistemas, ya que al descomponerse produce lixiviados altamente contaminantes que alteran la biodiversidad marina y pueden impactar la salud humana. Esto también tiene repercusiones en la industria turística, que es fundamental para la economía local.

Dado que el sargazo es una fuente rica en carbohidratos y otros compuestos de valor, su aprovechamiento mediante biotransformación ofrece una oportunidad para reducir su impacto negativo, generar valor económico y promover una economía circular. Transformar estos carbohidratos en precursores de combustibles sostenibles para aviación (SAF, por sus siglas en inglés) contribuiría a mitigar la acumulación de sargazo en las costas, reduciendo su impacto ambiental y aprovechando esta biomasa en una aplicación con gran potencial de sustentabilidad, además de ayudar a disminuir las emisiones de gases de efecto invernadero.

El CO₂ es el principal gas emitido por la industria del transporte, que genera el 75% de las emisiones globales de gases de efecto invernadero. En México, este sector aporta el 25.1% de las emisiones nacionales, según el Instituto Nacional de Gases de Efecto Invernadero [76]. Con el crecimiento de la demanda de transporte aéreo, se han implementado estrategias para incorporar una fracción creciente de SAF en la turbosina fósil. En México, por ejemplo, se desarrolló el “Plan de Vuelo para los Biocombustibles Sustentables” en 2010 y 2011, el cual establece que el SAF puede reducir las emisiones de GEI en más del 50% en comparación con la turbosina fósil. Por ello, a nivel mundial se busca incrementar gradualmente la proporción de SAF en los vuelos, con la meta de alcanzar un 50% para el 2050 y lograr vuelos con un 100% de SAF en las próximas décadas en aviones preparados para su uso.

HIPÓTESIS

El proceso de bioconversión aplicado en la biomasa de *Sargassum* spp. generará carbohidratos que pueden ser utilizados como precursores en la producción de bioturbosina.

OBJETIVO GENERAL

Obtener monómeros de carbohidratos como base para la producción de bioturbosina a partir de biomasa de *Sargassum* spp.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Caracterizar la materia prima (*Sargassum* spp.) mediante la cuantificación de carbohidratos y lignina.
2. Evaluar el efecto de un proceso oxidativo sobre la conversión de la biomasa de sargazo.
3. Hidrolizar enzimáticamente el sargazo pretratado con un proceso oxidativo.
4. Caracterizar la biomasa sólida residual y fracción líquida obtenida de la hidrólisis enzimática.
5. Establecer una ruta de producción de bioturbosina a partir de los productos obtenidos.

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Estrategia experimental

Para la ejecución de este trabajo se propuso la siguiente ruta para la obtención de compuestos precursores de bioturbosina a partir de *Sargassum* spp.:

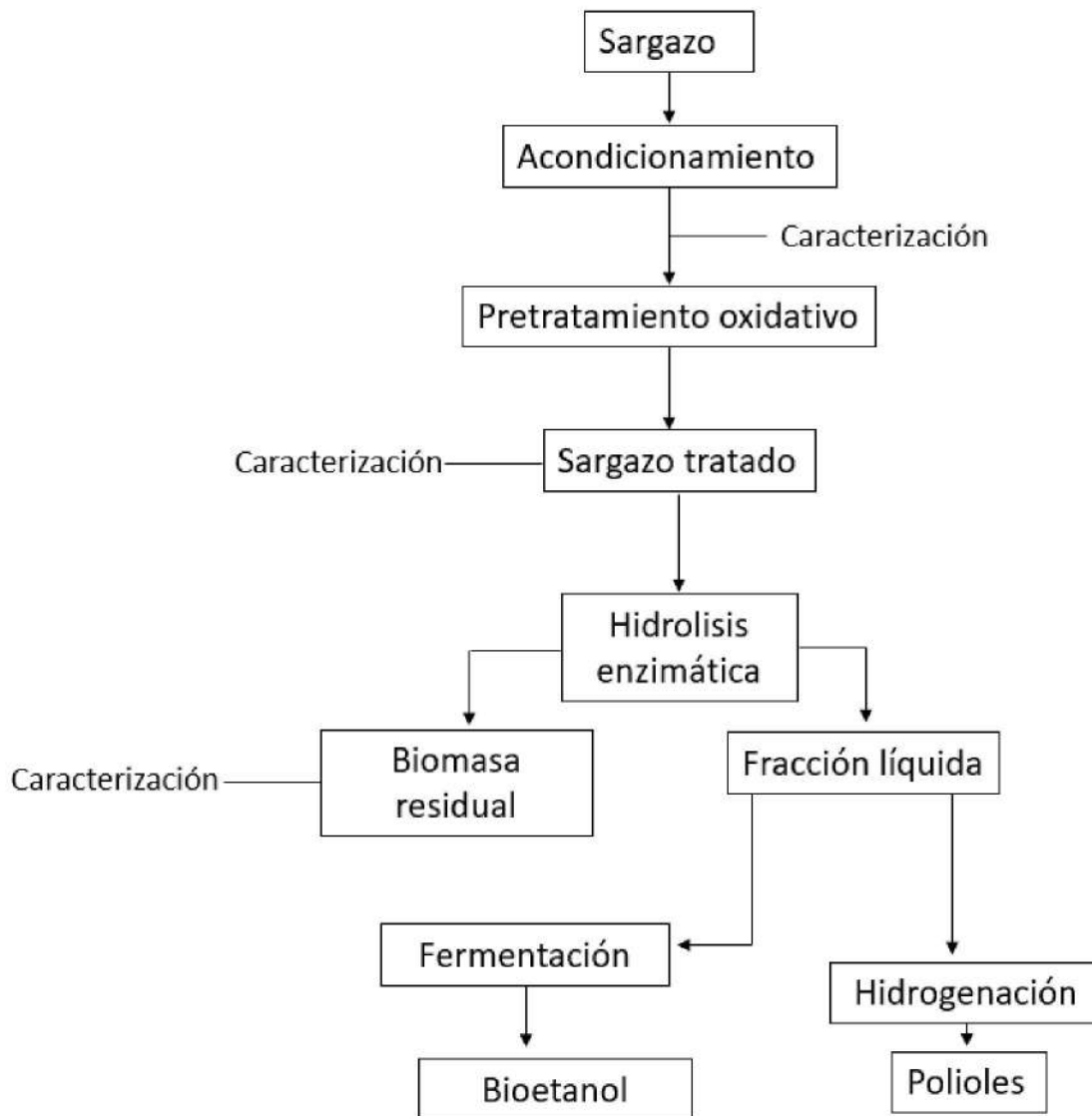


Figura 2.1: Estrategia experimental para la obtención de compuestos precursores de bioturbosina (SAF).

2.2 Colecta y acondicionamiento de la biomasa

El sargazo se colectó en el noroeste de Quintana Roo, México en mayo 2022 y 2023 (figura 2.2), el muestreo se realizó a 150 metros de la orilla de la playa. La muestra recolectada se almacenó a 4°C hasta su posterior acondicionamiento.

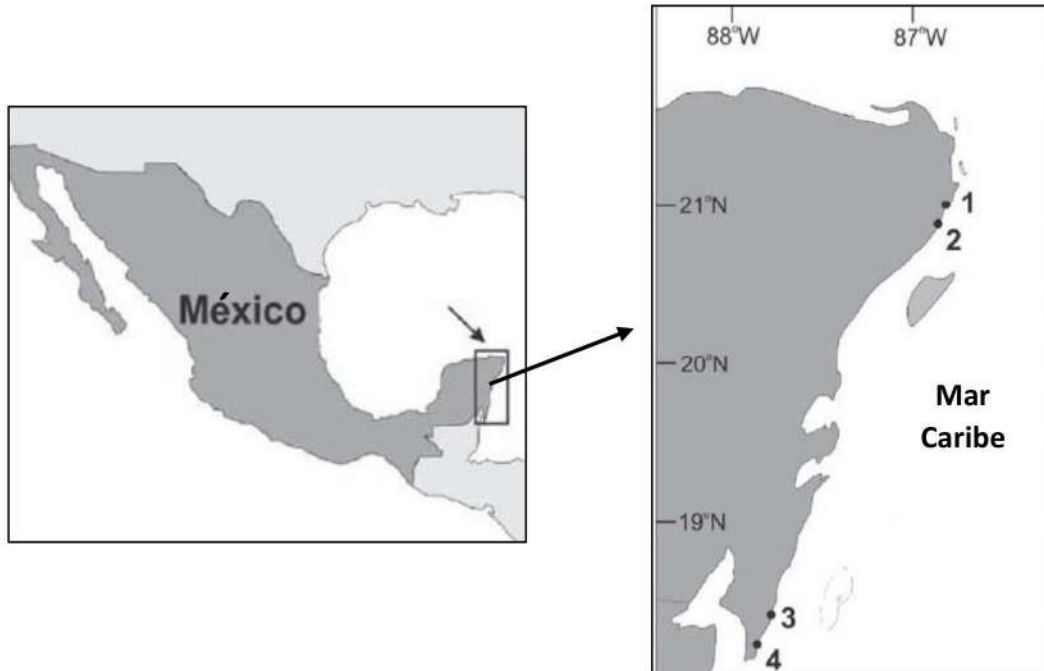


Figura 2.2: Sitio de colecta de la biomasa de sargazo en las Costas del Caribe mexicano [3].

La materia prima (BS) se lavó con agua potable con el fin de retirar restos de arena y sales que pudiera contener y fue expuesta al sol por 24 horas. El material seco se molió con un molino Pagani Serie 25 y se pasó por tamices de tamaño de malla 50 y 20 obteniendo partículas entre 300 y 850 micras. El material tamizado se almacenó en bolsas herméticas a temperatura ambiente hasta su análisis [5], [53].

2.3 Caracterización de la biomasa

2.3.1 Contenido de humedad y cenizas

La determinación de humedad se llevó a cabo por medio del protocolo NREL/TP-510-42622 [77]. Para esto se colocó un crisol de porcelana a peso constante durante 4 horas a 103 °C en un horno Binder. Posteriormente se registró su peso en una balanza analítica OAHUS Pioneer® y se agregaron 0.5 g de sargazo seco en el crisol. Enseguida, el crisol con la muestra se colocó en un horno “Binder” hasta obtener el peso constante del recipiente más la muestra. Una vez registrado ese peso, se obtuvo el contenido de humedad (%H) de la muestra mediante la siguiente fórmula [5]:

$$(\%H) = \frac{(\text{Peso crisol} + \text{muestra húmeda}) - (\text{Peso crisol} + \text{muestra seca})}{\text{Peso de la muestra}} * 100$$

El contenido de cenizas se realizó por triplicado, introduciendo el crisol a peso constante con la muestra a una mufla “Vulcan 3-550” con programa de rampas, la cual se calentó a 105°C a temperatura constante por 12 minutos, posteriormente se manejaron dos incrementos; uno a 250 °C por 30 minutos y luego 575 °C por 3 horas. Una vez terminado el proceso, el crisol se enfrió en un desecador por una hora para después registrar el peso de las cenizas con ayuda de una balanza analítica.

El porcentaje total de cenizas fue calculado por medio de la siguiente fórmula [5]:

$$\% \text{Cenizas totales} = \frac{(\text{Peso crisol} + \text{cenizas}) - \text{Peso crisol}}{\text{g muestra}} * 100$$

2.3.2 Análisis elemental CHNS

La muestra se trituró hasta obtener un tamaño de partícula inferior a 0.5 mm y se mantuvo a 70°C por 24 horas para eliminar la humedad. Se colocaron 8 mg de muestra dentro de un recipiente de estaño. La determinación se realizó en un equipo Thermo Scientific modelo Organic Elemental Analyzer Flash 2000, con el software Eager Xperience versión 1.4. Esto se llevó a cabo por duplicado antes y después del pretratamiento e hidrólisis enzimática [5].

2.3.3 Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)

Las muestras se analizaron en un espectrómetro Burker modelo FT-IR Tensor II, el análisis se realizó en Reflexión Total Atenuada (Platinum ATR) y se obtuvieron los espectros a una resolución de 4 cm⁻¹ con 32 escaneos en la región de 4000-500 cm⁻¹ [78].

2.3.4 Cuantificación de lignina y carbohidratos

Para el análisis del contenido de lignina y carbohidratos se realizó una hidrólisis con ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 72% (v/v) siguiendo el método NREL/TP-510-4268 [79] el cual consiste en pesar ±500 mg de muestra en tubos de ensayo de 25 mL, posteriormente se agregaron 5 mL del ácido sulfúrico y se agitó en agua a 35 °C por una hora. Transcurrido el tiempo la mezcla se trasladó a un frasco de almacenamiento de 250 mL con taparroasca, posteriormente se añadió agua destilada hasta alcanzar un peso de 148.7 gramos. Los frascos se llevaron a una autoclave por una hora a 121 °C para completar la reacción.

Para recuperar la fracción sólida, las muestras se filtraron con filtros Gooch poro "M" previamente a peso constante, recuperando la fase líquida y lavando de tres a cuatro veces para retirar residuos del ácido. Los filtros con la fracción sólida fueron secados en un horno "Binder" a 105 °C hasta alcanzar un peso constante, para luego pesarlos y calcular el contenido de lignina mediante la siguiente fórmula:

$$\%Lignina = \frac{(\text{Peso filtro} + \text{muestra seca}) - (\text{Peso filtro})}{g \text{ muestra}} * 100$$

2.3.5 Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

La fracción líquida fue usada para cuantificar los carbohidratos presentes en las muestras de sorgazo mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC-High Performance Liquid Chromatography) [5].

Para llevar a cabo el procedimiento, se utilizó una columna Metacarb 87H 300 x 7.8 mm (Aglient) bajo las condiciones siguientes: Fase móvil H₂SO₄ (0.005M), flujo 0.4 mL/min, temperatura del detector a 35 °C, temperatura de columna 50°C, las muestras se filtraron usando una membrana de 0.45 µL (Aglient), se inyectaron 20µL de muestra.



Figura 2.3: Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución HPLC con columna Metacarb 87H 300 x 7.8 mm (Aglient).

2.4 Pretratamiento

Se realizó un pretratamiento para facilitar los procesos de aprovechamiento mediante la disminución de lignina utilizando una solución de H_2O_2 como agente oxidante a una concentración del 10% (v/v), con una carga de trabajo del 10% (w/v), se mantuvo en constante agitación por 3 horas a 40 °C y 150 rpm. Luego, se filtró la solución lavando la parte sólida y recuperando la fracción líquida, para posteriormente analizar ambas fracciones recuperadas [80].

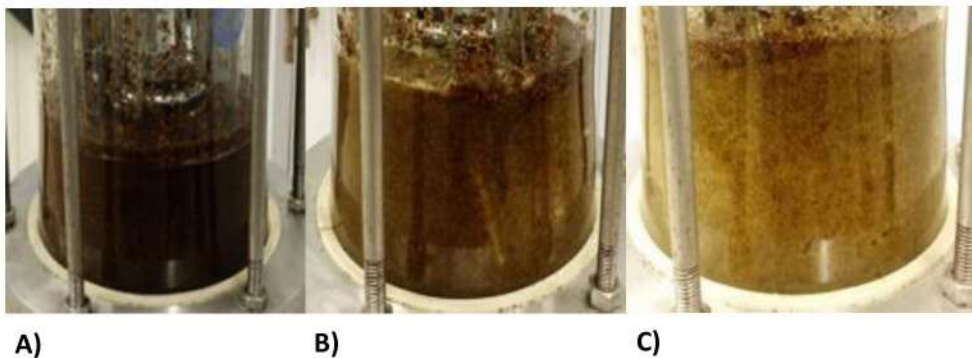


Figura 2.4: Deslignificación oxidativa de *Sargassum* spp. A) Sin pretratamiento; B) Aplicación de pretratamiento; C) Sargazo pretratado.

El funcionamiento del tratamiento se evaluó por medio de hidrólisis ácida y HPLC, la fracción líquida obtenida por efecto del pretratamiento se almacenó a 4°C para su caracterización por cromatografía líquida, mientras que la biomasa sólida o sargazo deslignificado (SP) fue utilizada para el proceso de hidrólisis enzimática.

2.5 Actividad celulasa (FPU)

La actividad celulasa del complejo enzimático está diseñada para medirse en unidades de papel filtro (FPU) por mililitro de solución enzimática y se determinó usando la metodología del Laboratorio Nacional de Energía Renovable (NREL/TP-510-42628) [81]. Como sustrato se utilizaron tiras de papel filtro Whatman N°1 de 1 x 6 cm, con un peso aproximado de 50 mg, las cuales se colocaron en tubos de ensayo con 1 mL de buffer de citratos 0.05 M, pH 4.8 y se incubaron a 50°C por 10 minutos. Posteriormente se añadieron 0.5 mL de enzima diluida 1:20 a cada tubo y se incubaron a 50°C por 60 minutos; pasado el tiempo de incubación se agregaron 3 mL de reactivo DNS y se hirvieron por 5 minutos junto con los blancos de glucosa a diferente concentración (6.7, 5, 3.3, 2 mg/mL). Terminado el tiempo de reacción se dejaron reposar los tubos y se tomaron 0.200 mL de reacción revelada con 2.5 mL de agua destilada para su lectura en el espectrofotómetro a 540 nm.

2.5.1 Hidrólisis enzimática

El sargazo deslignificado (SP) se sometió a una hidrólisis enzimática. Se utilizó el complejo de enzimas celulasa Accellerase® 1500 adquirido de Dupont. Este cóctel enzimático contiene actividades enzimáticas exoglucanasa, endoglucanasa, hemicelulosa, beta glucosidasa entre otras, útiles para la hidrólisis de la celulosa [82].

Las reacciones enzimáticas se realizaron en matraces Erlenmeyer de 250 mL, utilizando cargas de trabajo de 1%, 3% y 5% (p/v). Se utilizó una relación enzima/sustrato de 0.125, 0.25 y 0.5 mL/gramo de biomasa (10.27, 20.55 y 41.11 FPU/g biomasa) y buffer de citratos 0.05 M a un pH de 4.8 [83]. Las muestras permanecieron en agitación por 24 horas a 50°C a 150 rpm. Se tomó una muestra de los ensayos cada tres horas, a partir del tiempo de incubación para medir azúcares reductores por el método DNS [84]. Cada ensayo se llevó a cabo por triplicado con una nomenclatura de identificación.

Posteriormente cada muestra fue filtrada con un embudo Büchner con papel filtro, conectado a una bomba de vacío recuperando la fase líquida (hidrolizado de sargazo) para su posterior análisis DNS y HPLC. El sólido remanente se mantuvo a peso constante en un horno "Binder", para posteriormente pesarlo y evaluar la degradación de la biomasa. Se repitió el mismo procedimiento para la hidrólisis enzimática de sargazo sin pretratamiento, cada ensayo se evaluó por triplicado.

2.5.2 Cinética enzimática

Para evaluar la cinética enzimática del complejo Accellerase® 1500 (Dupont) sobre la biomasa de sargazo, se preparó una serie experimental. Se evaluaron las diferentes cargas sólidas utilizadas para la hidrólisis enzimática (0, 0.5, 1.5, 2.5 g PSB) con las respectivas cargas enzimáticas: 0.125, 0.25 y 0.50 mL de enzima/g sargazo pretratado. Todos los experimentos se llevaron a cabo a 50 °C y pH 4.8 durante 24 horas. La concentración de glucosa a lo largo del tiempo se determinó mediante el método de Miller [84]. Los datos experimentales se ajustaron al modelo de Michaelis-Menten utilizando el software MATLAB con la función “Ajustar modelo de regresión no lineal” para estimar los coeficientes V_{max} y K_m , junto con métricas estadísticas estándar como el error cuadrático medio y R^2 para evaluar el ajuste del modelo.

$$V = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$

Donde:

V: la velocidad de reacción

V_{max} : es la velocidad máxima de la reacción

[S]: concentración del sustrato

K_m : Constante de Michaelis-Menten

2.5.3 Cuantificación de azúcares reductores DNS

Las muestras líquidas obtenidas durante la hidrólisis enzimática, que se definieron como SPH, se procesaron para determinar los azúcares reductores mediante el método colorimétrico Miller por medio de la reacción del ácido 3,5- dinitrosalicílico o DNS, el cual actúa únicamente con los azúcares reductores de la muestra mediante una reacción redox [84]. Para obtener la concentración de azúcares reductores se realizó una curva de calibración con estándares conocidos de glucosa (0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/mL) [85].

Para llevar a cabo la reacción se realizó una dilución 1:4 en tubos de ensayo de 10 mL, para obtener 1 mL de la solución a analizar; posteriormente se añadió 1.5 mL de reactivo DNS. Una vez mezclado el reactivo en los tubos con muestra, se llevaron a una temperatura de 100°C por 5 minutos, pasado el tiempo se detuvo la reacción añadiendo 7.5 mL de agua destilada. Las

muestras se leyeron en un espectrofotómetro Jeanway 6405 UV/VIS a una longitud de onda de 540nm, cada ensayo se realizó por triplicado.

2.6 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La microscopía electrónica de barrido SEM por sus siglas en inglés (Scanning Electron Microscopy) se realizó con un microscopio electrónico SEM, JSM-6360L, JEOL, Tokio, Japón, con un haz de electrones focalizado en un área específica de la muestra. Las imágenes se obtuvieron mediante la detección, procesamiento y visualización de las señales resultantes entre un haz de electrones de alta energía con la materia, las cuales proporcionan información sobre la composición y estructura de la muestra [86].



Figura 2.5: Microscopio Electrónico de Barrido (SEM), JSM-6360L, JEOL

2.7 Obtención de compuestos precursores de bioturbosina (SAF)

Una vez realizada la hidrólisis enzimática, el hidrolizado de sargazo (SPH) se llevó a un rotavapor Buchi® R-210 (Figura 2.6), donde se concentró a 70 mbar y 45°C para obtener una solución acuosa con 50% en volumen de azúcares solubles.

El líquido concentrado (SPHC) fue sometido a diferentes procesos, el primero fue la hidrogenación para producir alcoholes de azúcar, el segundo consistió en fermentar el hidrolizado para obtener bioetanol. Ambos precursores pueden entrar a una secuencia de reacciones de deshidratación y condensación para generar los hidrocarburos de interés [87].



Figura 2.6: Rotavapor Buchi® R-210

2.7.1 Obtención de polialcoholes por hidrogenación

El catalizador de Paladio/Carbón (Pd/C) utilizado en la hidrogenación fue analizado mediante difracción de rayos X (DRX) con el objetivo de analizar las propiedades estructurales y cristalinas que permiten su óptimo desempeño, utilizando un refractómetro Bruker D8-Advance, a un voltaje de 30 kV. Los datos se tomaron a temperatura ambiente en el rango 2θ de 10 a 85° , tiempo 0.4 s, incremento 0.1 y apertura del detector de 4.8° .

Para la hidrogenación del hidrolizado de sargazo (SPHC) se utilizó un catalizador comercial de 5% Paladio/Carbón (Pd/C) Sigma Aldrich® el cual se redujo a 230°C por 3 horas con un flujo de H_2 de 100 mL/min en un reactor tubular MICROACTIVITY-Reference marca PID Eng & Tech S.L.

Se realizaron pruebas catalíticas en un reactor de alta presión marca PARR de 300 mL equipado con un controlador de temperatura, agitador mecánico para controlar las condiciones de reacción. Para los ensayos se cargaron 100 mL de D-glucosa 5% junto con una carga variable de catalizador de Pd/C (1.0, 0.75, 0.50 g) previamente activado, se evaluaron 2 tiempos de reacción (3 y 5 h) variando las condiciones de agitación (100-600 rpm), en todos los experimentos se utilizó un rango de presión inicial de 35 bar, con una variación de 35-45 bar dependiendo la temperatura de reacción. Se tomó muestra a las 3 y 5h para evaluar la conversión de sustrato y formación de productos. Una vez terminada la reacción se recuperó el catalizador por medio de filtración y se evaluó la formación de alcoholes de azúcar por medio de HPLC.

Para el hidrolizado de sargazo se ajustó el pH a un valor de 9.5 con ayuda de hidróxido de sodio 1M, posteriormente se añadieron 100 mL de la solución a un reactor de alta presión y temperatura, Modelo 4848 PARR® (Figura 2.7) junto con 0.5 g del catalizador Pd/C reducido. La reacción se llevó a cabo por 5 horas a una temperatura de 150°C, 500 rpm y una presión inicial de hidrógeno de 35 bar.



Figura 2.7: Reactor PARR

2.7.2 Obtención de bioetanol por fermentación

2.7.3 Inóculo

Se determinó la viabilidad celular de las levaduras a través de la tinción con azul de metileno, obteniendo la concentración celular con ayuda de la cámara de Neubauer. Para esto se tomaron 10 mL de suspensión de levaduras cultivadas en medio GELP, las cuales se incubaron a 32°C por 24 horas. De esta suspensión se tomó 1 mL y se agregó agua destilada hasta obtener una dilución 1:100 [88].

Se tomó 1 mL de la solución 1:100 y 1 mL de azul de metileno y se homogeneizó para inmediatamente colocar 10 µL en la cámara de Neubauer y observar en un microscopio óptico

(Nikon Eclipse E200) a un aumento de 40x. Se contaron ambos lados de la cámara de Neubauer, y en cada uno 5 cuadrantes diferentes marcados a continuación.

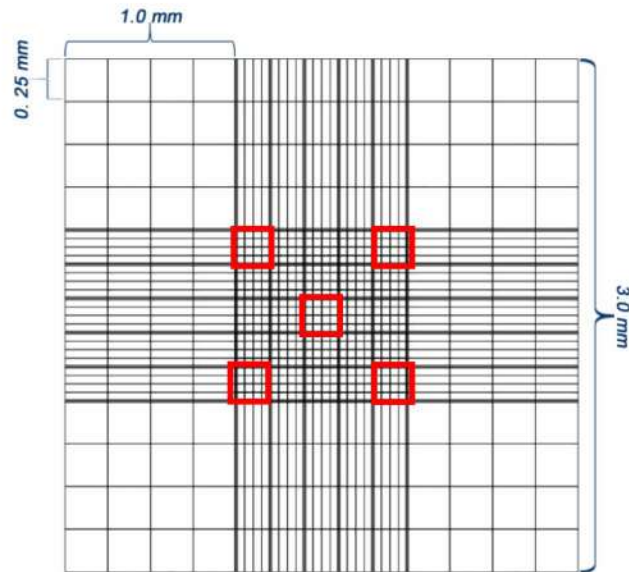


Figura 2.8: Cámara de Neubauer, cuadrantes utilizados.

Una vez contado el volumen de células vivas (blancas) y muertas (azules) se aplicó la siguiente fórmula para evaluar la viabilidad celular de las levaduras:

$$\%Viabilidad = \frac{Total\ células - células\ muertas}{Total\ células} * 100$$

Posteriormente se calcula la concentración celular mediante las siguientes fórmulas:

$$Concentración = 12,500 * Total\ células$$

$$Concentración\ teórica = Concentración * factor\ de\ dilución$$

$$Concentración\ real\ de\ células\ \left(\frac{cel}{mL}\right) = Concentración\ teórica * viabilidad$$

2.7.4 Fermentación

Se evaluaron los líquidos SPHC y SPH con una cepa de levadura *Kluyveromyces marxianus* (Cicy-Ki), preparando matraces de 50 mL a los cuales se agregaron 30 mL de SPHC y SPH por separado, se adicionaron 0.6 mL (2% v/v) de una solución 1N de sulfato de amonio en cada uno, se ajustó el pH a 4.5, se taparon con torundas de algodón y se esterilizaron a 120°C y 15 psi por 20 minutos.

El inóculo con las levaduras se preparó al 4% (v/v) con una concentración de 1×10^6 cel/mL derivado de cultivos en medio líquido GELP con 24 h de crecimiento a 32°C, esto aplicando el conteo con cámara de Neubauer mencionado en la sección 2.7.3 [89].

Se agregaron 52.3 μ L de Cicy-Ki a cada matríz, esto debido a la densidad celular inicial del inóculo. Posteriormente se agitaron los matraces por 5 minutos a 150 rpm, posteriormente permanecieron en incubación a 35°C por 72 h, cada ensayo se realizó por triplicado.

2.8 Análisis estadístico

Se emplearon los programas STATISTICA 10.0 y ORIGIN Pro-9.0 para calcular los promedios y las desviaciones estándar de los datos, así como para realizar un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia de $p < 0.05$, con el fin de identificar diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de hidrólisis enzimática. Todos los análisis se llevaron a cabo en triplicado.

2.8.1 Superficie de respuesta

La evaluación de los tratamientos de hidrólisis enzimática se realizó con la metodología de superficie de respuesta. El experimento fue bifactorial de 3 niveles: 3^2 . Se evaluó el efecto de 2 factores, la concentración de enzima Accellerase 1500®(X) y la concentración de sustrato (Y), siendo la variable de respuesta la concentración de azúcares producto de la hidrólisis (Z), aplicando la siguiente ecuación:

$$Z = \beta_1 + b_2 \cdot X + b_3 \cdot Y + b_4 \cdot X^2 + b_5 \cdot Y^2 + b_6 \cdot X \cdot Y$$

En la siguiente tabla se especifican los valores reales y codificados para este experimento. El diseño compuesto central se evaluó en el software Matlab R2023B®.

Tabla 2.1 Diseño compuesto central

Variables de estudio				
Enzima (X)	Codificación	Biomasa (Y)	Codificación	Azúcares (Z)
mL/g biomasa		g		mg/100 biomasa
0.125	-1	0.5	-1	9.96
0.125	-1	2.5	1	11.34
0.5	1	0.5	-1	11.78
0.5	1	2.5	1	12.67
0.125	-1	1.5	0	11.33
0.5	1	1.5	0	13.11
0.25	0	0.5	-1	11.71
0.25	0	2.5	1	12.47
0.25	0*	1.5	0*	12.85
0.25	0*	1.5	0*	12.69
0.25	0*	1.5	0*	12.32

X, Y; variables independientes; Z variable de respuesta; *Punto central

CAPÍTULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización de la biomasa

Los resultados de la caracterización de sargazo mayo 2022 y 2023 se observan en la Tabla 3.1 La biomasa se manejó con una humedad de 16.57%. Las cenizas indicaron la presencia de material inorgánico como metales y sales después de la combustión total de la materia orgánica. En el sargazo colectado en Puerto Morelos, las cenizas representaron un 19.25% en el año 2022 y 16.36% en 2023 (Tabla 3.1), valores inferiores a la investigación de Azcorra et al [90] (21.13%) y Aparicio et al [35] (20.27%) en las costas del Caribe Mexicano en Puerto Morelos en los años 2020 y 2019 respectivamente. Sin embargo, los valores son similares a lo reportado por Paredes et al [91] quienes indican un contenido de 18.40%-19.30% en biomasa colectada en Puerto Morelos Q. Roo en el año 2019.

El contenido de cenizas en las especies de sargazo varía significativamente debido a factores como la ruta de la biomasa desde su origen hasta la playa, así como el tiempo de residencia en la costa y las condiciones ambientales del medioambiente donde se desarrolla [26], se ha observado una variación entre 10%-30%, lo cual indica que los valores obtenidos se encuentran dentro del rango establecido para las especies de *Sargassum* spp. [80].

El análisis elemental de sargazo del año 2023 mostró un contenido de carbono (C), hidrógeno (H), nitrógeno (N) y azufre (S) de 37.62%, 5.07%, 0.98%, 0.78% respectivamente, valores de C y H por encima de lo reportado por Chikani [92] (33.84% y 5.06%), mientras que el N y S mostraron mayor concentración (1.39% y 1.21%) en sargazo recolectado en las costas del caribe mexicano 2021 con una relación C/N 24.26. Mientras que en muestras de sargazo proveniente de las islas Turcas y Caicos 2019 [93] se muestra un menor porcentaje de C (27.41%) y mayor para N (1.71) obteniendo una relación C/N de 16.08, mientras que en este estudio se determinó una relación C/N de 38.38.

Tabla 3.1: Caracterización Sargazo mayo 2022 y 2023. P. Morelos, Q. Roo, México.

Contenido (% en peso)					
Año	Cenizas	Lignina	Glucosa	Xilosa	Fucosa
Mayo 2022	19.25	29.50	5.22	1.99	2.63
Mayo 2023	16.36	26.43	6.05	1.71	1.10

3.2 Pretratamiento

Para el sargazo pretratado, los valores de cenizas obtenidos para el año 2022 y 2023 fueron 17.28% y 16.24% respectivamente (Tabla 3.2) los cuales no tuvieron una variación significativa respecto a la biomasa sin pretratamiento, esto pudiera deberse a que gran parte del contenido inorgánico permaneció en la biomasa.

En cuanto al análisis elemental se observó un aumento en el porcentaje de C, N y S (38.96%, 1.66% y 0.84%) mientras que el H disminuyó (4.87%), por lo tanto, la relación C/N (23.46) coincide con los rangos específicos para utilizar la biomasa para diversos bioprocesos [94]. La relación C/N sirve como un indicador importante para evaluar el estado nutritivo de la biomasa de sargazo, que puede influir en su papel ecológico y usos potenciales en diversas aplicaciones, como el compostaje, biogás, fermentación, entre otros [26]. En este caso, el aumento del contenido de C en la biomasa resulta favorable para los procesos de hidrólisis enzimática y fermentación que se realizaron, ya que las enzimas y los organismos, en este caso las levaduras tienden a procesar la biomasa en relaciones C/N en el rango de 25 a 35 [95].

Respecto al contenido de carbohidratos después del pretratamiento oxidativo, se observa un aumento en la disponibilidad de glucosa, xilosa y fucosa. Para el contenido de glucosa, la muestra del 2022 pasó de 5.22% a 10.61% después del pretratamiento, y en 2023 de 6.05% a 8.34%. esto coincide con lo reportado por Azcorra et al [80] para el sargazo recolectado en 2022. Por otro lado, Aparicio et al [35] reporta un incremento de 10.40% a 32.33% en el contenido de glucosa como laminarina (como glucano) de *Sargassum spp* colectado en Puerto Morelos (2019), obtenido a partir de un pretratamiento hidrotérmico a altas temperaturas (190°C, 50 min).

Tabla 3.2: Caracterización Sargazo mayo 2022 y 2023 colectado en P. Morelos, Q. Roo, México, después del tratamiento oxidativo (10% v/v H₂O₂, 3 horas).

Contenido (% en peso)					
Año	Cenizas	Lignina	Glucosa	Xilosa	Fucosa
Mayo 2022	17.28	8.73	10.61	2.94	3.80
Mayo 2023	16.24	9.46	8.34	3.19	1.51

La presencia de lignina en la biomasa de *Sargassum* spp. durante los años 2022 y 2023 fue de 29.50% y 26.43% respectivamente (Tabla 3.1). Estos valores son comparables con los del sargazo recolectado en 2019, cuya concentración de compuestos semejantes a lignina varían de 25.40-29.50% [96]. Al aplicar el pretratamiento oxidativo se logró una remoción del 70% del material recalcitrante disminuyendo la presencia de lignina a un 8.73% - 9.46%, esto concuerda con los resultados obtenidos por Azcorra et al [80] donde, con las mismas condiciones operativas obtuvo un rendimiento similar (69.10%). Esto comprueba que, al degradar este compuesto recalcitrante, la matriz de carbohidratos presente en la biomasa presenta una mayor disposición a ser utilizada para procesos de biotransformación como la hidrólisis enzimática para obtener azúcares, lo cual se confirma al realizar la caracterización correspondiente.

3.2.1 Análisis estructural antes y después del tratamiento oxidativo

Los análisis SEM en el sargazo sin pretratamiento (Figura 3.1 - A), determinaron una estructura rugosa cubierta con una especie de pared uniforme que se distribuye por toda la superficie del alga. El sargazo con pretratamiento oxidativo (Figura 3.1 - B) evidenció la exposición de fibras verticales sin el recubrimiento presente en la figura A. Ocurre un resultado similar en lo reportado por Souza et al [97] al trabajar con distintos tipos de pretratamientos para biomasa lignocelulósica, quienes señalaron la degradación de las células parenquimatosas planas que formaban capas sobre las fibras de celulosa, aumentando la disponibilidad a un ataque enzimático (hidrólisis).

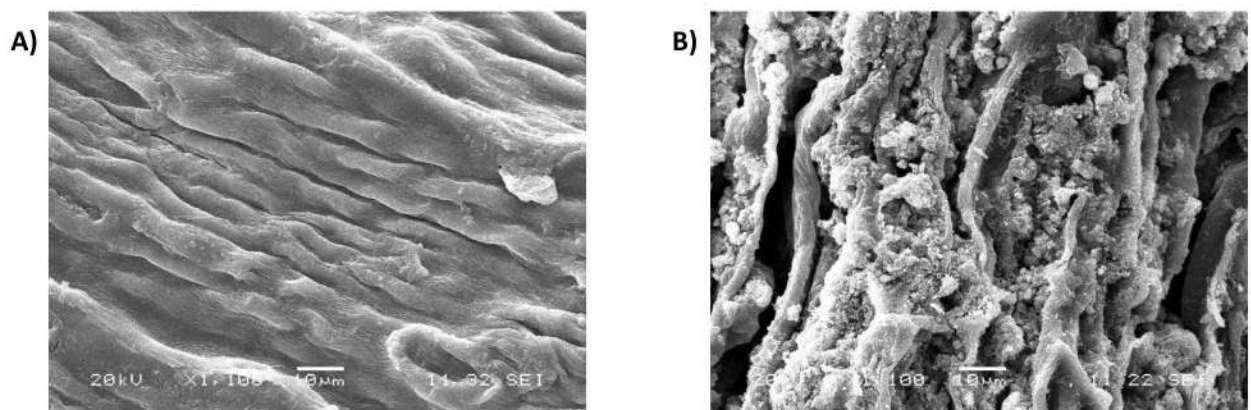


Figura 3.1: Microscopía electrónica de barrido de *Sargassum* spp. A) Control; B) Sargazo pretratamiento oxidativo.

3.2.2 Espectroscopía Infrarroja (FTIR)

El análisis infrarrojo al sargazo antes y después del pretratamiento se observa en la Figura 3.2. La banda encontrada en la longitud de onda entre los 3406 cm^{-1} se atribuye a grupos hidroxilo (-OH) presentes en celulosa, hemicelulosa y lignina [96]. Las bandas alrededor de 1600 cm^{-1} son propias de estiramiento de enlaces C=C asociados a los compuestos aromáticos presentes en la lignina. Por otro lado, las bandas asociadas a la región de hemicelulosa y xilanos provenientes de enlaces B-glucosídicos se encuentra alrededor de los 1055 y 897 cm^{-1} [98].

En el sargazo sin tratamiento (S 2023) se observa cómo existe una mayor exposición en las bandas asociadas a la lignina (1600 cm^{-1}). Después del pretratamiento la vibración de grupos funcionales asociados a la lignina disminuye, lo cual se puede atribuir a la degradación de los enlaces de compuestos fenólicos que la conforman. Por otro lado, existe un aumento en la exposición de la banda de 1055 cm^{-1} en el sargazo tratado, esto posiblemente relacionado a la presencia de celulosa y hemicelulosa libres en el sargazo.

El espectro infrarrojo obtenido en este estudio coincide con muestras recolectadas en diversos estudios para la misma alga y los picos de interés se mantienen en intensidades similares [80], [99]. Thompson et al [98] realizó un tratamiento hidrotérmico a la biomasa, reportando picos de absorción similares al sargazo tratado en este estudio, pero con intensidades más altas en la degradación de compuestos asociados a la lignina.

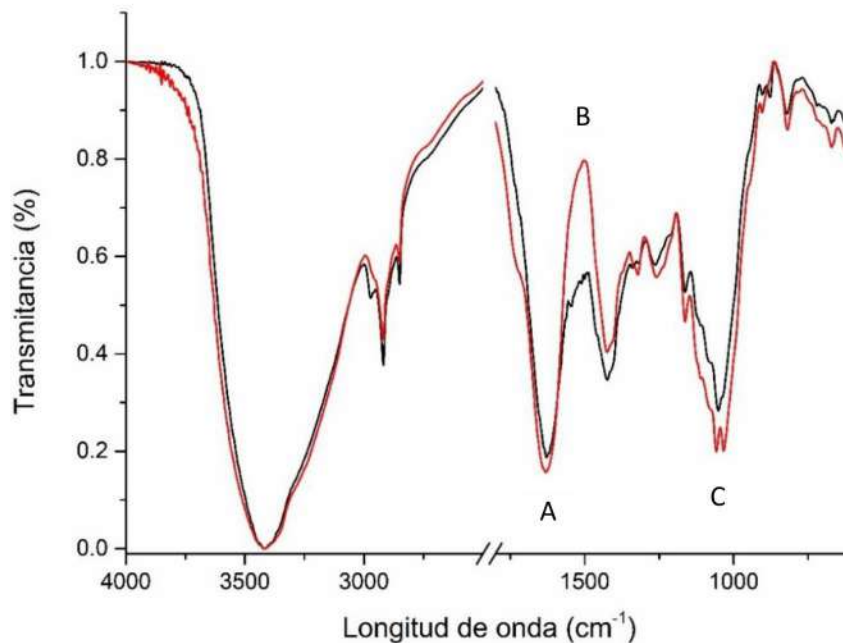


Figura 3.2: FTIR sargazo tratado (banda roja), sargazo sin pretratamiento (banda negra). A: Grupos carbonilo; B: Compuestos aromáticos presentes en lignina; C: Región anomérica de los Xilanos.

3.3 Hidrólisis enzimática

3.3.1 Cinética enzimática

La cinética enzimática permitió comprender como la enzima interactúa con los componentes presentes en el sargazo pretratado, tales como la celulosa, hemicelulosa, la presencia de posibles inhibidores y las condiciones de operación de la hidrólisis enzimática. La Figura 3.3 muestra la cinética de la enzima Accellerase 1500 bajo diferentes concentraciones (0.125mL, 0.25mL y 0.5mL) en función de la concentración de sustrato (sargazo pretratado).

Se puede observar que las tres curvas son características a la de Michaelis-Menten, esto indica que la enzima está alcanzando su capacidad máxima para convertir el sustrato en producto. La diferencia de velocidad máxima de la curva a una concentración de 0.5mL con la de 0.25mL no es muy grande, lo que indica que a este rango de concentraciones la enzima está cerca de su conversión máxima. Es por ello, que para obtener una mejor eficiencia del proceso se optó por elegir la cantidad de enzima media (0.25mL/g sustrato) logrando obtener una velocidad de conversión adecuada sin necesidad de agregar grandes cantidades de enzima.

En la Tabla 3.3 se observan la velocidad máxima y constante de Michaelis-Menten (Km) para las distintas concentraciones de enzima y sustrato. Al evaluar los resultados, se puede inferir que, si priorizamos la velocidad de reacción, el tratamiento con 0.5 (mL/g) de enzima es conveniente. Por otra parte, el tratamiento con mayor afinidad al sustrato y una velocidad considerable es el de 0.25 mL/g.

Tabla 3.3: Parámetros Cinéticos de la Reacción Enzimática a Diferentes Relaciones Enzima/Sustrato

Relación enzima/ sustrato (mL/g)	Sustrato (g)	V max (g/L*h)	Km (g/L)
0.125	0.5	0.95519	0.16887
0.25	1.5	1.043	0.076033
0.5	2.5	1.235	0.18892

Debido a ello, la ecuación cinética para la concentración de enzima a 0.25mL es:

$$V = \frac{1.043 * [S]}{0.076 + [S]}$$

Esta ecuación se utilizó para predecir la velocidad de reacción en diferentes concentraciones de sustrato con una concentración de enzima de 0.25mL/g.

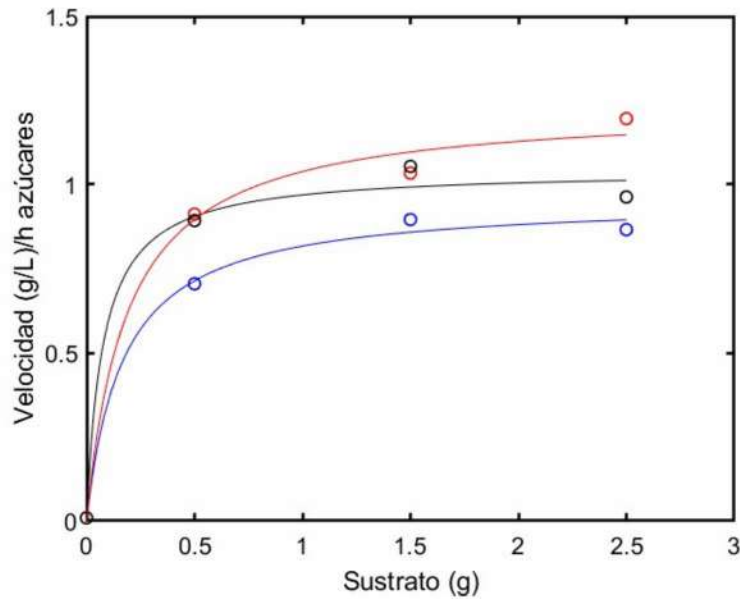


Figura 3.3 Función de cinética enzimática de la hidrólisis de sustrato con diferentes concentraciones de enzima. Línea roja; 0.5 mL/g, Línea negra: 0.25 mL/g; Línea azul: 0.125 mL/g.

3.3.2 Azúcares reductores liberados en la hidrólisis de sargazo

Los tratamientos enzimáticos con la enzima Accellerase 1500 (82.22 FPU/mL) y sargazo pretratado mostraron una mejor sacarificación ya que al eliminar la estructura recalcitrante hubo un mayor acceso a los carbohidratos presentes, mientras que el sargazo sin pretratamiento (Control) no ocurrió una sacarificación significativa. Con respecto al análisis DNS, la carga de trabajo con mayor tasa de sacarificación fue la de 5% (p/v) (Figura 3.4) con una relación enzima sustrato de 0.25 mL de enzima/g de biomasa (20.55 FPU), con una concentración de 12.47 mg de azúcares reductores por cada 100 mg de biomasa y un rendimiento de sacarificación de 75.02% a las 24 horas.

Podemos comparar esta tasa de sacarificación con una misma carga de trabajo, pero una concentración mayor de enzima (0.5 mL/g biomasa), en la cual se obtuvo una concentración de 12.67 mg de azúcares/100 mg de biomasa y un rendimiento del 76.18%, el cual es similar al de la carga intermedia de 0.25.

Evaluando la misma carga de 5% (p/v), en las condiciones descritas anteriormente en sargazo sin pretratamiento, se observó una concentración de azúcares de 1.15 mg por cada 100 mg de

biomasa, y un rendimiento del 6.96%. Esto puede deberse a la presencia de material recalcitrante (lignina) en el sargazo [96], lo cual impide acceder a la matriz de carbohidratos para su aprovechamiento óptimo.

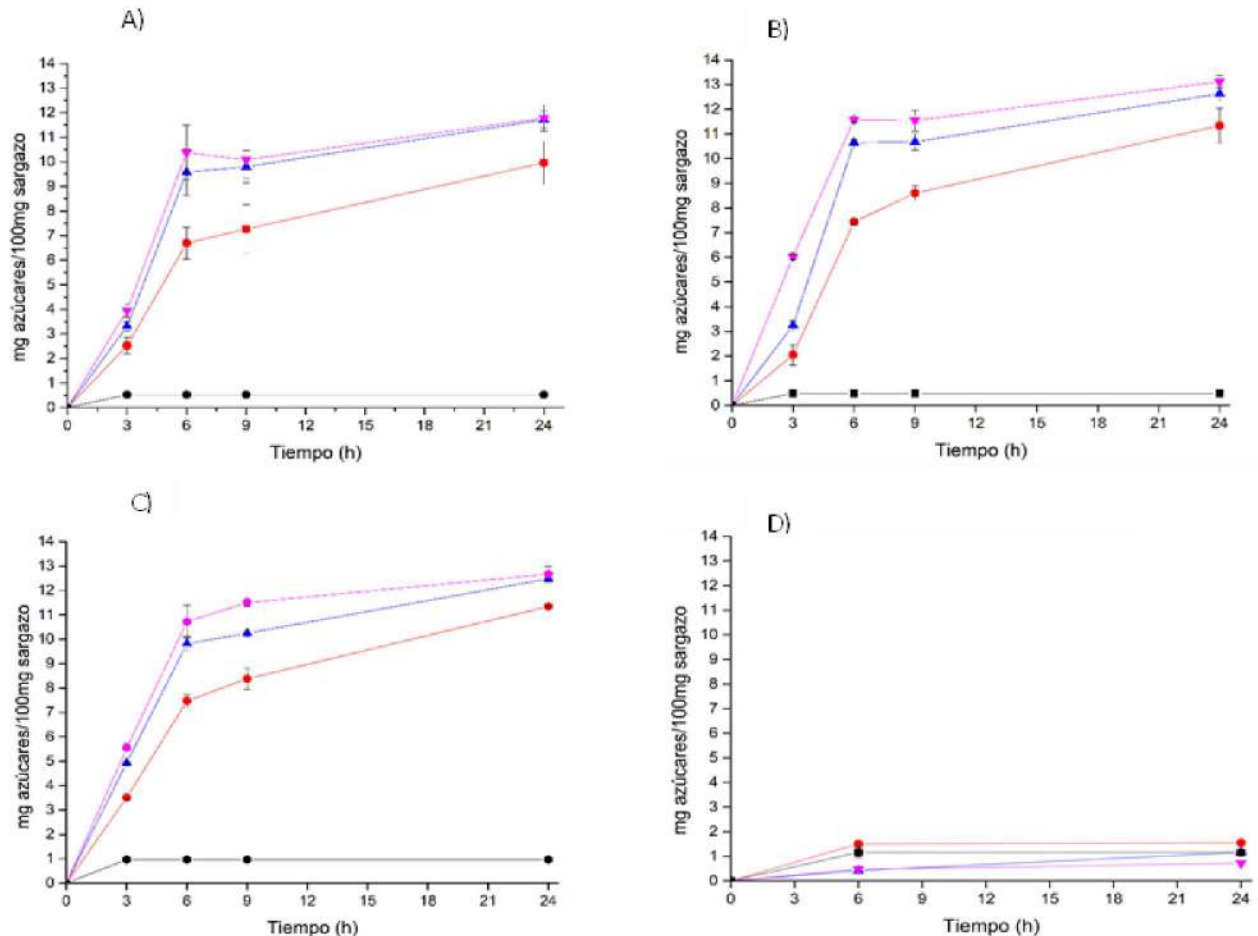


Figura 3.4: Concentración de azúcares reductores a una carga de trabajo. A) 1% (p/v); B) 3% (p/v); C) 5% (p/v); D) Sargazo sin pretratamiento 1, 3 y 5% (p/v). Línea roja: 0.125 mL enzima/g biomasa; línea azul: 0.25 mL/g; línea magenta: 0.5 mL/g; línea negra: Control Sargazo sin enzima.

Para el análisis estadístico se compararon los efectos de los diferentes tratamientos de acuerdo con la cantidad de azúcares reductores obtenidos a partir de la hidrólisis de sargazo (Figura 3.5). Se puede observar que los datos se agrupan en tres categorías diferentes respecto a la carga (1%, 3% y 5%). Para la carga de 1% se observa que los tres tratamientos (A, B, C) logran obtener mayor cantidad de azúcares respecto al control.

En la carga de 3% se observa un aumento significativo de la liberación de azúcares, siendo el tratamiento F, el valor más alto. Sin embargo, para la carga de 5% ocurre un comportamiento similar, siendo el tratamiento H e I los que liberan más azúcares con valores muy similares que no muestran diferencia significativa, lo que sugiere que aumentar la cantidad de enzima no tiene un impacto significativo en el aumento de azúcares.

De acuerdo con el análisis, la enzima tiene un efecto mayor en los tratamientos con carga de sustrato de 3 y 5%, por lo que, con la finalidad de reducir el gasto de materia prima (enzima) y para efectos de un mayor aprovechamiento de la biomasa se eligió la carga de 5%, tratamiento "H".

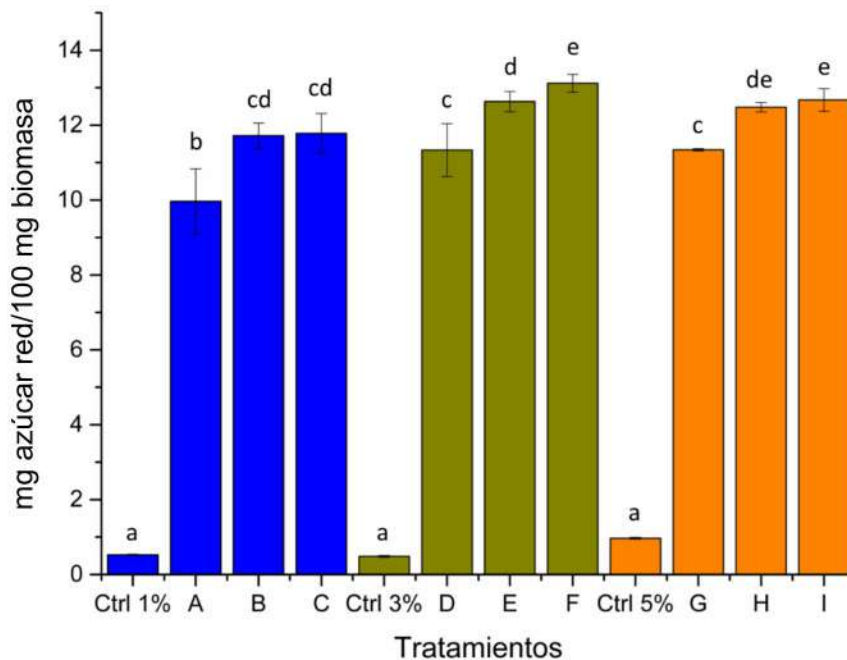


Figura 3.5: Análisis de varianza, tratamientos sargazo ($p < 0.05$), Prueba Tukey, Alfa= 0.05. Azul: Carga 1%; Verde: Carga 3%; Naranja: Carga 5%; A, D, G) 0.125; B, E, H) 0.25; C, F, I) 0.5 mg enzima/g biomasa.

3.4 Metodología de Superficie de Respuesta

En la figura 3.6 se puede observar la superficie de respuesta obtenida a partir del diseño compuesto central para la hidrólisis enzimática. La variable dependiente concentración de azúcares reductores (mg/100g de biomasa) varía en función de dos variables independientes; carga de sustrato (g/mL) y carga enzimática (mL/g biomasa). Se muestra un máximo en la concentración de azúcares cuando la carga de sustrato y la carga enzimática están en niveles

medios, mientras que, si cualquiera de las variables independientes se aleja del punto medio ya sea disminución o aumento, la concentración de azúcares tiende a disminuir. Por lo tanto, existe un punto óptimo donde la relación sustrato/ enzima es ideal para aumentar la liberación de azúcares, el cual se muestra a continuación:

$$Z = 12.684 + 0.823 X + 0.505 Y - 0.540 X^2 - 0.665 Y^2 - 0.122 XY$$

$$Z = 13.062 \text{ mg/100g biomasa}$$

Por lo tanto, para alcanzar el punto ideal donde se puedan obtener azúcares a una concentración de 13.062 mg/100g biomasa, se deben trabajar las condiciones siguientes: $X = 0.725$, $Y = 0.313$ lo que da como resultado una concentración enzimática de 0.43 mL/ g biomasa con 1.8 g/mL de sustrato.

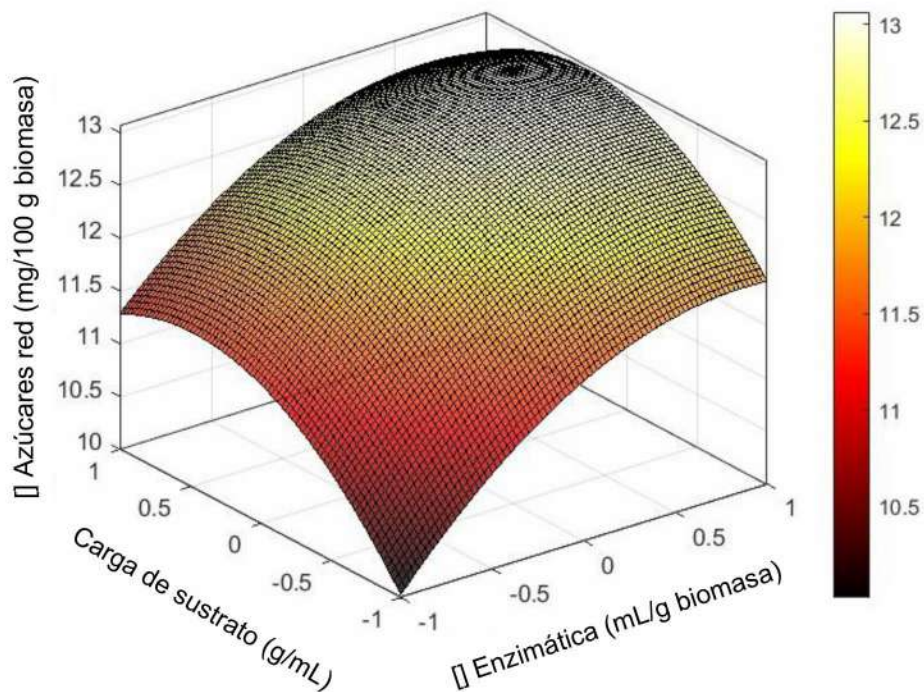


Figura 3.6 Superficie de respuesta: Liberación de glucosa en función de la carga de sustrato y carga enzimática.

3.5 Cromatografía Líquida de Alta Resolución

El análisis cromatográfico del sargazo pretratado para el tratamiento “H”, brinda un rendimiento de conversión del 94% respecto a la glucosa, obtenido a partir de la hidrólisis enzimática del

sargazo, obteniendo 9.99 mg por cada 100mg de biomasa de un total disponible de 10.61mg de glucosa con el tratamiento de hidrólisis ácida.

Respecto al sargazo de mayo 2023 con las mismas condiciones de tratamiento, se obtuvo un rendimiento del 82.61% teniendo como disponibles 6.8 mg de glucosa por cada 100 mg de sargazo de un total disponible de 8.34, la disminución de este rendimiento puede estar asociada a la variación en composición de carbohidratos en las macroalgas de acuerdo con la temporalidad y zona de colecta [21].

La figura 3.7 indica la composición del jarabe de sargazo después de la hidrólisis enzimática. La línea verde (sargazo tratado, carga 5%, enzima 0.25mL/mg de biomasa), señala una mayor liberación de glucosa cuando el sargazo ha sido tratado y sometido a hidrólisis enzimática. Hay presencia de xilosa, pero en menor cantidad, esto debido a la naturaleza de las enzimas utilizadas (celulasas). La línea azul, que representa el sargazo tratado, carga 5% sin enzima, muestra picos significativamente menores de glucosa y un pico de xilosa similar al sargazo tratado, esto confirma que es necesaria la hidrólisis enzimática para obtener la liberación de glucosa presente en la biomasa. Por otro lado, la línea rosa muestra que el sargazo sin tratamiento con las mismas condiciones de reacción, no libera los monómeros de carbohidratos, obteniendo picos casi “nulos” a pesar de contar con las condiciones adecuadas para la formación de productos, esto indica que existe una barrera que impide el acceso a los carbohidratos presentes, por lo que se necesita un pretratamiento [80].

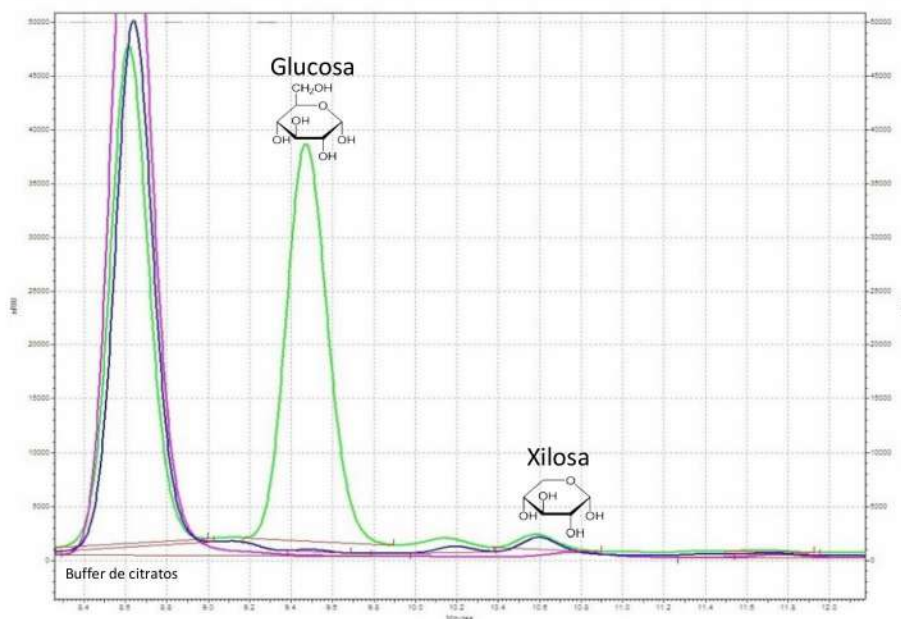


Figura 3.7: Análisis de composición de monómeros de carbohidratos por HPLC: Sargazo sin tratamiento, carga 5%, enzima 0.25mL/mg de biomasa (Línea rosa); Sargazo tratado, carga 5% sin enzima (Línea azul); Sargazo tratado, carga 5%, enzima 0.25mL/mg de biomasa (Línea verde).

3.5.1 Análisis estructural de la biomasa posterior a la hidrólisis enzimática

Se tomaron micrografías en SEM a la biomasa sin pretratamiento y con pretratamiento después de la hidrólisis enzimática. El sargazo sin pretratamiento sometido a hidrólisis enzimática (Figura 3.8 A) mostró una estructura similar a la biomasa sin pretratamiento (Figura 3.1 A), sin embargo, se observan abultamientos y sedimentos esféricos en la superficie de la muestra, esto puede deberse a la acumulación de enzima al efectuarse la hidrólisis, ya que los grupos hidroxilo, fenólicos y alifáticos presentes en la lignina promueven la adsorción entre la lignina y la enzima al formar enlaces de hidrógeno con los grupos hidroxilo y carbonilo presentes en la enzima [100].

Por otro lado, el sargazo pretratado después de la hidrólisis enzimática (Figura 3.8 C y D) sufrió cambios considerables, la presencia de orificios en los túbulos de celulosa indican que ocurrió un ataque enzimático, logrando degradar la biomasa. Esto concuerda con Zhang et al [101] quienes estudiaron el impacto de la hidrólisis enzimática en materiales vegetales con celulosas, mostrando como resultado una degradación significativa de la celulosa, dejando con mayor exposición las fibras cristalinas debido a la acción enzimática generando una estructura porosa y accesible.

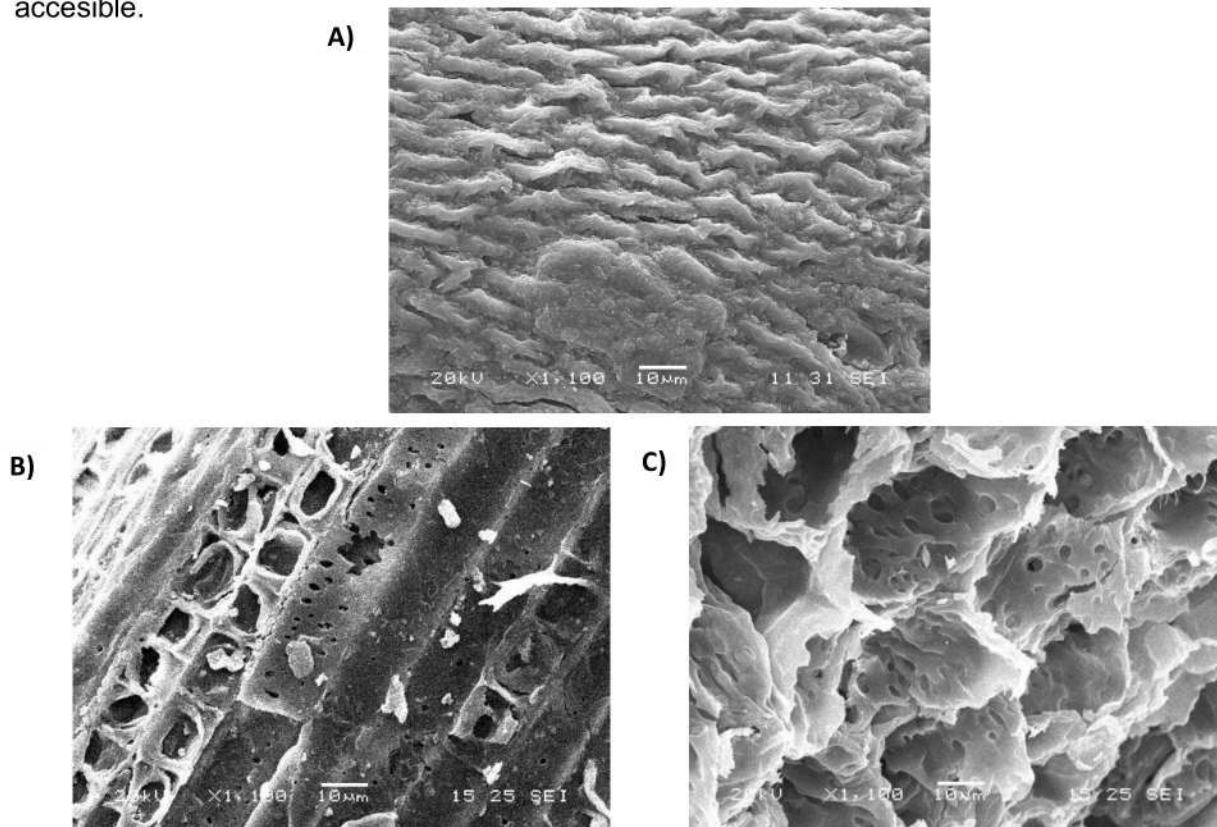


Figura 3.8: Microscopía electrónica de barrido de *Sargassum* spp.; A) Sargazo sin pretratamiento después de hidrólisis enzimática. B) Corte longitudinal sargazo después de hidrólisis enzimática; C) Corte transversal sargazo después de hidrólisis enzimática;

3.6 Obtención de compuestos precursores de bioturbosina (SAF)

3.6.1 Producción de bioetanol

3.6.2 Activación del inóculo

La levadura *Kluyveromyces marxianus* (Cicy-Ki) (Figura 3.9) mostró un crecimiento uniforme a partir de las 12 horas de incubación, presentó un aspecto cremoso liso, de un color crema amarillento. Las células se identificaron con una forma ovoide cilíndrica [102], algunas con yemas, producto de la reproducción celular (gemación) [103]. Como resultado del conteo celular se obtuvo una viabilidad de 94.82% de células vivas con una densidad celular de 6.87×10^8 cel/mL.



Figura 3.9. Reactivación de levadura *Kluyveromyces marxianus* (Cicy-Ki).

3.6.3 Fermentación

En la Tabla 3.4 se presentan los resultados de la evaluación en la producción de etanol con Cicy-Ki para los tratamientos SPH y SPHC. La concentración máxima se obtuvo con el tratamiento SPHC en un tiempo de 3 horas, teniendo un rendimiento del 89.77% mientras que el tratamiento SPH alcanzó un rendimiento similar de 88.82% a las 23 horas. Las tasas de conversión y concentración de etanol en este estudio fueron similares a lo mencionado por Borines et al [34], quienes obtuvieron un 89% (2.79 g/L de etanol) de rendimiento con *Saccharomyces cerevisiae*, sin embargo, este fue alcanzado a las 72 horas de incubación.

Por otro lado, Aparicio et al [35] lograron obtener mayores concentraciones de etanol (18.14 – 10.39 g/L) después de 12 horas de fermentación con un consumo total de glucosa y una

conversión del 76.23% a partir de *Sargassum* spp del caribe mexicano usando la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Un caso similar ocurre con lo reportado por Del Río et al [104] quienes utilizan *Sargassum muticum* como biomasa utilizando *Saccharomyces cerevisiae* Ethanol Red® en la fermentación, obteniendo rendimientos del 87.7% a las 23.5 horas, con una concentración mayor de etanol (9.95 g/L).

Tabla 3.4 Rendimiento y conversión de etanol con diferentes concentraciones de glucosa utilizando *Sargassum* spp. como materia prima y levadura *Kluyveromyces marxianus*.

Tratamientos	Tiempo (H)	Glucosa (g/L)		Concentración etanol (g/L)	Rendimiento de etanol (%)
		Inicial	Final		
SPHC*	3	6.05	0	2.77 ± 0.32	89.77
	23			2.72 ± 0.21	88.15
	48			2.25 ± 0.41	72.92
	72			2.03 ± 0.23	65.79
SPH*	3	2.87	0	0.45 ± 0.64	30.74
	23			1.30 ± 0.45	88.82
	48			1.07 ± 0.32	73.10
	72			1.02 ± 0.36	69.69

*SPHC: hidrolizado concentrado; SPH: hidrolizado sin concentrar

En la figura 3.10 se observa la cinética de la producción de etanol y consumo de glucosa en el medio de la levadura Cicy-ki, en ambos casos la concentración de glucosa disminuyó en las primeras 2 horas, indicando un rápido consumo por la levadura, posterior a ese tiempo, la concentración de glucosa llegó a cero a partir de las 3 horas. En cuanto al etanol, desde las primeras horas se observó su producción, alcanzando un máximo a las 3 horas y manteniéndose constante hasta las 4 horas en el tratamiento SPHC, mientras que, en SPH la concentración de etanol aumentó a las 6 horas.

A partir de las 12 horas se observó un descenso en el contenido de etanol lo que sugiere que el proceso de fermentación inició su fase estacionaria, esto coincide con lo reportado por Aparicio et al [35] quienes realizaron la fermentación de *Sargassum* spp. con la levadura *Saccharomyces cerevisiae* PE-2 y a partir de las 36 horas disminuyó la concentración de etanol atribuyendo este suceso a la evaporación del compuesto, la formación de subproductos no cuantificables o a la capacidad de la levadura de procesar el etanol cuando la fuente de glucosa se agota. González

et al [105] denominan este proceso en *Saccharomyces cerevisiae* como “respiración de etanol”, el cual consiste en la producción de glicerol al agotarse la glucosa en condiciones aeróbicas.

La reacción SPHC muestra una mayor producción de etanol y un consumo más rápido de glucosa en comparación con la reacción de SPH. Esto sugiere que la concentración del medio podría estar favoreciendo la eficiencia de la fermentación y la producción de etanol, posiblemente debido a una mayor disponibilidad de nutrientes.

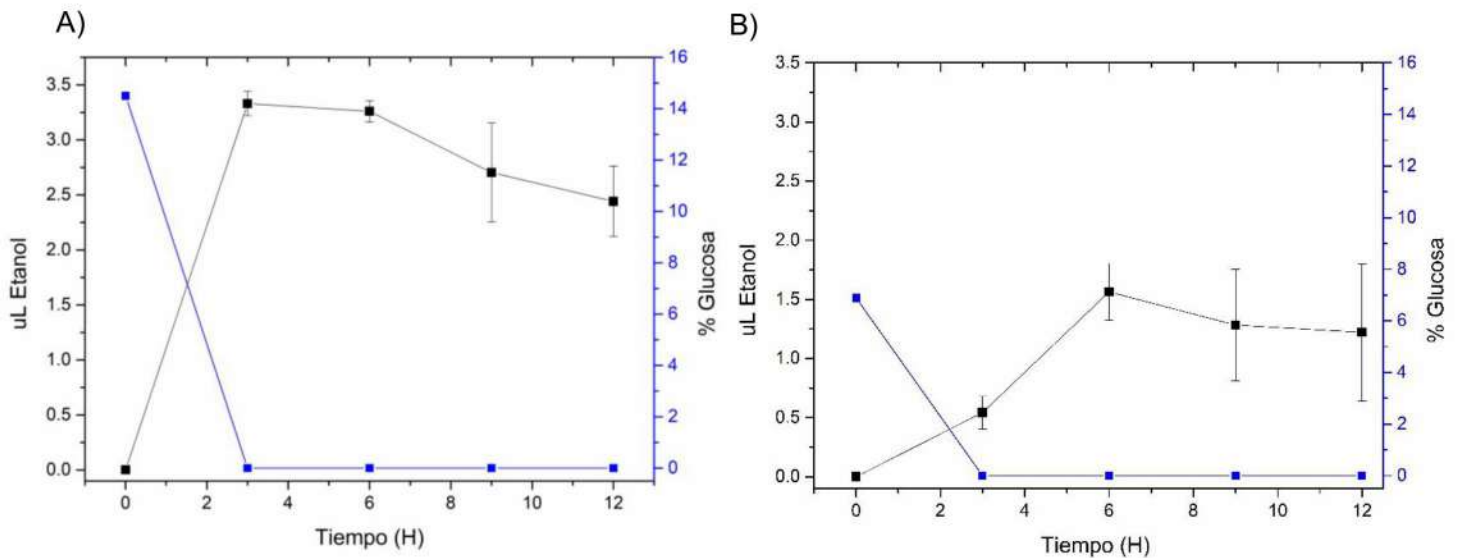


Figura 3.10: Producción de etanol y consumo de glucosa en hidrolizado de sargazo, con levadura Cicy-Ki. A) Tratamiento SPHC; b) Tratamiento SPH. La línea azul representa la glucosa y la línea negra el etanol.

Cabe destacar que es la primera vez que se utiliza la levadura Cicy-Ki para la producción de bioetanol a partir de biomasa de *Sargassum* spp. De acuerdo con Pelegrín et al [106] la fermentación de 1g de azúcar proveniente de algas marinas incluyendo el género *Sargassum* puede producir 0.4 g de etanol, siendo un total de 0.27 L de etanol por kilo de biomasa en peso seco. Lo cual deja abiertas nuevas posibilidades de investigación para la producción a gran escala de bioetanol a partir de algas marinas como *Sargassum* spp.

3.7 Producción de polioles

3.7.1 Hidrogenación

Al evaluar la reacción de hidrogenación de glucosa con el catalizador de Paladio/Carbón (Pd/C) se logró la transformación de este monosacárido en polialcoholes. Los resultados en la Tabla 3.5 muestran el rendimiento de producción de una solución de D-glucosa al 5% v/v dando como resultado 10.53 g/L de manitol en un tiempo de 5 horas con un rendimiento del 23.28% para 3 horas y 21% para 5 horas. El rendimiento de manitol resultó ser bajo, lo que sugiere que la glucosa se convirtió en otros subproductos los cuales no fueron cuantificados.

Redina et al [107] mencionan al sorbitol como el principal producto formado después de la hidrogenación de glucosa con un catalizador tipo Raney Ni a 130°C, obteniendo una conversión del 38%, sin embargo, al utilizar un catalizador de Ni/NiO mesoporoso cristalino se logró una conversión del 88% con una formación de manitol del 12%.

En cuanto al Paladio, Palkovits et al [108] estudiaron reacciones de hidrogenación para la conversión de celulosa con diferentes ácidos minerales obteniendo un rendimiento del 60% a 160°C, obteniendo sorbitol, sorbitán, isosorbida y xilitol, esto gracias al efecto del metal noble del catalizador.

Tabla 3.5: Hidrogenación de Glucosa utilizando Pd/C como Catalizador

Catalizador	Temperatura °C	Tiempo (H)	Glucosa (g/L)		Manitol (g/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final
Pd/C	150	3	50	14.27±0.95	0	8.32±0.51
Pd/C	150	5	50	0.94±0.87	0	10.53±0.43

Se realizó difracción de rayos X (DRX) para comprender la estructura y actividad catalítica de Pd/C. El Difractograma (Figura 3.11) muestra las características típicas de un catalizador de paladio soportado en carbón. Se observan picos alrededor de 2θ a 20°, 40° y 45°, los cuales indican estructuras cristalinas presentes en el catalizador. Los primeros picos entre el ángulo 20 y 30 están relacionados con el plano de grafito de soporte del carbón activado, el pico cercano a 40° es característico del paladio metálico (Pd). La amplitud de los picos indica la cantidad de material cristalino presente, al haber picos muy agudos indica una alta cristalinidad en el Pd [109].

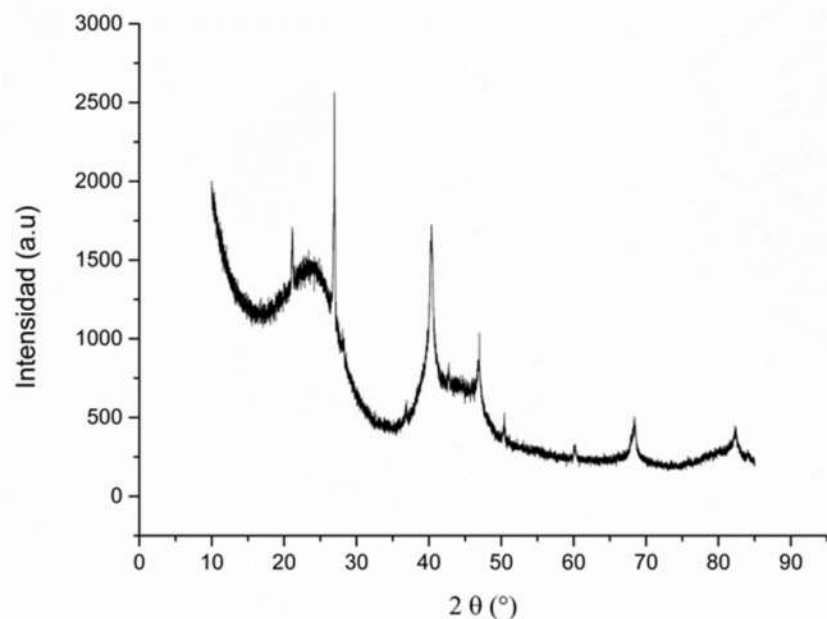


Figura 3.11: Difractograma del catalizador Paladio/Carbón

Al emplear el tratamiento SPHC como medio para la hidrogenación (Tabla 3.6), se obtuvo un menor rendimiento de manitol respecto al control con glucosa, obteniendo a las 3 horas de reacción 2.24 g/L en comparación con 8.32 g/L en glucosa. Mientras que a las 5 horas disminuyó la concentración a 0.19 g/L y cambió de color (Figura 3.11), lo que puede indicar un tiempo excesivo en la reacción pudiendo formar subproductos como sorbitol, eritrosa, etilenglicol, isosorbida, glicerol e hidroximetilfurfural, este último formado principalmente por la deshidratación de la glucosa [65].

Tabla 3.6 Hidrogenación de SPHC con catalizador Pd/C

Catalizador	Temperatura °C	Tiempo (H)	Glucosa en SPHC (g/L)		Manitol (g/L)	
			Inicial	Final	Inicial	Final
Pd/C	150	3	6.05	1.24	0	2.24
Pd/C	150	5	6.05	0	0	0.19

Es posible que el menor rendimiento se deba a compuestos inhibidores en el hidrolizado (SPHC) como ácidos orgánicos o fenoles presentes, así como la concentración inicial de glucosa. Es importante señalar que es la primera vez que se realiza este tipo de reacción con sargazo, por lo cual presenta mayores retos establecer condiciones óptimas ya que requiere una investigación a fondo y aún no existen referencias al respecto.

Soda et al [110] obtuvieron sorbitol a partir de rastrojo de maíz con un rendimiento del 89.7% utilizando catalizadores de Rutenio (Ru) a una temperatura de 80°C por 3 horas, con una presión de H₂ de 50 bar, mientras que al aumentar la temperatura y el tiempo (220°C por 6 horas) el rendimiento se vio afectado ya que el sorbitol se degradó en otros subproductos, mencionando que la acidez del catalizador juega un papel importante en el rendimiento de los productos a altas temperaturas.

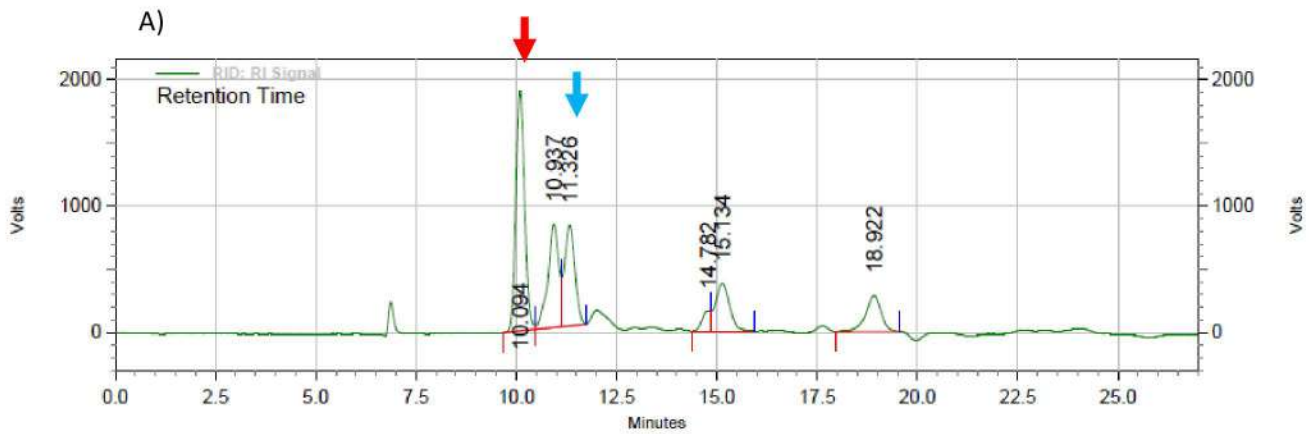


Figura 3.12 Tratamiento SPHC antes y después de hidrogenación.

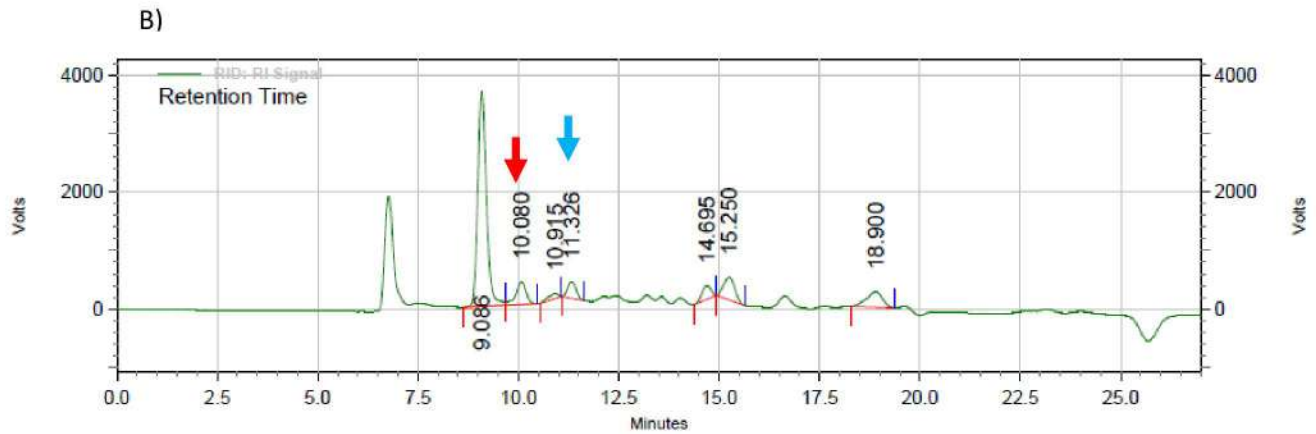
En la figura 3.13 se presentan los cromatogramas de la hidrogenación de SPHC, así como el control de glucosa. A pesar de ser de diferentes materias primas, ambos presentaron un comportamiento similar, haciendo evidente la disminución de glucosa y formación de manitol y otros compuestos, los cuales no fueron cuantificados debido a la falta de muestras estándar. Se puede observar que el tiempo de retención del manitol a las 3 horas (11.326 min) es consistente tanto en el control de glucosa como en SPHC. Así mismo, los tiempos de retención que no se cuantificaron en esta investigación están presentes en ambos tratamientos.

En un estudio realizado por Ban et al [111] se logró hidrogenar alginato procedente de macroalgas a 150°C bajo 50 bar de H₂ por 12 horas, obteniendo como productos sorbitol (61%), manitol (28%) y galactitol (4), con ayuda de catalizadores de metales nobles soportados en carbono (Pd, Pt, Rh, Ir y Ru), obteniendo un rendimiento alto para el Ru/C, mientras que el Pd/C obtuvo un rendimiento menor al igual que los demás catalizadores. La producción de manitol es una característica distintiva de la hidrogenación de ácido algínico, sin embargo, el sorbitol puede ser el polialcohol predominante, esto debido a la isomerización de los hexitoles presentes en la solución. Entre otros posibles productos formados está el arabitol, xilitol y manosa [111]. Esto es de gran importancia, debido a que el sargazo es una macroalga rica en alginatos [90], los cuales pueden formar polialcoholes junto con la glucosa presente en el medio.

Glucosa 3 h: catalizador Pd/C



Tratamiento SPHC 3 h: catalizador Pd/C



Tratamiento SPHC 5 h: catalizador Pd/C

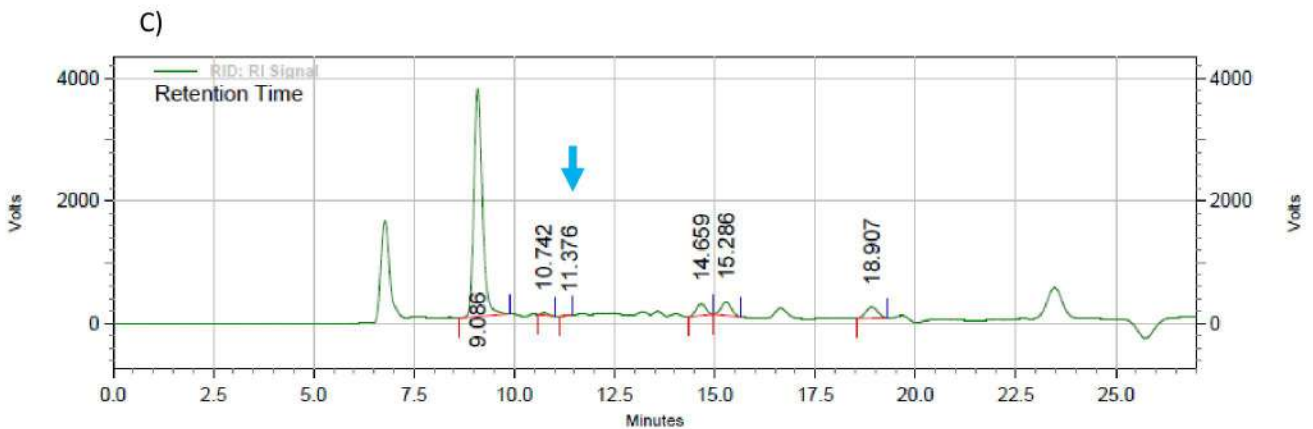


Figura 3.13 Cromatogramas hidrogenación. A) Glucosa 5%, 3 horas; B) Jarabe sargazo 3h; C) Jarabe sargazo 5 h; La flecha roja señala el tiempo de retención de la glucosa, mientras que la flecha azul señala la presencia de manitol.

3.8 Planteamiento de procesos para la producción de SAF a partir de los productos obtenidos

Con la obtención de bioetanol y polioles a partir de sargazo, es posible proponer una ruta para la generación de combustible sostenible de aviación, la cual permitirá aprovechar los carbohidratos presentes en la biomasa brindando una solución a problemáticas como las grandes arribazones de macroalgas *Sargassum* spp., a continuación, se señala un esquema de las posibles rutas a seguir a partir de los precursores obtenidos:

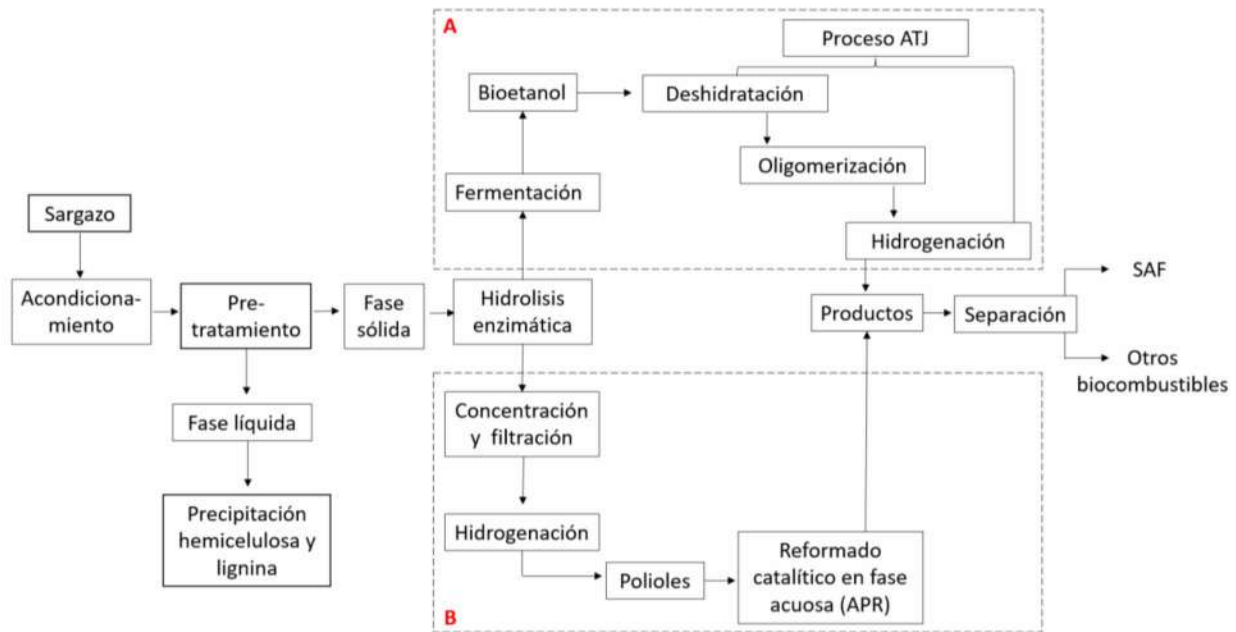


Figura 3.14 Proceso de generación de combustible sostenible de aviación a partir de *Sargassum* spp. A) Proceso ATJ; B) Reformado catalítico.

La figura 3.14 señala de manera general, una propuesta de producción de SAF a partir de biomasa de sargazo, la cual podría seguir dos rutas independientes A y B. Para el proceso ATJ (alcohol to jet) (A) se analiza la posibilidad de obtener a partir de reacciones de deshidratación, oligomerización e hidrogenación, compuestos como parafinas sintéticas e hidrocarburos aromáticos los cuales cumplan con los requisitos técnicos del combustible de aviación y puedan combinarse en proporciones específicas con combustibles fósiles creando mezclas conocidas como drop-in-fuels [112].

En cuanto al reformado catalítico (B), Kubic et al [113] proponen una metodología para utilizar residuos de papel como biomasa para la producción de SAF, la cual con modificaciones podría

adaptarse a la biomasa de sargazo. Este proceso consta de lo siguiente: El producto de la reacción de hidrólisis enzimática se somete a una concentración e intercambio iónico, los cuales purificarán este jarabe para una mayor conversión en la siguiente etapa. Posteriormente la mezcla rica en azúcares se hidrogena para reducir estos monómeros a alcoholes de azúcar o polioles, luego, estos alcoholes se someten a un reformado catalítico en fase acuosa (APR), las cuales son un conjunto de reacciones que producen alcanos ligeros, hidrógeno y productos oxigenados como alcoholes, cetonas, aldehídos, furanos, dioles y ácidos orgánicos. Luego, los productos de APR pasan a un reactor de condensación donde la longitud de cadena aumenta a C8-C24 producto de reacciones como oligomerización, ciclación y aromatización dando como productos parafinas, isoparafinas, olefinas, compuestos aromáticos y cicloparafinas, los cuales son insolubles en agua y se separan de la fase acuosa [114].

CONCLUSIONES

El sargazo tiene compuestos que pueden ser aprovechados para la generación de energía como carbohidratos, además contiene un material recalcitrante que dificulta su acceso, al aplicar un pretratamiento oxidativo se disminuye el contenido de lignina en un 69% y se generan cambios estructurales en la biomasa que facilitan el acceso a los carbohidratos presentes en la biomasa.

El proceso de sacarificación de la biomasa transformada obtuvo un rendimiento de 82.61% respecto al teórico usando una carga enzimática de 0.25 mL de enzima/g de sustrato, a 5% p/v utilizando la enzima Accellerase® 1500. Esto mostró modificaciones estructurales en los túbulos de celulosa por la acción enzimática, esto se aprecia en los orificios formados en la superficie de la biomasa, a diferencia de la biomasa sin tratar en la cual no se produjeron cambios estructurales.

El proceso de hidrólisis enzimática generó un residuo, el cual mostró potencial para su aprovechamiento en la producción de biogás al bajar la relación C/N de un 38.3% a un 19.6%. Demostrando que el concepto de biorrefinería es aplicable para esta biomasa.

Se obtuvo un rendimiento de etanol del 88% a partir de *Sargassum* spp a las 23 horas de fermentación con la levadura *Kluyveromyces marxianus*.

La hidrogenación de los monosacáridos presentes en el *Sargassum* spp pretratado permitió la obtención de 2.24 g/L de manitol a partir de 6.05 g/L de glucosa, habiendo una conversión del 37% de glucosa, mientras que el 63% restante se convirtió en otros compuestos no identificados hasta el momento.

PERSPECTIVAS

En estudios futuros se recomienda profundizar en la selección de enzimas específicas que maximicen la eficiencia de la hidrólisis enzimática de los polisacáridos presentes en el sargazo. El uso de combinaciones de enzimas adaptadas a los componentes específicos del sargazo, y estrategias biotecnológicas podría mejorar la liberación de azúcares fermentables.

En este trabajo se empleó una cepa de levadura para la fermentación, resulta oportuno evaluar el uso de otras cepas, con el objetivo de estudiar el comportamiento fermentativo con distintos microorganismos y optimizar el proceso para incrementar la eficiencia en la producción de bioetanol.

Este estudio realizó un primer acercamiento en la producción de polioles a partir de sargazo, el cual deja una ventana de oportunidad para explorar y optimizar la conversión de los diversos carbohidratos presentes en la macroalga, como los alginatos, los cuales podrían tener un gran potencial para la producción de sorbitol y manitol.

La obtención de bioetanol y polioles a partir de sargazo establece una oportunidad para emplear estos compuestos en la producción de combustibles de aviación sostenibles (SAF). A través del proceso ATJ (Alcohol-to-Jet), dichos productos podrían integrarse en la cadena de producción de biocombustibles, obteniendo un aprovechamiento integral del sargazo.

En futuras investigaciones, podría incorporarse un análisis del ciclo de vida para cuantificar el impacto ambiental de todo el proceso y así identificar áreas críticas de mejora en términos de emisiones de carbono, consumo de agua y otros indicadores de sostenibilidad.

REFERENCIAS

- [1] Wang, M., Hu, C., Barnes, B., Mitchum, G., Lapointe, B., & Montoya, J.P. (2019). The great Atlantic *Sargassum* belt. *Science*, 365, 83-87.
- [2] Abdool, A., Blare, T., & Solo, H. (2023). Assessment of *Sargassum* spp. management strategies in southeast Florida. *Resources, Conservation and Recycling Advances*, vol. 19. doi: 10.1016/j.rcradv.2023.200175.
- [3] Van Tussenbroek, B. I., Hernández Arana, H. A., Rodríguez-Martínez, R. E., Espinoza-Avalos, J., Canizales-Flores, H. M., González-Godoy, C. E., Barba-Santos, M. G., Vega-Zepeda, A., & Collado-Vides, L. (2017). Severe impacts of brown tides caused by *Sargassum* spp. on near-shore Caribbean seagrass communities. *Marine Pollution Bulletin*, 122(1–2), 272–281. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.06.057>
- [4] Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2021). Lineamientos Técnicos y de Gestión para la Atención de la Contingencia Ocasionada por Sargazo en el Caribe Mexicano y el Golfo de México. www.gob.mx/inecc
- [5] Azcorra May, K. J. (2021). Desarrollo de un proceso de deslignificación de *Sargassum* spp. Para la obtención de compuestos con potencial en la producción de biocombustibles.
- [6] Mota Barros, L. V., & Rodríguez Zorro, S. (2020). Evaluación del potencial del uso de las algas de arribazón conocidas como sargazo (*Sargassum* spp.).
- [7] Balat, M., Balat, H., & Öz, C. (2008). Progress in bioethanol processing. En *Progress in Energy and Combustion Science* (Vol. 34, Número 5, pp. 551–573). <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2007.11.001>
- [8] Romero, A., Gómez, A., Moreno, A. L., Gutierrez, C., Gómez, F., & Hernandez, S. (2021). Producción de combustible renovable de aviación a partir de materias primas de alto potencial en México: Vol. I.
- [9] Rofa B., J. L., & Lucas G., F. (2016). Estudio de emisiones contaminantes en la aviación comercial y su impacto en el medio ambiente.
- [10] Menéndez, P. (2021). Estudio y modelo de las cadenas productivas de hidrógeno y SAF en la futura aviación sostenible.

- [11] Coldwell, P. J., Beltrán Rodríguez, L., Zendejas, F., Subsecretario De Electricidad, R., Flores Quiroga, A., Brasdefer, G., Oficial, H., Carlos, M., & Ortiz Gomez, R. (2017). Mapa de Ruta Tecnológica Bioturbosina 2 Secretaría de Energía.
- [12] Sanjeewa, K. K. A., Kang, N., Ahn, G., Jee, Y., Kim, Y. T., & Jeon, Y. J. (2018). Bioactive potentials of sulfated polysaccharides isolated from brown seaweed *Sargassum* spp in related to human health applications: A review. En *Food Hydrocolloids* (Vol. 81, pp. 200–208). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.02.040>
- [13] Roig, F., Olivo, O., del Toro, P., Rodríguez, A., Gelabert, B., & García, C. (2022). Pérdida de sedimento asociada a la retirada de depósitos de *Sargassum* spp. en las playas del Caribe. *Revista de L'anteneu de Natura* .
- [14] Baweja, P., Kumar, S., Sahoo, D., & Levine, I. (2016). Biology of Seaweeds. En *Seaweed in Health and Disease Prevention* (pp. 41–106). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802772-1.00003-8>
- [15] Uribe-Martínez, A., Arreguín-Sánchez, F., & Cuevas, E. (2020). Metadata base of marine research in Mexico; trends and applications View project Mexican penaid fishery analysis View project. <https://www.researchgate.net/publication/339800164ElsargazoenelCaribemexicano,revisióndeunahistoriaimpensable>
- [16] Hernández, A., Nuñez, J., & Alcolado, P. (2017). Adaptación basada en Ecosistemas: Alternativa para la gestión sostenible de los recursos marinos y costeros del Caribe.
- [17] López Miranda, J. L., Celis, L. B., Estévez, M., Chávez, V., van Tussenbroek, B. I., Uribe-Martínez, A., Cuevas, E., Rosillo Pantoja, I., Masia, L., Cauich-Kantun, C., & Silva, R. (2021). Commercial Potential of Pelagic *Sargassum* spp. in Mexico. En *Frontiers in Marine Science* (Vol. 8). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.768470>
- [18] Stiger-Pouvreau, V., Bourgoignon, N., & Deslandes, E. (2016). Carbohydrates from Seaweeds. En *Seaweed in Health and Disease Prevention* (pp. 223–274). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802772-1.00008-7>
- [19] Patterson, G. W. (2019). The Distribution of Sterols in Algae^{1,2}.
- [20] Mauseth, J. (s/f). Botany an introduction to plant biology. 575–610.

- [21] Bauta, J., Calbrix, E., Capblancq, S., Cecutti, C., Peydecastaing, J., Delgado Raynaud, C., Rouilly, A., Simon, V., Vaca-Medina, G., Vandebossche, V., Vedrenne, E., & De Caro, P. (2024). Global Chemical Characterization of *Sargassum* spp. Seaweeds from Different Locations on Caribbean Islands: A Screening of Organic Compounds and Heavy Metals Contents. *Phycology*, 4(2), 190–212. <https://doi.org/10.3390/phycolgy4020011>
- [22] Martínez, L. (2020). Composición de isótopos estables de carbono y nitrógeno en especies pelágicas de sargazo.
- [23] Louime, C., Fortune, J., & Gervais, G. (2017). *Sargassum*: Invasion of Coastal Environments: A Growing Concern. *American Journal of Environmental Sciences*, 13(1), 58–64. <https://doi.org/10.3844/ajessp.2017.58.64>
- [24] Brooks, M. T., Coles, V. J., & Coles, W. C. (2019). Inertia Influences Pelagic *Sargassum* Advection and Distribution. *Geophysical Research Letters*, 46(5), 2610–2618. <https://doi.org/10.1029/2018GL081489>
- [25] García-Sánchez, M., Graham, C., Vera, E., Escalante-Mancera, E., Álvarez-Filip, L., & van Tussenbroek, B. I. (2020). Temporal changes in the composition and biomass of beached pelagic *Sargassum* species in the Mexican Caribbean. *Aquatic Botany*, 167. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2020.103275>
- [26] Vázquez-Delfín, E., Freile-Pelegrín, Y., Salazar-Garibay, A., Serviere-Zaragoza, E., Méndez-Rodríguez, L. C., & Robledo, D. (2021). Species composition and chemical characterization of *Sargassum* influx at six different locations along the Mexican Caribbean coast. *Science of the Total Environment*, 795. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148852>
- [27] Antonio, J. (2020). El riesgo del sargazo para la economía y turismo de Quintana Roo y México.
- [28] Optical Oceanography Lab of College of Marine Science. (2022). *Sargassum* blooms in the Caribbean Sea and Mexico. . <https://optics.marine.usf.edu/projects/saws.html>
- [29] Olguin-Maciél, E., Leal-Bautista, R. M., Alzate-Gaviria, L., Domínguez-Maldonado, J., & Tapia-Tussell, R. (2022). Environmental impact of *Sargassum* spp. landings: an evaluation of leachate released from natural decomposition at Mexican Caribbean coast. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(60), 91071–91080. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-22123-8>

- [30] Rodríguez-Martínez, R. E., Medina-Valmaseda, A. E., Blanchon, P., Monroy-Velázquez, L. V., Almazán-Becerril, A., Delgado-Pech, B., Vásquez-Yeomans, L., Francisco, V., & García-Rivas, M. C. (2019). Faunal mortality associated with massive beaching and decomposition of pelagic *Sargassum*. *Marine Pollution Bulletin*, 146, 201–205. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.06.015>
- [31] Bordoloi, A., & Goosen, N. (2020). Green and integrated processing approaches for the recovery of high-value compounds from brown seaweeds. *Advances in Botanical Research*, 95, 369–413. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2019.11.011>
- [32] Graham, L., & Wilcox, W. (2000). *Algae*. Capítulo 15. Phaeophyceans (Brown algae). www.aulados.net
- [33] Malode, S. J., Prabhu, K. K., Mascarenhas, R. J., Shetti, N. P., & Aminabhavi, T. M. (2021). Recent advances and viability in biofuel production. *Energy Conversion and Management: X*, 10. <https://doi.org/10.1016/j.ecmx.2020.100070>
- [34] Borines, M. G., de Leon, R. L., & Cuello, J. L. (2013). Bioethanol production from the macroalgae *Sargassum* spp. *Bioresource Technology*, 138, 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.108>
- [35] Aparicio, E., Rodríguez-Jasso, R. M., Pinales-Márquez, C. D., Loredó-Treviño, A., Robledo-Olivo, A., Aguilar, C. N., Kostas, E. T., & Ruiz, H. A. (2021). High-pressure technology for *Sargassum* spp biomass pretreatment and fractionation in the third generation of bioethanol production. *Bioresource Technology*, 329. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124935>
- [36] Milledge, J. J., & Harvey, P. J. (2016). Golden Tides: Problem or golden opportunity? The valorisation of *Sargassum* from beach inundations. En *Journal of Marine Science and Engineering* (Vol. 4, Número 3). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/jmse4030060>
- [37] Plugge, C. M. (2017). Biogas. *Microbial Biotechnology*, 10(5), 1128–1130. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12854>
- [38] Varnero, M. T., & FAO. (2011). *Manual de biogás*.
- [39] Thompson, T. M., Ramin, P., Udugama, I., Young, B. R., Gernaey, K. V., & Baroutian, S. (2021). Techno-economic and environmental impact assessment of biogas production and fertiliser recovery from pelagic *Sargassum*: A biorefinery concept for Barbados. *Energy Conversion and Management*, 245. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2021.114605>

- [40] SENER. (2016). Diagnóstico Tecnológico: Clúster Bioturbosina.
- [41] Matos, D. (2019). Optimización de la cadena de suministro para la producción de bioturbosina.
- [42] Lim, J. H. K., Gan, Y. Y., Ong, H. C., Lau, B. F., Chen, W. H., Chong, C. T., Ling, T. C., & Klemeš, J. J. (2021). Utilization of microalgae for bio-jet fuel production in the aviation sector: Challenges and perspective. En *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 149). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111396>
- [43] Kurzawska-Pietrowicz, P., & Jasiński, R. (2024). A Review of Alternative Aviation Fuels. *Energies*, 17(16), 3890. <https://doi.org/10.3390/en17163890>
- [44] Romero, A., Gómez, A., & Gutierrez, C. (2016). Bioturbosina: retos y oportunidades.
- [45] Ojeda, M., Nabar, R., Nilekar, A. U., Ishikawa, A., Mavrikakis, M., & Iglesia, E. (2010). CO activation pathways and the mechanism of Fischer-Tropsch synthesis. *Journal of Catalysis*, 272(2), 287–297. <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2010.04.012>
- [46] Pacheco-Román, F. (2019). Reporte de Inteligencia Tecnológica BIOTURBOSINA. Fondo Sectorial CONACYT-Secretaría de Energía-Sustentabilidad Energética.
- [47] ASTM. (2016). ¿Qué es ASTM International? www.astm.org
- [48] Sepúlveda González, I. (2012a). Bioturbosina. Producción de cultivos energéticos para la aviación comercial* Jet Biofuel. Production of energy-related crops for commercial aircraft.
- [49] Coazon González Yazmín. (2024). Ficha técnica Dirección de Movilidad y Transporte Combustible de Aviación Sostenible ¿Qué es el Combustible de Aviación Sostenible (SAF en inglés, de Sustainable Aviation Fuel)? <https://www.honeywell.com/mx/es/news/2022/11/sustainabl>
- [50] De Diputados, C., Congreso De, D. H., Unión, L. A., Ley, N., De Promoción, L., Desarrollo, Y., & Bioenergéticos, D. L. (2008). Ley de promoción y desarrollo de los bioenergéticos.
- [51] De Diputados, C., Congreso De, D. H., Unión, L. A., & Abrogada, L. (2015). Ley para el aprovechamiento de energías renovables y el financiamiento de la transición energética ley para el aprovechamiento de energías renovables y el financiamiento de la transición energética. Nueva Ley publicada en el Diario Oficial de la Federación el 28 de noviembre de 2008.
- [52] Rivas, R. (2021). Optimización de sistemas intensificados para la producción de bioturbosina a través de alcoholes de forma sustentable.

- [53] Puc, N. (2021). Optimización de la hidrólisis ácida para la obtención de azúcares totales a partir de algas pardas (*Sargassum* spp.).
- [54] Torres Jaramillo, D., Patricia Morales Vélez, S., Carlos Quintero Díaz, J., & de correspondencia, A. (2017). Evaluación de pretratamientos químicos sobre materiales lignocelulósicos Chemical pretreatments evaluation on lignocellulosic materials. En Revista chilena de ingeniería (Vol. 25, Número 4).
- [55] Espinosa, A. M., López, L., & Casdelo, N. (2021). Pretratamiento de biomásas lignocelulósicas: Breve revisión de los principales métodos utilizados. Revista Centro Azúcar , 48.
- [56] Sánchez-Ramírez, J., Martínez-Hernández, J. L., Segura-Ceniceros, E. P., Contreras-Esquivel, J. C., Medina-Morales, M. A., Aguilar, C. N., & Iliná, A. (2014). Inmovilización de enzimas lignocelulolíticas en nanopartículas magnéticas. Quimica Nova, 37(3), 504–512. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140085>
- [57] Nelson, D. L., & M. Cox, M. (2013). Principles of Biochemistry. www.courses.bfwpub.com/lehninger6e.
- [58] Zamora-Hernández, T., Prado-Fuentes, A., Capataz-Tafur, J., Barrera-Figueroa, B. E., & Peña-Castro, J. M. (2014). Demostraciones prácticas de los retos y oportunidades de la producción de bioetanol de primera y segunda generación a partir de cultivos tropicales. Educación Química, 25(2), 122–127. [https://doi.org/10.1016/S0187-893X\(14\)70534-8](https://doi.org/10.1016/S0187-893X(14)70534-8)
- [59] Machado, C. M. M. (2010). Situación de los Biocombustibles de 2da y 3era Generación en América Latina y Caribe.
- [60] Jiménez Segura Valeria Haide. (2016). Caracterización de la diversidad de levaduras durante la fermentación de pulque de la hacienda Xochuca en Tlaxco, Tlaxcala. Universidad Nacional Autónoma de México.
- [61] Karim, A., Gerliani, N., & Aïder, M. (2020). Kluyveromyces marxianus: An emerging yeast cell factory for applications in food and biotechnology. En International Journal of Food Microbiology (Vol. 333). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108818>
- [62] Cáceres-Farfán, M., Lappe, P., Larqué-Saavedra, A., Magdub-Méndez, A., & Barahona-Pérez, L. (2008). Ethanol production from henequen (*Agave fourcroydes* Lem.) juice and molasses by a mixture of two yeasts. Bioresource Technology, 99(18), 9036–9039. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.04.063>

- [63] Leonel, L. V., Arruda, P. V., Chandel, A. K., Felipe, M. G. A., & Sene, L. (2021). *Kluyveromyces marxianus*: a potential biocatalyst of renewable chemicals and lignocellulosic ethanol production. En *Critical Reviews in Biotechnology* (Vol. 41, Número 8, pp. 1131–1152). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1917505>
- [64] García Sánchez, B. (2022). Producción de polioles a partir de recursos renovables de origen lignocelulósico mediante transferencia catalítica de hidrógeno empleando catalizadores de tipo Níquel Raney.
- [65] Dutta, S. (2024). Catalytic Transformation of Carbohydrates into Renewable Organic Chemicals by Reverting the Principles of Green Chemistry. En *ACS Omega* (Vol. 9, Número 25, pp. 26805–26825). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c01960>
- [66] Van de Vyver, S., Geboers, J., Jacobs, P. A., & Sels, B. F. (2011). Recent Advances in the Catalytic Conversion of Cellulose. *ChemCatChem*, 3(1), 82–94. <https://doi.org/10.1002/cctc.201000302>
- [67] Ubago, R. (2005). Reacciones de descomposición y oxidación parcial de metanol sobre catalizadores de platino y paladio soportados sobre materiales de carbón.
- [68] Carus, M. (2017). Bio-based economy and climate change Prepared for the UN Food and Agriculture Organization (FAO). www.nova-institut.eu
- [69] Centro de Estudios de las Finanzas Públicas. (2022). Una aproximación a la economía circular en México.
- [70] Tseng, M. L., Chiu, A. S. F., Liu, G., & Jantaralolica, T. (2020). Circular economy enables sustainable consumption and production in multi-level supply chain system. En *Resources, Conservation and Recycling* (Vol. 154). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.104601>
- [71] Moraga, G., Huysveld, S., Mathieux, F., Blengini, G. A., Alaerts, L., Van Acker, K., de Meester, S., & Dewulf, J. (2019). Circular economy indicators: What do they measure? *Resources, Conservation and Recycling*, 146, 452–461. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.03.045>
- [72] Garlapati, V. K., Chandel, A. K., Kumar, S. P. J., Sharma, S., Sevda, S., Ingle, A. P., & Pant, D. (2020). Circular economy aspects of lignin: Towards a lignocellulose biorefinery. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 130. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.109977>

- [73] Mar Juárez, E. (2021). Mapa de ruta bio jet en México: construcción, análisis y puntos de reflexión. *CIENCIA ergo sum*, 28(1), 1–17. <https://doi.org/10.30878/ces.v28n1a9>
- [74] Sepúlveda González, I. (2012b). Bioturbosina. Producción de cultivos energéticos para la aviación comercial* Jet Biofuel. Production of energy-related crops for commercial aircraft.
- [75] Aeropuertos y Servicios Auxiliares. (2017). Catálogo de precios y tarifas.
- [76] Guadalupe, M., Domínguez, L., García, D., Santiago, D., Javier, J., & Vega, G. (2024). Estado del arte acerca de la descarbonización de transporte en México.
- [77] Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., & Templeton, D. (2008). Determination of Ash in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP); Issue Date: 7/17/2005. www.nrel.gov
- [78] Tapia-Tussell, R., Avila-Arias, J., Maldonado, J. D., Valero, D., Olguin-Maciel, E., Pérez-Brito, D., & Alzate-Gaviria, L. (2018). Biological pretreatment of mexican caribbean macroalgae consortiums using Bm-2 strain (*trametes hirsuta*) and its enzymatic broth to improve biomethane potential. *Energies*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/en11030494>
- [79] Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., & Crocker, D. (2008). Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP) (Revised July 2011). http://www.nrel.gov/biomass/analytical_procedures.html
- [80] Azcorra-May, K. J., Olguin-Maciel, E., Leal-Bautista, R. M., Canche-Escamilla, G., Alzate-Gaviria, L., Toledano-Thompson, T., & Tapia-Tussell, R. (2023). *Sargassum* delignification: a first step to mitigate the socio-economic and environmental impacts in the Caribbean through its sustainable exploitation. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-023-05158-w>
- [81] Adney, B., & Baker, J. (1996). Measurement of Cellulase Activities: Laboratory Analytical Procedure (LAP); Issue Date: 08/12/1996. www.nrel.gov
- [82] Dupont. (s/f). Accellerase1500. Dupont. Ficha técnica.
- [83] Mendoza Jairo, S. G., López Jorge, G. E., & Flórez Luz Marina, P. (2012). Hidrólisis enzimática de residuos de la cosecha de caña de azúcar Hidrólisis enzimática de residuos de la cosecha de caña de azúcar Hydrolysis Enzymatic of crop residues sugar cane ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN. En *Rev. Colomb. Biotecnol* (Número 1).

- [84] Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar.
- [85] Burgos Montañez, L. J. (2020). Cuantificación de azúcares reductores del sustrato en residuos de piña con el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico. *Questionar: Investigación Específica*, 7(1), 57–66. <https://doi.org/10.29097/23461098.308>
- [86] Iphorski, M., & Bozzano, P. B. (2013). Microscopía electrónica de barrido.
- [87] Blommel, P., & Price, R. (2017). Production of alternative gasoline fuels.
- [88] Wang, R., Lorantfy, B., Fusco, S., Olsson, L., & Franzén, C. J. (2021). Analysis of methods for quantifying yeast cell concentration in complex lignocellulosic fermentation processes. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90703-8>
- [89] Lizeth, C., & Garza, G. (2021). Sacarificación y co-fermentación simultanea para la producción de bioetanol a partir de harina de semillas de *Brosimum Alicastrum*.
- [90] Azcorra-May, K. J., Olguin-Maciel, E., Domínguez-Maldonado, J., Toledano-Thompson, T., Leal-Bautista, R. M., Alzate-Gaviria, L., & Tapia-Tussell, R. (2022). *Sargassum* biorefineries: potential opportunities towards shifting from wastes to products. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02407-2>
- [91] Paredes-Camacho, R. M., González-Morales, S., González-Fuentes, J. A., Rodríguez-Jasso, R. M., Benavides-Mendoza, A., Charles-Rodríguez, A. V., & Robledo-Olivo, A. (2023). Characterization of *Sargassum* spp. from the Mexican Caribbean and Its Valorization through Fermentation Process. *Processes*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/pr11030685>
- [92] Chikani-Cabrera, K. D., Fernandes, P. M. B., Tapia-Tussell, R., Parra-Ortiz, D. L., Hernández-Zárate, G., Valdez-Ojeda, R., & Alzate-Gaviria, L. (2022). Improvement in Methane Production from Pelagic *Sargassum* Using Combined Pretreatments. *Life*, 12(8). <https://doi.org/10.3390/life12081214>
- [93] Milledge, J. J., Maneein, S., López, E. A., & Bartlett, D. (2020). *Sargassum* inundations in Turks and Caicos: Methane potential and proximate, ultimate, lipid, amino acid, metal and metalloid analyses. *Energies*, 13(6). <https://doi.org/10.3390/en13061523>
- [94] Oliveira, J. V., Alves, M. M., & Costa, J. C. (2015). Optimization of biogas production from *Sargassum* sp. using a design of experiments to assess the co-digestion with glycerol and waste frying oil. *Bioresource Technology*, 175, 480–485. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.121>

- [95] Pérez, M., & Terrones, M. (2019). Aislamiento, caracterización e identificación molecular de bacterias productoras de celulasas en intestino de lombriz de tierra y su actividad catalítica sobre residuos vegetales con diferente proporción c/n.
- [96] Alzate-Gaviria, L., Domínguez-Maldonado, J., Chablé-Villacís, R., Olguin-Maciel, E., Leal-Bautista, R. M., Canché-Escamilla, G., Caballero-Vázquez, A., Hernández-Zepeda, C., Barredo-Pool, F. A., & Tapia-Tussell, R. (2021). Presence of polyphenols complex aromatic “Lignin” in *Sargassum* Spp. From Mexican Caribbean. *Journal of Marine Science and Engineering*, 9(1), 1–10. <https://doi.org/10.3390/jmse9010006>
- [97] De Souza Filho, P. F., Ribeiro, V. T., Santos, E. S. dos, & Macedo, G. R. de. (2016). Simultaneous saccharification and fermentation of cactus pear biomass-evaluation of using different pretreatments. *Industrial Crops and Products*, 89, 425–433. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.05.028>
- [98] Thompson, T. M., Young, B. R., & Baroutian, S. (2020). Efficiency of hydrothermal pretreatment on the anaerobic digestion of pelagic *Sargassum* for biogas and fertiliser recovery. *Fuel*, 279. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118527>
- [99] Alvarado Flores, J. J., Alcaraz Vera, J. V., Ávalos Rodríguez, M. L., Rutiaga Quiñones, J. G., Valencia, J. E., Guevara Martínez, S. J., Ríos, E. T., & Zarraga, R. A. (2022). Kinetic, thermodynamic, FT-IR, and primary constitution analysis of *Sargassum* spp from Mexico: Potential for hydrogen generation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 47(70), 30107–30127. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2022.05.051>
- [100] Wu, W., Li, P., Huang, L., Wei, Y., Li, J., Zhang, L., & Jin, Y. (2023). The Role of Lignin Structure on Cellulase Adsorption and Enzymatic Hydrolysis. En *Biomass (Switzerland)* (Vol. 3, Número 1, pp. 96–107). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/biomass3010007>
- [101] Zhang, Y., Zhang, M., Alexander Reese, R., Zhang, H., & Xu, B. (2016). Real-time single molecular study of a pretreated cellulose hydrolysis mode and individual enzyme movement. *Biotechnology for Biofuels*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s13068-016-0498-x>
- [102] Jiménez Segura Valeria. (2016). Caracterización de la diversidad de levaduras durante la fermentación de pulque de la hacienda Xochuca en Tlaxco, Tlaxcala. Universidad Autónoma de México.

- [103] Solieri, L., Chand Dakal, T., Croce, M. A., & Giudici, P. (2013). Unravelling genomic diversity of *Zygosaccharomyces rouxii* complex with a link to its life cycle. *FEMS Yeast Research*, 13(3), 245–258. <https://doi.org/10.1111/1567-1364.12027>
- [104] Del Río, P. G., Domínguez, E., Domínguez, V. D., Romani, A., Domingues, L., & Garrote, G. (2019). Third generation bioethanol from invasive macroalgae *Sargassum muticum* using autohydrolysis pretreatment as first step of a biorefinery. *Renewable Energy*, 141, 728–735. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.03.083>
- [105] González-Hernández, Y., Michiels, E., & Perré, P. (2022). A Comprehensive Mechanistic Yeast Model Able to Switch Metabolism According to Growth Conditions. *Fermentation*, 8(12). <https://doi.org/10.3390/fermentation8120710>
- [106] Freile Pelegrín, Y., Robledo, D., Chávez Quintal, C., Vázquez-Delfín, E., Pliego Cortés, H., Bedoux, G., & Bourgougnon, N. (2024). Chemical Composition and Carbohydrate Characterization of Beach-Cast Marine Macrophytes from the Mexican Caribbean: Implications for Potential Bioethanol Production. *Waste and Biomass Valorization*. <https://doi.org/10.1007/s12649-024-02694-y>
- [107] Redina, E., Tkachenko, O., & Salmi, T. (2022). Recent Advances in C5 and C6 Sugar Alcohol Synthesis by Hydrogenation of Monosaccharides and Cellulose Hydrolytic Hydrogenation over Non-Noble Metal Catalysts. *En Molecules* (Vol. 27, Número 4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules27041353>
- [108] Palkovits, R., Tajvidi, K., Procelewska, J., Rinaldi, R., & Ruppert, A. (2010). Hydrogenolysis of cellulose combining mineral acids and hydrogenation catalysts. *Green Chemistry*, 12(6), 972–997. <https://doi.org/10.1039/c000075b>
- [109] Alshammari, H. M., Aldosari, O. F., Alotaibi, M. H., Alotaibi, R. L., Alhumaimess, M. S., Morad, M. H., Adil, S. F., Shaik, M. R., Islam, M. S., Khan, M., & Alwarthan, A. (2021). Facile synthesis and characterization of palladium/carbon catalyst for the suzuki-miyaura and mizoroki-heck coupling reactions. *Applied Sciences* (Switzerland), 11(11). <https://doi.org/10.3390/app11114822>
- [110] Soda, R., Wanmolee, W., Panyapinyopol, B., Boonyoung, P., Kraithong, W., Viriya-empikul, N., Laosiripojana, N., & Nakason, K. (2024). Corn stover-derived biochar supporting dual functional catalyst for direct sorbitol production from cellulosic materials. *Cleaner Materials*, 13. <https://doi.org/10.1016/j.clema.2024.100254>

- [111] Ban, C., Jeon, W., Woo, H. C., & Kim, D. H. (2017). Catalytic Hydrogenation of Macroalgae-Derived Alginic Acid into Sugar Alcohols. *ChemSusChem*, 10(24), 4891–4898. <https://doi.org/10.1002/cssc.201701860>
- [112] Geleynse, S., Brandt, K., Garcia-Perez, M., Wolcott, M., & Zhang, X. (2018). The Alcohol-to-Jet Conversion Pathway for Drop-In Biofuels: Techno-Economic Evaluation. *ChemSusChem*, 11(21), 3728–3741. <https://doi.org/10.1002/cssc.201801690>
- [113] Kubic, W. L., Moore, C. M., Semelsberger, T. A., & Sutton, A. D. (2021). Recycled Paper as a Source of Renewable Jet Fuel in the United States. *Frontiers in Energy Research*, 9. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2021.728682>
- [114] Davis, R., Tao, L., Scarlata, C., Tan, E. C. D., Ross, J., Lukas, J., & Sexton, D. (2015). Process Design and Economics for the Conversion of Lignocellulosic Biomass to Hydrocarbons: Dilute-Acid and Enzymatic Deconstruction of Biomass to Sugars and Catalytic Conversion of Sugars to Hydrocarbons. www.nrel.gov/publications.