

**EVALUACION DE LA IMPLEMENTACION DE HONGOS DE LA PODREDUMBRE  
BLANCA EN UNA FERMENTACION EN SOLIDO PARA LA GENERACION DE  
BIOMASA COMO PRODUCTO DE BENEFICIO ENERGETICO UTILIZANDO  
RESIDUOS LIGNOCELULOSICOS**

**NATALIA ANDREA MENDOZA MORALES  
JULIAN MAURICIO RINCÓN DIAZ**

**Trabajo de grado para optar al título de  
INGENIERO QUÍMICO**

**Orientador(a):**

**ADRIANA INES PÁEZ MORALES  
Microbióloga Industrial M.Sc**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA  
FACULTAD DE ENGENIERÍAS  
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BOGOTÁ D.C.**

**2021**

**NOTA DE ACEPTACIÓN**

---

---


---

---

---

---

---



---

**Directora Adriana Inés Páez Morales**

---

**Firma del Presidente Jurado**

---

**Firma del Jurado**

---

**Firma del Jurado**

**Bogotá D.C. Agosto de 2021**

## **DIRECTIVOS DE LA UNIVERSIDAD**

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

Dr. Mario Posada García Peña

Consejero Institucional

Dr. Luis Jaime Posada García Peña

Vicerrectora Académica y de Investigaciones

Dra. Alexandra Mejía Guzmán

Vicerrector Administrativo y Financiero

Dr. Ricardo Alfonso Peñaranda Castro

Secretario General

José Luis Macías Rodríguez

Decano General Facultad de Ingenierías

Ing. Julio Cesar Fuentes Arismendi

Directora del Departamento de Ingeniería Química

Ing. Nubia Liliana Becerra Ospina

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos únicamente corresponden a los autores

## **AGRADECIMIENTOS**

Damos gracias a nuestras familias, quienes nos apoyan en cada momento de nuestras vidas, brindándonos una guía y compañía incondicionalmente. A nuestros padres, quienes siempre creyeron en nosotros a lo largo de nuestra formación como ingenieros químicos, enseñándonos el valor y el esfuerzo que requiere luchar por lograr nuestras metas y objetivos.

De igual manera, a la profesora Adriana Páez quien no solo nos dio la oportunidad de llevar a cabo esta investigación en su compañía, sino también fue parte esencial en nuestra formación académica, inspirándonos a indagar nuevos enfoques para nuestra carrera, demostrándonos que somos capaces de generar sostenibilidad medioambiental en los procesos industriales actuales.

A el profesor Alexander López, quien nos enseñó a amar nuestra carrera y además se convirtió en un amigo que siempre nos apoyó en nuestra formación académica.

Finalmente, damos gracias a nuestros amigos Natalia Sánchez, Juan Esteban Gonzales y Silvia Sanabria, por la compañía, el apoyo, y las buenas experiencias vividas en el transcurso de nuestra carrera universitaria.

## TABLA DE CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
RESUMEN	13
INTRODUCCIÓN	14
OBJETIVOS	17
1. MARCO TEORICO	
1.1.Residuos agroindustriales en Colombia	18
<i>1.1.1. Residuos lignocelulósicos</i>	19
<i>1.1.2. Composición de los residuos lignocelulósicos</i>	20
1.2.Hongos de la podredumbre blanca (HPB)	24
<i>1.2.1. Enzimas</i>	27
1.3.Fermentación en sólido (FES)	36
<i>1.3.1. Reactores de fermentación</i>	39
1.4.Hidrólisis enzimática	39
1.5.Biomasa	40
<i>1.5.1. Potencial energético en materia orgánica</i>	40
<i>1.5.2. Materia volátil</i>	41
<i>1.5.3. Contenido de humedad</i>	41
1.6.Pirólisis	41
2. METODOLOGIA	
2.1.Revisión sistemática de la información	43
<i>2.1.1. Definición de la pregunta problema</i>	43
<i>2.1.2. Especificación de los criterios de inclusión y exclusión de los estudios</i>	43
<i>2.1.3. Formulación del plan de búsqueda</i>	47
<i>2.1.4. Evaluación de la calidad de la información</i>	48
<i>2.1.5. Interpretación y presentación de los resultados</i>	50
2.2.Implementación de la revisión sistemática	50
<i>2.2.1. Revisión sistemática para residuos agroindustriales en Colombia</i>	50

	<b>Pág.</b>
2.2.2. <i>Revisión sistemática para pretratamientos para los residuos lignocelulósicos</i>	53
2.2.3. <i>Revisión sistemática para microorganismos degradadores de material lignocelulósico</i>	59
2.2.4. <i>Revisión sistemática para la fermentación en solido</i>	62
2.2.5. <i>Revisión sistemática para la biomasa degradada después de la fermentación</i>	64
<b>3. DISCUSION Y RESULTADOS</b>	
3.1. Selección de residuos agroindustriales en Colombia	67
3.1.1. <i>Residuos de la industria del café</i>	68
3.1.2. <i>Residuos de la industria de la caña de azúcar</i>	69
3.1.3. <i>Residuos de la industria de la palma de aceite</i>	70
3.1.4. <i>Residuos de la industria de arroz</i>	71
3.2. Selección de los pretratamientos para los residuos lignocelulósicos	72
3.2.1. <i>Parámetros para los pretratamientos de la biomasa residual</i>	72
3.2.2. <i>Pretratamientos físicos</i>	76
3.2.3. <i>Pretratamientos fisicoquímicos</i>	81
3.2.4. <i>Pretratamientos químicos</i>	83
3.3. Selección de los microorganismos degradadores de material lignocelulósico	84
3.3.1. <i>Uso de bacterias para la producción de enzimas lignocelulolíticas</i>	84
3.3.2. <i>Uso de hongos para la producción de enzimas lignocelulolíticas</i>	85
3.3.3. <i>Uso de consorcios entre bacterias y hongos para la producción de enzimas lignocelulolíticas</i>	87
3.3.4. <i>Caracterización y taxonomía de los hongos de podredumbre blanca</i>	89
3.4. Fermentación en sólido	91
3.4.1. <i>Condiciones de desarrollo de la fermentación</i>	91
3.4.2. <i>Factores de crecimiento del cultivo</i>	98
3.5. Análisis de la biomasa degradada	99
3.5.1. <i>Composición y propiedades de la biomasa</i>	100

	<b>Pág.</b>
3.5.2. <i>Porcentaje de biomasa hidrolizada</i>	103
3.5.3. <i>Aprovechamiento del potencial energético</i>	105
4. CONCLUSIONES	107
BIBLIOGRAFÍA	109
ANEXOS	116



## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1.</b> Esquema de distribución de los componentes lignocelulósicos	20
<b>Figura 2.</b> Molécula de celulosa	21
<b>Figura 3.</b> Molécula de hemicelulosa	22
<b>Figura 4.</b> Monómeros de la lignina	23
<b>Figura 5.</b> Molécula de lignina	24
<b>Figura 6.</b> Aplicaciones de las enzimas lignocelulíticas a materiales lignocelulósicos	27
<b>Figura 7.</b> Ciclo catalítico de las enzimas Lignino peroxidasa (LiP)	33
<b>Figura 8.</b> Etapas de reacción de la enzima manganeso peroxidasa (MnP)	34
<b>Figura 9.</b> Ciclo catalítico de las enzimas Lacasa	35
<b>Figura 10.</b> Reacción de las enzimas lacasa	35
<b>Figura 11.</b> Ruta degradativa de la celulosa	36
<b>Figura 12.</b> Árbol de decisión para la búsqueda de información	48
<b>Figura 13.</b> Funcionamiento de un molino de cuchillas	77
<b>Figura 14.</b> Perspectiva frontal de un molino de martillos	78
<b>Figura 15.</b> Efecto del pretratamiento de calentamiento por microondas en la lignocelulosa	80
<b>Figura 16.</b> Actividad enzimática de las cepas bacterianas y fúngicas	88

## LISTA TABLAS

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1.</b> Área sembrada, área cosechada y producción de los mayores cultivos agro-industriales en Colombia	19
<b>Tabla 2.</b> Porcentaje de los monolignoles dependiendo el tipo de planta	23
<b>Tabla 3.</b> Diferencias entre la fermentación en estado sólido y la fermentación en estado Líquido	38
<b>Tabla 4.</b> Comparación de rendimientos para diferentes procesos termoquímicos	42
<b>Tabla 5.</b> Criterios de inclusión para la búsqueda de información con su respectivo valor ponderado	49
<b>Tabla 6.</b> Tabla de la clasificación de información para la revisión sistemática de residuos agroindustriales	51
<b>Tabla 7a.</b> Tabla de la clasificación de información para la revisión sistemática de los residuos de la industria del café y la caña de azúcar	52
<b>Tabla 7b.</b> Tabla de la clasificación de información para la revisión sistemática de los residuos de la industria de la palma de aceite y del arroz	53
<b>Tabla 8a.</b> Tabla de la clasificación de información para los parámetros para los pretratamientos de la biomasa residual (primera parte)	55
<b>Tabla 8b.</b> Tabla de la clasificación de información para los parámetros para los pretratamientos de la biomasa residual (segunda parte)	56
<b>Tabla 9a.</b> Tabla de la clasificación de información para los diferentes pretratamientos para los residuos lignocelulósicos (primera parte)	57

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 9b.</b> Tabla de la clasificación de información para los diferentes pretratamientos para los residuos lignocelulósicos (segunda parte)	58
<b>Tabla 9c.</b> Tabla de la clasificación de información para los diferentes pretratamientos para los residuos lignocelulósicos (tercera parte)	59
<b>Tabla 10a.</b> Tabla de la clasificación de información para la revisión sistemática de microorganismos degradadores de material lignocelulósico (primera parte)	60
<b>Tabla 10b.</b> Tabla de la clasificación de información para la revisión sistemática de microorganismos degradadores de material lignocelulósico (segunda parte)	61
<b>Tabla 11.</b> Tabla de la clasificación de información para la revisión sistemática de las condiciones de desarrollo de la fermentación en sólido	63
<b>Tabla 12.</b> Tabla de la clasificación de información para la revisión sistemática de los factores de crecimiento del cultivo	64
<b>Tabla 13.</b> Tabla de la clasificación de información para la revisión sistemática para la composición y propiedades de la biomasa	65
<b>Tabla 14.</b> Tabla de la clasificación de información para la revisión sistemática para el aprovechamiento del potencial energético de la biomasa	66
<b>Tabla 15.</b> Taxonomía de los hongos de podredumbre blanca	90
<b>Tabla 16.</b> Valores de actividad del agua para diferentes microorganismos	92
<b>Tabla 17.</b> Valores de Aw reportados en la literatura	93
<b>Tabla 18.</b> Actividad enzimática para el <i>P. Ostreatus</i> , <i>P. Pulmonarius</i> y <i>T. Versicolor</i>	94
<b>Tabla 19.</b> Valores de temperatura reportados en la literatura	95
<b>Tabla 20.</b> Inductores utilizados en la literatura	96

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 21.</b> Valores de relación C/N reportados en la literatura	97
<b>Tabla 22.</b> Valores que pueden tomar las condiciones de fermentación utilizando racimos de fruto vacíos y cascarillas de arroz como sustratos	98
<b>Tabla 23.</b> Caracterización y compuestos de interés en la biomasa resultante de la fermentación en sólido	103
<b>Tabla 24.</b> Condiciones de operación de los tipos de pirólisis convencionales	106

## RESUMEN

Este trabajo de grado fue desarrollado con el fin de plantear una alternativa para el aprovechamiento energético de material lignocelulósico, planteando de manera teórica una fermentación en sólido que permita biodegradar los residuos agroindustriales generados por el procesamiento de la palma de aceite y la cosecha del arroz. Con el apoyo del grupo de investigación de Energías Alternativas de la Fundación Universidad de América, se realiza y se presenta el presente documento.

Para su ejecución se planteó una metodología de búsqueda de la información utilizada, donde se definieron los elementos para una correcta revisión sistemática, que tuvo como resultado una tabla de ponderación, que gracias a los criterios de inclusión y exclusión de los estudios se aceptan y rechazan los documentos revisados.

Inicialmente se definieron los residuos lignocelulósicos utilizados como materia prima, donde la cascarilla de arroz y los residuos de aceite de palma (racimos de fruto vacío, cuesco y fibra) fueron escogidos, ya que, al no ser aprovechados ni reutilizados actualmente en Colombia, facilita el acceso de los mismos. Adicionalmente se evaluaron los posibles pretratamientos a los que se puede someter la biomasa para favorecer el rendimiento de la fermentación, siendo la molienda una etapa esencial previa a la biodegradación.

Para el planteamiento de la fermentación se definieron los hongos de la podredumbre blanca “HPB” como los microorganismos encargados de degradar la biomasa, resaltando como los de mayor actividad enzimática y eficiencia en la hidrólisis de la lignocelulosa. También se establecieron las condiciones de operación que favorecen los factores de crecimiento de los microorganismos, evitando la inhibición del crecimiento de la cepa.

Finalmente, se realizó un análisis teórico de las características de la biomasa degradada, con el fin de evaluar el potencial energético de los compuestos contenidos y su conversión por medio del proceso de pirólisis para obtener biocombustibles como producto de interés.

**Palabras clave:** Lignocelulosa, fermentación en sólido, hidrólisis enzimática, hongos de podredumbre blanca, HPB, pirólisis.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad el sector agroindustrial se desarrolla y destaca en diversos ámbitos debido a la fertilidad de los suelos, la diversidad de ecosistemas y la disponibilidad de terrenos dedicados a la producción de este sector; dentro de las industrias más representativas de este sector en Colombia, se encuentran: la producción de arroz, la industria cafetera, producción de licores, obtención de procesados a partir de frutas y hortalizas, así como las fábricas de aceites y grasas.[1] De las industrias anteriormente mencionadas es importante recalcar que algunas de ellas comparten la misma materia prima, un ejemplo de ello es la caña de azúcar, de la cual se pueden obtener gran variedad de productos de valor agregado y de alto consumo en el país.

Según el artículo titulado “Aprovechamiento de residuos agroindustriales en Colombia” de la revista de investigación agraria y ambiental, existe una dependencia de la posición en la que se encuentra cada país con respecto al ingreso promedio, al producto interno bruto y al consumo de la población para la generación de los residuos dentro del mismo, esto es debido a que los factores mencionados influyen directamente en la cantidad y tipo de consumo de la población. En el caso de Colombia, en productos como: café, palma de aceite, caña de azúcar y panela, maíz, arroz, banano y plátano se producen aproximadamente 71’943.813 ton/año de residuos, que en la mayoría de los casos son incinerados o se llevan a rellenos sanitarios.[2] La problemática que existe en torno a la generación de dichos residuos, es que gran parte de ellos brindan la posibilidad de ser aprovechados para la obtención de diferentes subproductos de gran valor, como biocombustibles, producción de metabolitos primarios y secundarios, compostaje, entre otros. Según el DANE “durante el primer semestre de 2019, de las 2.020.662 UPA (Unidades productoras agropecuarias), 109.744 (5,4%) aprovechan los residuos agrícolas y forestales en el desarrollo de la actividad agropecuaria; en tanto que 1.906.543 UPA (94,4%) no tienen aprovechamiento de estos residuos”. [3] Desde otro punto de vista, la generación de estas cantidades de residuos, representa una oportunidad de gran relevancia para aportar a el crecimiento de las “economías circulares” y el desarrollo sostenible del modelo económico del país.

El impacto ambiental generado hasta la actualidad, como consecuencia del acelerado desarrollo de la población, ha obligado a los gobiernos de los diferentes países a participar en el llamado

“Acuerdo de Paris” en donde se establecen metas en función de la sostenibilidad del consumo actual del mundo; en relación con dicho acuerdo se establecieron los denominados “objetivos del desarrollo sostenible” quienes tienen como finalidad hacer un “llamado universal” para poner fin a la pobreza, proteger el planeta y garantizar que todas las personas gocen de paz y prosperidad, estimado para el año 2030.[4] Para el caso de Colombia, existen gran cantidad de retos para el cumplimiento de dichas metas, una de las acciones que se encuentran en desarrollo es la denominada “transición energética del país” expuesta por el actual presidente Iván Duque Márquez en donde se busca reducir en gran proporción el uso de combustibles fósiles y contaminantes, donde se plantea implementar diferentes tecnologías no contaminantes para abastecer el consumo energético del país, entre ellas están el uso de plantas eólicas, el desarrollo de la energía geotérmica, y el uso de hidrogeno con “menor contenido de carbono”. [5]

De acuerdo con lo anteriormente mencionado, existen biotecnologías que al ser desarrolladas de manera correcta pueden ser de gran ayuda para la solución de las problemáticas medioambientales, y para el desarrollo de las metas y objetivos planteados para el país, por medio de las biorrefinerías, las cuales siguen como fundamento el uso de métodos biológicos y microbiológicos para obtener una diversa gama de productos a partir de distintos tipos de biomasa. En el caso de este proyecto de grado, como se mencionó anteriormente, se plantea de manera teórica una fermentación en sólido de residuos de palma de aceite y cascarilla de arroz utilizando hongos de la podredumbre blanca (HPB), siendo una de las etapas fundamentales para la refinación de dicha biomasa, con el fin de reducir la complejidad y el tamaño estructural de los residuos lignocelulósicos. De esta manera, se tiene mayor accesibilidad a los azúcares contenidos en la biomasa resultante, es decir, al potencial energético no aprovechado de los residuos lignocelulósicos mencionados, y a los posibles subproductos que se puedan obtener, diferentes a los biocombustibles.

Para realizar de manera efectiva una investigación es importante planificar el desarrollo de la misma, una etapa fundamental para dicha investigación es la búsqueda y recopilación de la información necesaria que permitan soportar el enfoque y disminuyan la probabilidad de error del estudio realizado. Para esto se debe plantear una metodología de búsqueda de información confiable y eficaz, que posibilite la obtención de resultados apropiados y con mayor acercamiento a los valores reales de las variables a definir en la investigación. Para esto, se deben tener precisos

los parámetros evaluados para una correcta revisión sistemática que permita filtrar y reducir sesgos asociados a la interpretación de diferentes investigaciones que se encuentran para un mismo problema, de este modo se obtiene información crítica, confiable, precisa y relevante para el problema planteado. Según la revista Colombiana de Gastroenterología se define la revisión sistemática como “un estudio integrativo, observacional, retrospectivo, secundario, en el cual se combinan estudios que examinan la misma pregunta”, y se exponen pasos para el correcto desarrollo de una revisión sistemática.[6] Para desarrollar de manera adecuada la revisión sistemática necesaria para el planteamiento del actual documento, se siguieron los pasos planteados por Beltran, et al., y de la misma manera se adecuaron los diferentes criterios de ponderación de cada parámetro evaluado en los documentos revisados, con el fin de aceptar o rechazar aquellos que no cumplieran con las expectativas en cuanto a la relevancia y confiabilidad de la información brindada en dichos documentos.



## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Evaluar la implementación de hongos de la podredumbre blanca en una fermentación en sólido para la generación de biomasa como producto de beneficio energético utilizando residuos lignocelulósicos.

### **Objetivos Específicos**

1. Analizar sistemáticamente los métodos de pretratamientos fisicoquímicos y biológicos empleados para los residuos lignocelulósicos.
2. Establecer los microorganismos de la degradación de material lignocelulósico a través de una revisión sistemática.
3. Determinar los factores de crecimiento de los hongos de la podredumbre blanca para la fermentación en sólido.
4. Analizar las características teóricas fisicoquímicas del producto obtenido de la fermentación en sólido para el aprovechamiento de su contenido energético.

# 1. MARCO TEÓRICO

## 1.1. Residuos agroindustriales en Colombia

Para definir “Agroindustria” se dice que “es una actividad que integra la producción primaria agrícola, pecuaria o forestal, el proceso de beneficio o transformación, así como la comercialización del producto, sin dejar de lado los aspectos de administración, mercadotecnia y financiamiento”. [7] «Las agroindustrias más representativas a nivel de Colombia, son: la molinería de arroz, las fábricas de alimentos balanceados para animales, las fábricas de chocolates y derivados, la industria de carnes de bovinos y porcinos, la industria del azúcar, la fabricación de procesados a partir de papa, plátano y yuca, al igual que los procesados a partir de frutas y hortalizas, la industria tabacalera, textiles y confecciones, las fábricas de aceites y grasas, jabones y detergentes, los derivados del caucho y los productos lácteos. De igual modo, se observa un incipiente desarrollo en la producción de alcohol para licores y fines médicos, la producción de cerveza y la transformación y conservación de frutas; jugos, mermeladas, pastas, concentrados.» [1]

Según una investigación realizada por el Ministerio de Minas y Energía de Colombia junto a Colciencias, la Universidad Industrial de Santander, el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM) y la Unidad de Planeación Minero Energética (UPME), las fuentes de biomasa residual en el sector agrícola provienen de residuos agrícolas de cosecha y residuos agroindustriales, los cuales ellos definieron los cultivos de mayores generaciones de los residuos. [8] En la tabla 1 se observa el área sembrada, área cosechada y la producción de los mayores cultivos agroindustriales en Colombia, según la Encuesta Nacional Agropecuario (ENA) hecha por el DANE en el año 2017. [3]

Dependiendo de la posición en la que se encuentra cada país con respecto al ingreso promedio, al producto interno bruto y al consumo de la población se generan los residuos, ya que estos influyen en la cantidad y tipo de consumo. En el caso de Colombia, en productos como: café, palma de aceite, caña de azúcar y panelera, maíz, arroz, banano y plátano se producen aproximadamente 71’943.813 ton/año de residuos, que en la mayoría de casos son incinerados o se llevan a rellenos sanitarios. [2]

**Tabla 1.**

*Área sembrada, área cosechada y producción de los mayores cultivos agroindustriales en Colombia.*

Cultivo	Área sembrada/ plantada (ha)	Cve	Participación (%)	Área cosechada/ en edad productiva (ha)	Cve	Participación (%)	Producción (t)	Cve	Participación (%)
<b>Total Agroindustriales</b>	<b>2.049.067</b>	<b>4,6</b>	<b>100,0</b>	<b>1.691.858</b>	<b>4,9</b>	<b>100,0</b>	<b>32.592.356</b>	<b>16,3</b>	<b>100,0</b>
Café <sup>1</sup>	814.808	5,6	39,8	644.665	5,9	38,1	1.062.396	5,9	3,3
Palma de Aceite <sup>2</sup>	517.561	11,3	25,3	455.149	10,5	26,9	7.914.444	11,5	24,3
Caña para azúcar <sup>3</sup>	276.914	19,5	13,5	249.299	21,2	14,7	22.224.596	23,6	68,2
Caña para panela <sup>4</sup>	213.026	7,4	10,4	181.728	8,1	10,7	1.164.443	10,3	3,6
Cacao <sup>5</sup>	129.371	10,7	6,3	104.146	8,7	6,2	89.282	9,6	0,3
Soya <sup>6</sup>	30.705	7,6	1,5	27.313	6,5	1,6	80.106	4,9	0,2
Otros Agroindustriales <sup>7</sup>	66.681	14,8	3,3	29.557	15,7	1,7	57.089	18,1	0,2

**Nota.** En la tabla se observan los mayores cultivos sembrados, cosechados y producidos en Colombia, según la Encuesta Nacional Agropecuaria (ENA) del DANE en el año 2017. Tomado de: DANE, “Boletín Técnico, Encuesta Nacional Agropecuaria,” pp. 1–31, 2019.

### **1.1.1. Residuos lignocelulósicos**

Las características de los residuos agroindustriales son muy variadas, depende del proceso y la materia prima que los genero, sin embargo, estos comparten una característica y es el contenido de materia orgánica que se constituye por lignina, pectina, celulosa y hemicelulosa.[7] Es por esto, que los residuos lignocelulósicos son parte de esos residuos agroindustriales, aquellos residuos orgánicos provenientes de la industria agrícola, pecuaria y forestal que se produce a gran escala y es quemada y manejada en condiciones inadecuadas, produciendo gases de efecto invernadero que contribuyen al calentamiento global. No obstante, los residuos lignocelulósicos son considerados como una alternativa para generar biocombustibles con la ventaja de ser una materia prima abundante y económica. [9]

Gracias a la gran diversidad de Colombia se cuenta con potencial para generar productos con valor agregado que permitan nuevos ingresos además del desarrollo biotecnológico para el país. Gracias a esto se ha realizado diversas investigaciones en base al aprovechamiento y recuperación de los residuos agroindustriales. Dependiendo de su origen y composición, estos residuos pueden ser reutilizados para generar otros productos para el consumo humano o incluso animal, obtención de

biocombustibles, recuperadores de tierra y abonos e incluso producción de energías renovables.  
[2]

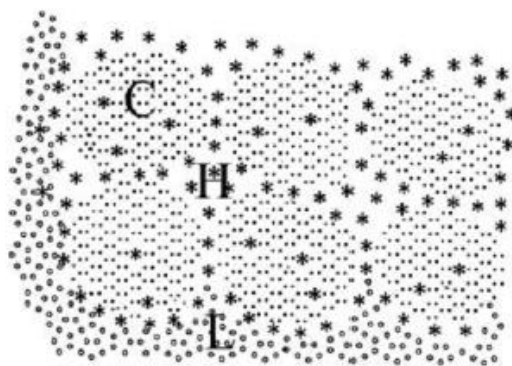
### ***1.1.2. Composición de los residuos lignocelulósicos***

Los residuos lignocelulósicos se componen principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina, que conforman la pared celular de los mismos. La cantidad de estos compuestos depende de la materia. “En el caso de la composición de la madera, los rangos más comúnmente encontrados son: celulosa: 38-50%; hemicelulosa: 23-32% y lignina: 15-25%”. [10] El aprovechamiento de los residuos se ha llevado a cabo por tratamientos biológicos con microorganismos, utilizando fermentación sumergida o sólida, para obtener azúcares o producir enzimas ligninolíticas. [11]

En la figura 1 se puede observar el esquema de distribución de la celulosa, hemicelulosa y lignina en la pared celular vegetal, evidenciando que la molécula de lignina es una capa protectora de los azúcares contenidos en la celulosa y hemicelulosa, por lo cual se necesita romper este componente para llegar a los demás compuestos. Adicionalmente, al contener lignina en la estructura, se hace más rígido el material lignocelulósico.

#### **Figura 1.**

*Esquema de distribución de los componentes lignocelulósicos.*



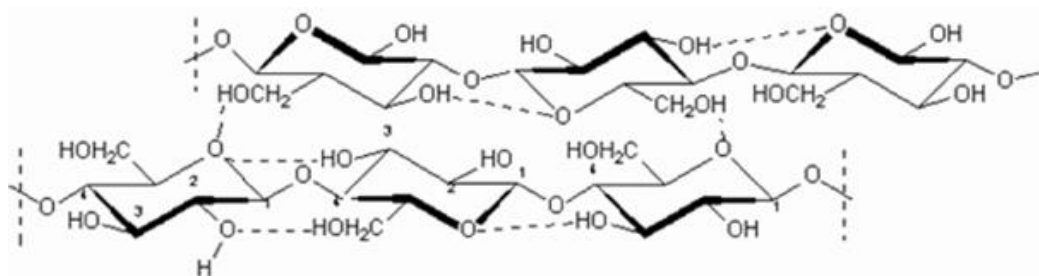
**Nota.** La figura muestra la distribución entre la celulosa (C), hemicelulosa (H) y lignina (L) dentro de la pared celular vegetal. Tomado de: B. Quevedo Hidalgo, “*Evaluación de la Degradación de Residuos de Floricultura Para la Obtención de Azúcares con el Uso de Tres Hongos Lignocelulolíticos,*” Universidad Nacional de Colombia, 2011.

1.1.2.i. Celulosa. Es un biopolímero que conforma la pared celular de las células vegetales siendo el componente principal y se define como un homopolímero lineal de cadena larga. La celulosa se puede utilizar en la industria de papel, alimenticia, textil y demás. [12]

La celulosa está constituida por estructuras cristalinas y estructuras amorfas (ordenadas y desordenadas, respectivamente). Es un polímero formado por monómeros de glucosa en forma piranosónica unidas entre sí. “Las cadenas lineales se colocan de forma antiparalela y ordenada formando micro fibrillas que favorecen la formación de enlaces y puentes de hidrógeno tanto extra moleculares como intermoleculares que dan una mayor rigidez y estabilidad térmica a la molécula de celulosa”. [13] En la figura 2 se puede observar la molécula de celulosa, su organización y estructura.

### Figura 2.

*Molécula de celulosa.*



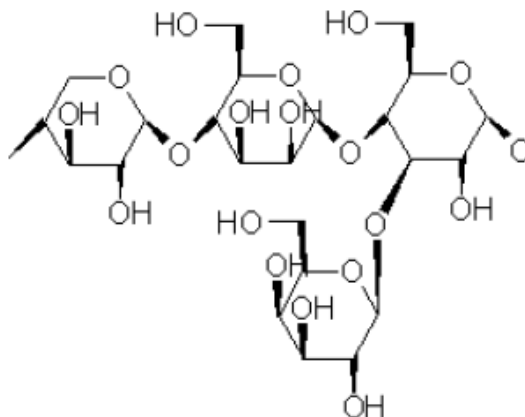
*Nota.* Estructura y organización de la molécula de celulosa. Tomado de: A. Urien, “Obtención de biocarbones y biocombustibles mediante pirólisis de biomasa residual,” Tesis De Máster, p. 83, 2013.

1.1.2.ii. Hemicelulosa. La hemicelulosa es otro de los componentes principales de la pared celular de la materia vegetal y constituye aproximadamente un tercio de esta. Es un conjunto de polisacáridos diferentes, los cuales tienen una cadena principal unida por enlaces beta-1,4-glicosídicos. [9] Es una cadena lineal formada por una variedad de monómeros de azúcares diferentes como: D-Xilosa, L-Arabinosa, D-Glucosa, D-Galactosa, D-Manosa y Ácido Glucurónico, los cuales se unen en distintas proporciones formando una estructura amorfa. [13]

La hemicelulosa se conforma por cadenas ramificadas de menor grado de polimerización, en la figura 3 se puede observar la molécula de hemicelulosa, su organización y estructura.

### Figura 3.

*Molécula de hemicelulosa.*



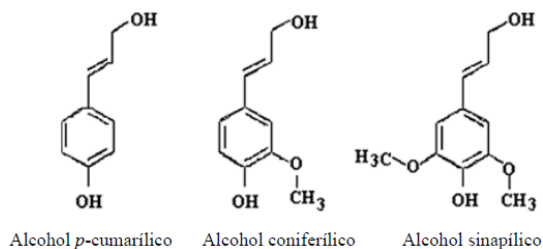
*Nota.* Estructura y organización de la molécula de hemicelulosa. Tomado de: A. Urien, “*Obtención de biocarbones y biocombustibles mediante pirólisis de biomasa residual,*” Tesis De Máster, p. 83, 2013.

1.1.2.iii. Lignina. La lignina junto a la celulosa es una de las biomoléculas más abundantes en la naturaleza. Es un biopolímero aromático ramificado y amorfo resistente a la degradación microbiana en comparación con otros biopolímeros naturales.[9] Es un polímero poli fenólico aromático heterogéneo de cadena larga lo cual le otorga una gran estabilidad térmica. Está compuesta por unidades de fenil propano unidas por enlaces éster. La lignina son copolímeros que se derivan de tres de estas unidades también llamadas “monolignoles” como: Alcohol p-cumarílico o p-hidroxifenilo (H), alcohol coniferílico o guaiacilo (G) y alcohol sinapílico o siringilo (S).[10] En la figura 4 se puede observar los monómeros de la lignina.

Estos monómeros se forman en el citoplasma y se polimerizan para formar la molécula de lignina. El porcentaje de composición de las diferentes unidades depende del tipo de materia prima por ejemplo “El monolignol más abundante en las maderas blandas es el alcohol coniferílico, que puede llegar a superar el 95% del total de monolignoles presentes; mientras que en las maderas duras coexisten fundamentalmente los alcoholes coniferílico y sinapílico.

#### Figura 4.

*Monómeros de la lignina.*



**Nota.** En la figura se observan los 3 diferentes monómeros que conforman la molécula de la lignina. Tomado de: M. Chávez-Sifontes and M. E. Domine, “*Lignina, Estructura y Aplicaciones: Métodos de Despolimerización para la Obtención de Derivados Aromáticos de Interés Industrial,*” Av. cien. ing, vol. 4, no. 4, pp. 15–46, 2013.

En el caso de plantas del tipo herbáceas, puede haber proporciones similares de los tres monolignoles principales”. [10] En la tabla 2 se observa la distribución de las unidades dependiendo la planta.

#### Tabla 2.

*Porcentaje de los monolignoles dependiendo el tipo de planta.*

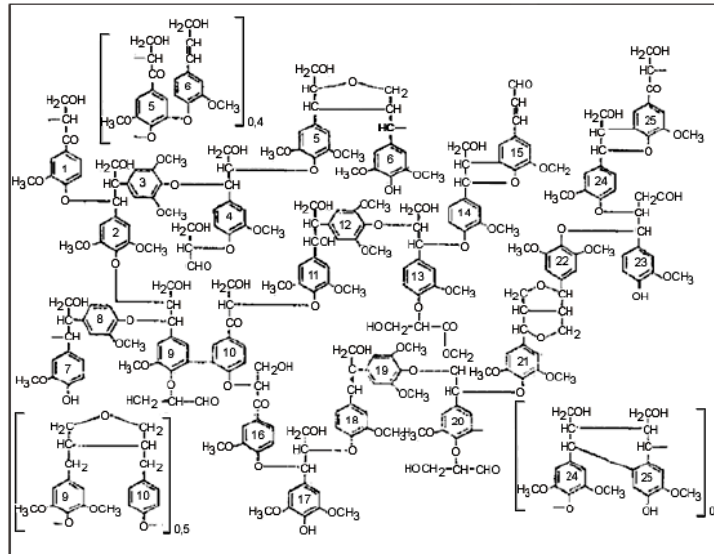
Tipo de planta		Porcentajes		
		Alc. <i>p</i> -cumarílico	Alc. coniferílico	Alc. sinapílico
Gimnospermas	Coníferas (maderas suaves)	<5	>95	0
	Angiospermas			
	Eucotiledoneas (maderas duras)	0-8	25-50	45-75
	Monocotiledoneas (hierbas)	5-35	35-80	20-55

**Nota.** En la tabla se observa el porcentaje de monolignoles para plantas gimnospermas y angiospermas. Tomado de: M. Chávez-Sifontes and M. E. Domine, “*Lignina, Estructura y Aplicaciones: Métodos de Despolimerización para la Obtención de Derivados Aromáticos de Interés Industrial,*” Av. cien. ing, vol. 4, no. 4, pp. 15–46, 2013.

Los monolignoles se generan por reacciones de reducción, hidroxilación, desaminación y metilación catalizada por enzimas. [10] En la figura 5 se observa la estructura y organización de la molécula de lignina.

**Figura 5.**

*Molécula de lignina.*



**Nota.** Estructura y organización de la molécula de la lignina. Tomado de: A. Urien, “*Obtención de biocarbones y biocombustibles mediante pirólisis de biomasa residual,*” Tesis De Máster, p. 83, 2013.

## 1.2. Hongos de la podredumbre blanca (HPB)

Existen diferentes tipos de hongos dependiendo de la estructura la cual ataca la madera y la descomposición que genera, se clasifican en: [11]

- Hongos de podredumbre parda o marrón = Degradan carbohidratos de la pared celular vegetal pero no degradan la molécula de lignina. El color pardo de la madera es concebido por la lignina en la pared celular.
- Hongos de podredumbre blanda = Degradan la madera en humedad generando reblandecimiento en los tejidos y por ende una pérdida de peso.
- Hongos de la podredumbre blanca = Estos hongos utilizan celulosa y hemicelulosa dependiendo el sustrato, y se reconocen dentro de los demás ya que son capaces de degradar la lignina para llegar a la celulosa y hemicelulosa generando una coloración blanca.



Solamente un pequeño número de microorganismos son capaces de degradar la molécula de lignina, es por esto que los hongos de podredumbre blanca son el grupo más importante y destacado y se utilizan comúnmente para la degradación de compuestos recalcitrantes y xenobióticos por la producción de enzimas extracelulares que generan, llamadas comúnmente como enzimas ligninolíticas, las cuales degradan la molécula de la lignina por rutas inespecíficas. [14]

Estos HPB son usualmente Basidiomicetos y rara vez Ascomycetes. Los Basidiomicetos son una división del reino Fungi que producen basidios con basidiosporas además de ser macromicetos (setas).[11] Son microorganismos multicelulares, eucariotas y heterótrofos. Se alimentan por absorción de nutrientes mediante el micelio terrestre, en el cual las hifas absorben los nutrientes por transporte activo y difusión facilitada al degradar el sustrato con las enzimas extracelulares que los hongos expulsan para degradar moléculas complejas y convertirlas en sustancias fáciles de absorber. Se reproducen por medio del micelio aéreo en el cual las hifas terminan en basidios los cuales sostienen las esporas y las hifas micelio se forman radialmente formándose así las colonias del hongo.

A estos hongos de podredumbre blanca también se le llaman hongos ligninolíticos y se destacan por su producción de enzimas ligninolíticas como la lignina peroxidasa, manganeso peroxidasa, lacasa y celulasa además de la producción de otras enzimas como la aril alcohol oxidasa, glucosa oxidasa y la enzima glioxal oxidasa, las cuales producen moléculas de peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ).[15] El carbono, nitrógeno, azufre, hierro y demás minerales son indispensables para el crecimiento de estos hongos donde el carbono es el nutriente de mayor importancia. Como fuente de carbono es común utilizar glucosa, fructosa, sacarosa y almidón y como fuente de nitrógeno se utiliza peptonas, extractos de levadura y cloruro de amonio. [14]

Los hongos requieren trazas de metales para los procesos metabólicos, pero si están en gran proporción pueden ser tóxicos. Los metales requeridos son: cobre, hierro, manganeso, molibdeno, zinc y níquel, y los metales no esenciales son: cromo, cadmio, plomo, mercurio y plata. De igual forma requiere cationes como componentes esenciales para el proceso de degradación de la pared celular. El calcio es fundamental para la estabilización de la membrana. El magnesio es un cofactor

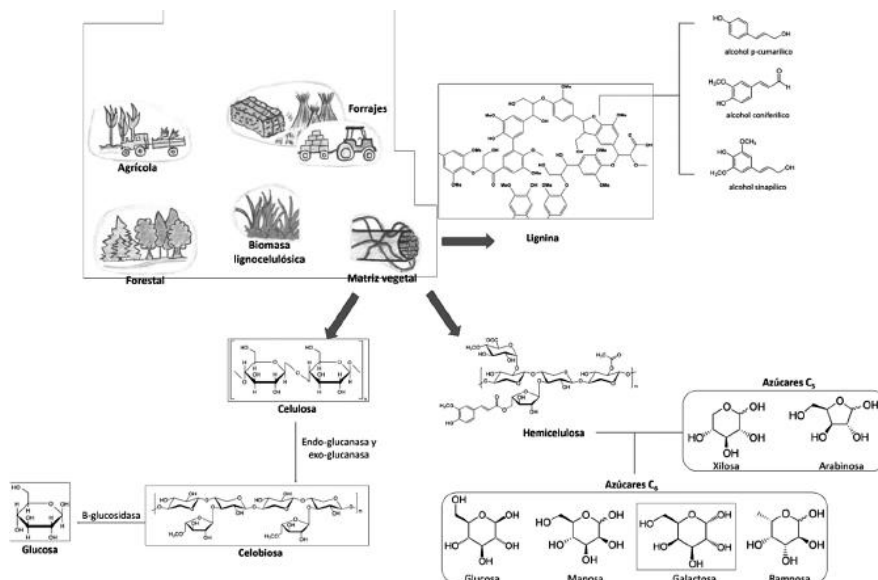
de las enzimas y la utilización de ATP. El potasio es un electrolito ubicado en el citosol. El magnesio es un macronutriente y un cofactor fundamental para la síntesis de la pared celular, reparación del ADN y utilización de la molécula de ATP. El electrolito más importante es el potasio y le sigue el magnesio. El cobre es un micronutriente esencial para la activación de enzimas como las oxidasas, pero a altas concentraciones de cobre se inhibe el crecimiento del hongo. Por otro lado, el hierro es un componente de las enzimas que realizan la degradación de la lignina y es un cofactor de otras enzimas, aunque es un elemento esencial puede ser tóxico para el hongo ya que a mayores cantidades el hierro tiene la capacidad de catalizar la formación de radicales como el hidroxilo, el cual es altamente reactivo y tóxico para el hongo. [11]

“Entre los hongos de la pudrición blanca, las especies *Phanerochaete chrysosporium* y *Trametes versicolor* han sido ampliamente estudiadas”. [16] «Por ejemplo, *Trametes versicolor* degradó en 36 h de incubación el 46% y el 65% de fenantreno (100 mg/l) en cultivo agitado o estático, respectivamente. *Trametes maxima* y *Ganoderma zonationum* fueron capaces de degradar el 99% y el 73% de DDT, respectivamente, y un extracto crudo de enzimas de *Pleurotus djamor* degradó el 90,39% del tinte Direct Blue 14 en 6 h de incubación.» [15]

La degradación de las moléculas de celulosa, hemicelulosa y lignina gracias a las enzimas ligninolíticas permiten la obtención de moléculas más simples como glucosa, manosa, xilosa y demás. La ruptura de la lignina a sus monómeros G, S y H permite que la estructura se ablande y se aproveche estas moléculas posteriormente para diversas aplicaciones industriales. En la figura 6 se observa la degradación de estas moléculas y los productos obtenidos.

**Figura 6.**

*Aplicaciones de las enzimas lignocelulíticas a materiales lignocelulósicos.*



**Nota.** Productos obtenidos por la degradación de moléculas de celulosa, hemicelulosa y lignina mediante enzimas lignocelulíticas. Tomado de: M. Viguera, Gabriel; Figueroa Montero, Arturo; Hernandez Guerrero, “*Valorización de Residuos Lignocelulósicos : Materiales , Biomoléculas , Azúcares Fermentables y Enzimas*”, Primera Ed., no. October. Universidad autonoma Metropolitana, Ciudad de Mexico, 2019.

### 1.2.1. Enzimas

Las enzimas son proteínas capaces de catalizar reacciones debido a su capacidad de activación específica. Estas proteínas pueden aumentar la velocidad de reacción para la generación de productos de interés. El término “específica” se refiere a que las enzimas son específicas para cada reacción a catalizar, no todas las enzimas tienen afinidad con los mismos sustratos, a diferencia de los catalizadores convencionales. [17]

Existen 6 grupo diferentes donde se clasifican las enzimas, donde el grupo otorga el primer número en la nomenclatura de las enzimas. A continuación, se describirán los grupos de clasificación.

#### 1.2.1.i. Clasificación de las Enzimas.

1.2.1.i.a. Oxidorreductasas (Grupo 1). Son enzimas que catalizan reacciones de oxido-reducción, tiene lugar la transferencia de electrones o átomos de hidrogeno de un dador a un aceptor (de reductor a oxidante), también se refiere a la incorporación de átomos de oxígeno al sustrato.[17]

Las enzimas oxidorreductasas se dividen en:

- Deshidrogenasas: son las enzimas que catalizan la transferencia de electrones en forma de átomos de hidrogeno. Normalmente se utilizan coenzimas para estas reacciones como nucleótidos de nicotinamida ( $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADP}^+$ ), nucleótidos de flavina (FAD), etc. Un ejemplo es la enzima Alcohol deshidrogenasa (ADH) que cataliza la oxidación de alcoholes a aldehídos utilizando la coenzima  $\text{NAD}^+$  como aceptor. El mayor ejemplo de esta enzima es en la fermentación alcohólica cuando se pasa de Etanol a Acetaldehído. [17]
- Oxidasas: son aquellas enzimas que catalizan la transferencia de átomos de oxígeno utilizándolo como aceptor, produciéndose moléculas de  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  o  $\text{O}_2$  en algunos casos. Al utilizar oxígeno molecular, son reacciones aérobicas y un ejemplo es la enzima Glucosa oxidasa (GOD) de origen fúngico y que utiliza la coenzima FAD. Esta enzima cambia a la molécula de glucosa pasando de D-Glucosa a D-Gluconolactona. [17]
- Peroxidasas: son aquellas que utilizan peróxidos como aceptores de electrones. Comúnmente utilizan peróxido de hidrogeno para convertirlo en agua. Un ejemplo es la enzima Catalasa que cataliza la descomposición de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{O}_2$ . [17]
- Oxigenasas: son aquellas que introducen una molécula de oxígeno al sustrato. Un ejemplo es la enzima Homogentisato-1,2-dioxigenasa, que forma parte de la degradación de los aminoácidos fenilalanina y tirosina. Se pasa de Homogentisato a Maleilacetoacetato al adicionar oxígeno. [17]
- Hidroxilasas: catalizan la adición de una molécula de oxígeno generando un grupo hidroxilo (OH). Un ejemplo es la enzima Fenilalanina 4-monooxigenasa o Fenilalanina hidroxilasa, que cataliza la aparición de Tirosina a partir de Fenilalanina. [17]
- Reductasas: se denominan reductasas a muchas reacciones oxidorreductasas cuando la reacción más importante es de reducción. Un ejemplo es la enzima Dihidrofolato reductasa, la cual reduce el Dihidrofolato a Tetrahidrofolato con el uso de la coenzima  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  a  $\text{NADP}^+$ . [17]

1.2.1.i.b. Transferasas (Grupo 2). Son parecidas a las oxidorreductasas con la diferencia que son reacciones que implican el cambio de un grupo funcional y se clasifican según el grupo funcional transferido.[17] Las enzimas transferasas se dividen en subgrupos cuando:

- Transfieren grupos monocarbonados: son aquellos que transfieren de dador a aceptor un grupo metilo (-CH<sub>3</sub>), hidroximetilo (-CH<sub>2</sub>OH), formil (-CHO) y formimino (-CHNH). Un ejemplo es la enzima Catecol-O-metiltransferasa (COMT) que pasa de Noradrenalina a 3-O-Metilnoradrenalina. [17]
- Glicosil transferasas: aquellos que transfieren restos glicosilo entre dador y aceptor. Las denominadas fosforilasas son un ejemplo cuando el aceptor es fosfato inorgánico. Un ejemplo es la enzima Glucógeno fosforilasa cuando cataliza la degradación de glucógeno que pasa a ser glucosa. [17]
- Transfieren grupos nitrogenados: en este subgrupo se destacan las aminotransferasas o transaminasas. Estas catalizan el intercambio entre un grupo amino entre un cetoácido y un aminoácido. Un ejemplo es la enzima Aspartato aminotransferasa que cataliza la transaminación de aspartato, donde el Aspartato + α-Cetoglutarato se transforma en Oxalacetato + Glutamato. [17]
- Fosfotransferasas o kinasas: normalmente el compuesto dador es el ATP y es un grupo donde se encuentran enzimas como las DNA polimerasas y RNA polimerasas. Un ejemplo es la enzima Creatinkinasa (CK) que transfiere un fosfato desde ATP a la creatina, por lo cual la Creatina pasa a ser Creatinfosfato y la molécula de ATP pasa a ser ADP. [17]

1.2.1.i.c. Hidrolasas (Grupo 3). Son enzimas que catalizan las reacciones de hidrolisis, donde la molécula de agua se rompe y se genera un producto con el ion -OH.[17] Los subgrupos más representativos son:

- Hidrolizar enlaces éster: como el nombre lo indica rompen en enlaces éster en las moléculas. Un ejemplo es la enzima Acetilcolinesterasa que pasa de Acetilcolina a Acetato + Colina con ayuda del agua. [17]

- Glicósido hidrolasas (Glicosidasas): son aquellas reacciones que hidrolizan enlaces glicosídicos. Un ejemplo es la enzima Lisozima que hidroliza los enlaces b-glicosídicos entre N-acetilmurámico y N-acetil glucosamina de los peptidoglicanos. [17]
- Péptido hidrolasas: son aquellas reacciones que hidrolizan enlaces peptídicos, también se denominan peptidasas. Un ejemplo es la enzima Pepsina que hidrolizan los enlaces establecidos entre aminoácidos hidrofóbicos y/o aromáticos.[17]
- Acil anhídrido hidrolasas: la particularidad es que hidrolizan anhídridos fosfóricos y por sobre todo las ATPasas. Un ejemplo es la enzima ATPasa transportadora de  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ , la cual se encuentra en la membrana plasmática de las células animales.[17]

1.2.1.i.d. Liasas (Grupo 4). Son enzimas que catalizan reacciones de adición o sustracción de un grupo hacia o desde un doble enlace.[17] Se divide en:

- Liasas C-C: conocidas también como descarboxilasas que eliminan grupos carboxilo. Un ejemplo es la enzima Histidina descarboxilasa que hidroliza la Histidina a Histamina produciendo  $\text{CO}_2$ . [17]
- Liasas C-O: conocidas como hidratasas o deshidratasas que catalizan la adición o eliminación del agua en el doble enlace de la molécula. Un ejemplo es la enzima Carbonato deshidratasa o Anhidrasa carbónica la cual cataliza la hidratación de  $\text{CO}_2$  a Ácido carbónico. [17]

1.2.1.i.e. Isomerasas (Grupo 5). Son aquellas que catalizan reagrupamientos en una misma molécula. Cambian entre configuración de carbonos asimétricos, isomeraciones y cambio de grupos funcionales.[17] Se divide en:

- Racemasas y epímeras: estas enzimas catalizan la inversión de la configuración en un carbono asimétrico. Un ejemplo es la enzima Alanina racemasa que cambia de L-Alanina a D-Alanina. [17]
- Isomerasas cis-trans: estas enzimas catalizan la inversión de la configuración cis-trans en un doble enlace. Un ejemplo es la enzima Retinal isomerasa que cambia de todo-trans-retinal a 11-cis-retinal. [17]

- Oxidorreductasas intramoleculares: son enzimas que intervienen en el cambio de grupo funcional, como de aldosas a cetosas. Un ejemplo es la enzima Glucosa-6-fosfato isomerasa, que cataliza el cambio de a-D-Glucosa-6-fosfato a a-D-Fructosa-6-fosfato.[17]

1.2.1.i.f. Ligasas o Sintetasas (Grupo 6). Estas enzimas catalizan la hidrólisis de una molécula de ATP generando fosfato inorgánico o pirofosfato inorgánico y combinando los dos sustratos.[17]

Se dividen en:

- Ligasas C-O: son aquellas enzimas que catalizan la formación de enlaces C-O. Un ejemplo es la enzima Tirosina-tRNA ligasa, aquella que cataliza la unión entre un aminoácido con su respectivo tARN y la reacción es dependiente de ATP. [17]
- Ligasas C-N: son aquellas enzimas que catalizan la formación de enlaces C-N, entre ellas se destacan las enzimas glutamina sintasas, que introducen un grupo  $-NH_3$  en el carbono terminal del glutamato. Un ejemplo es la enzima Glutamato-amonio ligasa, donde el Glutamato + ATP +  $NH_4^+$  produce Glutamina + ADP + Pi. [17]
- Ligasas C-C: son aquellas enzimas que catalizan la formación de enlaces C-C, comúnmente en reacciones de carboxilación, conocidas como carboxilasas. Un ejemplo es la enzima Acetil-CoA carboxilasa que transforma la molécula de Acetil-CoA en Malonil-CoA cambiando de ATP a ADP + Pi y produciendo  $CO_2$ . [17]

1.2.1.ii. Enzimas Intracelulares y Extracelulares. Las enzimas intracelulares son aquellas que se sintetizan dentro de la célula y funcionan dentro de la misma. Las reacciones catalizadas por estas enzimas ocurren en el citoplasma o en los diversos organelos, como en la mitocondria, en el núcleo, en los cloroplastos, y demás.

A diferencia de las enzimas extracelulares que son aquellas sintetizadas dentro de la célula, pero es expulsada de ella para dar lugar a las reacciones en el ambiente externo. Una característica de las enzimas extracelulares es que son más fáciles de identificar y de separar en comparación con las intracelulares, ya que en estas se debe romper la membrana y/o pared celular para la extracción de estas proteínas.

1.2.1.iii. Enzimas Lignocelulolíticas. Las enzimas lignocelulolíticas son aquellas que degradan las moléculas de celulosa, hemicelulosa y lignina a productos menos complejos. Son producidas por hongos ligninolíticos y estas enzimas son específicas para degradar este tipo de sustratos a condiciones específicas de cada hongo.

Las enzimas ligninolíticas son la lignino peroxidasa, manganeso peroxidasa, lacasa y celulasa. Son extracelulares y no todas están presentes en el momento de la degradación del material lignocelulósico, depende de las condiciones del ambiente y del hongo empleado.

1.2.1.iii.a. Lignino peroxidasa (LiP). Esta enzima también se conoce como ligninasa, la cual se encarga de hidrolizar la molécula de lignina y es una de las principales enzimas en lograrlo, ya que la lignina puede ser hidrolizada con el uso de otras enzimas ligninasas como la manganeso peroxidasa. Esta enzima es una glicoproteína y es producida por la mayoría de hongos basidiomicetos dependiendo del medio de cultivo, además tiene alto potencial redox por lo cual oxida compuesto fenólicos y no fenólicos. [11]

Al ser una enzima peroxidasa se requiere de  $H_2O_2$  como oxidante para catalizar las reacciones en las cuales se involucra la lignino peroxidasa, generando así que “los enlaces  $C\alpha-C\beta$  de los lados de la cadena propil, hidroxilación de grupos metileno bencílico, oxidación de alcohol bencílico para obtener aldehídos o cetonas, oxidación de fenoles y rompimiento de anillos aromáticos de los compuestos no fenólicos de la lignina”. [11]

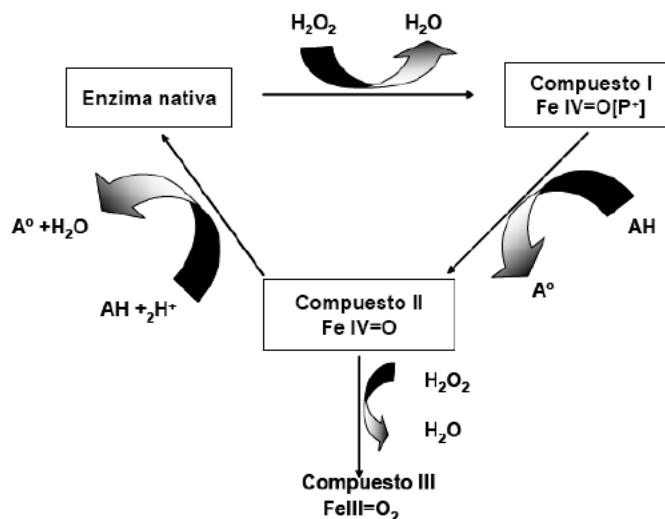
“LiP oxida las estructuras de lignina no fenólicas mediante la remoción de un electrón y la generación de cationes”. [9] En la figura 7 se puede observar la ruta catalítica de las enzimas lignino peroxidasa, donde al oxidarse por la molécula de  $H_2O_2$  se genera un compuesto deficiente en dos electrones, el cual se puede oxidar y generar otro compuesto ahora deficiente en un electrón. Si existe un exceso de la molécula  $H_2O_2$  la enzima no se regenera porque se sigue oxidando el compuesto generando otras moléculas, inhibiendo la capacidad enzimática. Para evitar esta inhibición se hace uso de mediadores redox, los cuales son buenos sustratos para la enzima ya que actúan como mediador oxidando otros sustratos indirectamente. Un compuesto utilizado



comúnmente es el veratril alcohol que estimula la oxidación y evitando la inhibición de la enzima. [11]

**Figura 7.**

*Ciclo catalítico de las enzimas Lignino peroxidasa (LiP).*



**Nota.** Reacción catalítica que realiza la enzima lignino peroxidasa (LiP) donde puede haber dos rutas, regeneración de la enzima (realizando un ciclo catalítico) o formación de compuestos a partir de exceso de hierro. Tomado de: B. Quevedo Hidalgo, “Evaluación de la Degradación de Residuos de Floricultura Para la Obtención de Azúcares con el Uso de Tres Hongos Lignocelulolíticos,” Universidad Nacional de Colombia, 2011.

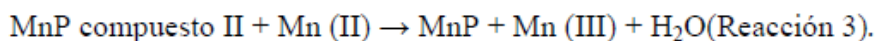
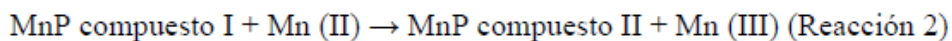
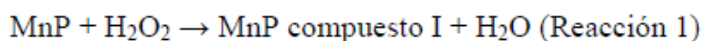
1.2.1.iii.b. Manganese peroxidasa (MnP). La enzima Manganese peroxidasa también se conoce como ligninasa ya que se enfoca en la hidrólisis de la molécula de lignina. Al igual que la lignino peroxidasa, esta enzima es sintetizada por hongos basidiomicetos dependiendo del medio de cultivo, con la diferencia que es más común la secreción de la enzima manganese peroxidasa que la de lignino peroxidasa. Esta enzima requiere de la molécula  $H_2O_2$  como agente oxidante la cual “oxida  $Mn^{2+}$  a  $Mn^{3+}$ , que luego oxida los compuestos fenólicos a radicales fenoxi”[9] en la estructura de la lignina.

Normalmente no oxida compuestos no fenólicos y su potencial redox es más bajo a diferencia de la LiP, aunque generalmente los hongos basidiomicetos secretan ambas enzimas dependiendo del medio de cultivo y esta enzima depende de iones libres de  $Mn^{2+}$ . Al oxidar  $Mn^{2+}$  a  $Mn^{3+}$  se

estabiliza la reacción con el uso de ácidos orgánicos secretados por los mismos hongos basidiomicetos como: oxalato, malonato, glioxilato, etc. En la figura 8 se observa las etapas de reacción de la enzima manganeso peroxidasa donde la enzima reacciona con el  $\text{H}_2\text{O}_2$  y genera un complejo enzima-sustrato con generación de  $\text{H}_2\text{O}$  el cual posteriormente el complejo reacciona con  $\text{Mn}^{2+}$  para producir otro complejo y  $\text{Mn}^{3+}$ . Por último, ese segundo complejo reacciona con más  $\text{Mn}^{2+}$  para regenerar la enzima MnP y generar más  $\text{Mn}^{3+}$  que oxidan los sustratos orgánicos. [11]

### Figura 8.

*Etapas de reacción de la enzima manganeso peroxidasa (MnP).*



**Nota.** Diferentes etapas de reacción que realiza la enzima manganeso peroxidasa (MnP). Tomado de: B. Quevedo Hidalgo, “*Evaluación de la Degradación de Residuos de Floricultura Para la Obtención de Azúcares con el Uso de Tres Hongos Lignocelulolíticos,*” Universidad Nacional de Colombia, 2011.

1.2.1.iii.c. Lacasa. Las enzimas lacasas son fenol oxidasas multicobre que sobresalen por ser enzimas que catalizan la reducción de oxígeno molecular para formar agua donde simultáneamente catalizan la oxidación de compuestos aromáticos a fenoles y se acoplan a diferentes sustratos como por ejemplo los fenoles, aminas, ligninas, y demás compuestos. [9]

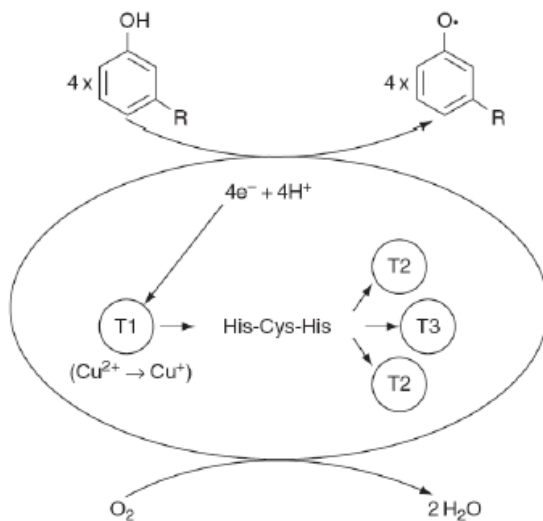
A diferencia de la LiP y la MnP, las lacasas no necesitan de la molécula  $\text{H}_2\text{O}_2$  como agente reductor y no solo son secretadas por hongos de podredumbre blanca sino también por diferentes grupos de hongos y bacterias, como también de algunas plantas e incluso insectos. [11]

«El sitio activo de cada molécula de lacasa tiene cuatro iones cobre, uno tipo I (T1), uno tipo 2 (T2) y dos tipo 3 (T3). Los sitios de los dos iones cobre T3 están antiferromagnéticamente acoplados. Los sitios T2 y T3 están organizados en un único grupo que es capaz de ligarse al oxígeno, el cual es el aceptor final de

electrones.»[11] En la figura 9 se puede observar el ciclo catalítico de las enzimas lacasa y en la figura 10 se observa la reacción general del funcionamiento de las enzimas lacasa.

**Figura 9.**

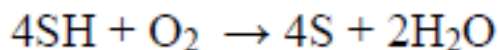
*Ciclo catalítico de las enzimas Lacasa.*



**Nota.** Ciclo catalítico que realiza la enzima lacasa en su mecanismo de reacción. Tomado de: B. Quevedo Hidalgo, “Evaluación de la Degradación de Residuos de Floricultura Para la Obtención de Azúcares con el Uso de Tres Hongos Lignocelulolíticos,” Universidad Nacional de Colombia, 2011.

**Figura 10.**

*Reacción de las enzimas lacasa.*



**Nota.** Reacción general del poder catalítico de las enzimas lacasa. Tomado de: B. Quevedo Hidalgo, “Evaluación de la Degradación de Residuos de Floricultura Para la Obtención de Azúcares con el Uso de Tres Hongos Lignocelulolíticos,” Universidad Nacional de Colombia, 2011.

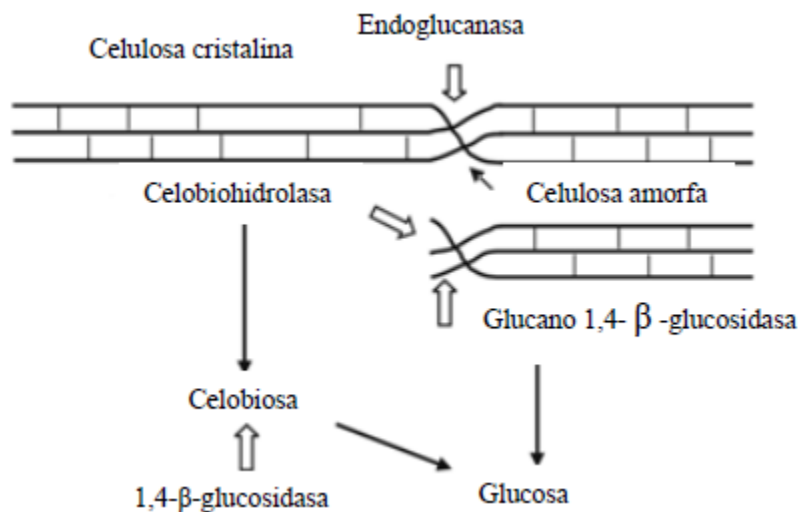
1.2.1.iii.d. Celulasa. Las enzimas celulasas tienen el poder de catalizar reacciones involucradas en el rompimiento de la molécula de celulosa y en ocasiones la molécula de hemicelulosa. Forman parte de las endoglucanasas como la enzima 1,4-b-D-Glucano glucanohidrolasas también llamadas

1,4-b-endoglucanasa o celulasa la cual hidroliza enlaces 1,4-b-D-glucosídicos, también forman parte de las exoglucanasas como la enzima 1,4-b-D-glucano celobiohidrolasa o celebiohidrolasa, quien hidroliza los enlaces 1,4-b-D-glucosídicos.[9] “La hidrólisis final de los oligosacáridos es mediada por la  $\beta$ -D-glucósido glucohidrolasa (EC 3.2.1.21) (1,4- $\beta$  glucosidasa), la cual actúa sobre los extremos no reductores  $\beta$ -D-glucosa liberando  $\beta$ -D glucosa”. [11]

En la figura 11 se puede observar la ruta de degradación de la celulosa mediante las enzimas celulasas. [11]

**Figura 11.**

*Ruta degradativa de la celulosa.*



**Nota.** Ruta degradativa que realizan las enzimas celulasas a la molécula de celulosa. Tomado de: B. Quevedo Hidalgo, “Evaluación de la Degradación de Residuos de Floricultura Para la Obtención de Azúcares con el Uso de Tres Hongos Lignocelulolíticos,” Universidad Nacional de Colombia, 2011.

**1.3.Fermentación en sólido (FES)**

«La fermentación es el proceso por el cual los microorganismos catalizan nutrientes, sintetizan metabolitos secundarios, y completan otras actividades fisiológicas en condiciones aeróbicas o anaeróbicas. Durante el proceso, los microorganismos o los metabolitos microbianos son acumulados. Por lo tanto, hay tres elementos del estudio de la fermentación: el producto objetivo claro, la cepa productora, y el ambiente de

producción deseado (nutrientes, temperatura, humedad, oxígeno, etc.)».[18] Existen dos tipos de fermentación, la fermentación en sólido (FES) y la fermentación en líquido (FEL), con el paso de los años, durante las épocas en los que los avances industriales aumentaron la demanda de compuestos como acetona, butanol, y penicilina, causaron que la industria de la fermentación en líquido creciera mucho más rápido que la FES, tanto así que ésta tuvo un “retroceso” en el que se desestimaron los beneficios que ofrecía por encima de la que hasta el día de hoy sigue siendo la más practicada, como por ejemplo el ahorro de energía, las propiedades que disminuyen los costos de producción y el gran ahorro de agua para su desarrollo.

La fermentación en estado sólido tiene la característica de que no se encuentra grandes cantidades de agua libre en el sustrato sólido; de la misma manera, la FES es un sistema de tres fases: la fase gaseosa, la película líquida y la fase sólida. «Cabe señalar que no existe una relación obvia entre el contenido de agua de el sustrato y el contenido de agua libre. Debido a la fuerte sujeción hidráulica capacidad del sustrato sólido, como la del material vegetal de la remolacha azucarera, incluso si el contenido de agua del sustrato es superior al 80%, rara vez hay agua libre entre el sustrato sólido. En consecuencia, el contenido de agua no puede definirse como el único estándar de fermentación sólida». [18]

El contenido de agua del sustrato sólido se puede mantener eficazmente en el rango del 12 al 80%, en su mayoría alrededor del 60%. A diferencia de la fermentación en estado sólido, el contenido de agua típico de la fermentación líquida es superior al 95%. Adicionalmente, en comparación con la fermentación líquida, la principal ventaja de la fermentación en estado sólido es un suministro suficiente de oxígeno. Hay menos aguas residuales orgánicas y mayor rendimiento de producto en la fermentación en estado sólido. El entorno sólido es más similar al hábitat natural de los hongos filamentosos. Se podrían producir productos de alto valor agregado mediante fermentación en estado sólido utilizando residuos industriales y agrícolas de bajo costo como sustrato. En consecuencia, la fermentación en estado sólido es la tecnología más prometedora que puede utilizar de manera integral los recursos renovables. [18]

En la actualidad, los productos de fermentación en estado sólido incluyen principalmente alimentos tradicionales (vinagre, salsa de soja, especias aromatizantes); células microbianas (proteína unicelular, espirulina, hongos comestibles, etc.); enzimas microbianas (amilasa,

glucosidasa, celulasa); y otros metabolitos microbianos (nucleótidos, lípidos, vitaminas, aminoácidos, etc.).[18] En la tabla 3 se observan las diferencias entre la fermentación en sólido y la fermentación líquida.

**Tabla 3.**

*Diferencias entre la fermentación en estado sólido y la fermentación en estado líquido.*

<b>FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO</b>	<b>FERMENTACIÓN EN ESTADO LÍQUIDO</b>
No hay agua libre y el contenido de agua del sustrato es bajo	El agua es el componente principal de la cultura
Los microorganismos absorben los nutrientes del sustrato sólido húmedo; existe un gradiente de concentración de nutrientes	Los microorganismos absorben nutrientes del cultivo líquido; no hay gradiente de concentración de nutrientes
El sistema de cultivo consta de tres fases (gas, líquido, sólido) y el gas es la fase continua	El sistema de cultivo se compone principalmente de líquido; el líquido es la fase continua
El tamaño de la inoculación es grande, más del 10%	El tamaño de la inoculación es pequeño, menos del 10%
El oxígeno requerido proviene de la fase gaseosa; bajo consumo de energía	El oxígeno requerido proviene del oxígeno disuelto; hay una mayor cantidad de oxígeno
Los microorganismos se adsorben o penetran en el sustrato sólido	Los microorganismos se distribuyen uniformemente en el sistema de cultivo
Al final de la fermentación, el medio es un sustrato en estado húmedo y las concentraciones de productos son altas	Al final de la fermentación, el medio es líquido y las concentraciones de productos son bajas
Alta tasa de producción y alto rendimiento del producto	Baja tasa de producción y bajo rendimiento del producto
La mezcla es difícil y el crecimiento de microorganismos está restringido por la difusión de nutrientes	La mezcla es fácil y el crecimiento de microorganismos no está restringido por la difusión de nutrientes
La eliminación del calor metabólico es difícil	El control de temperatura es fácil
Heterogeneidad	Homogeneidad
El proceso de fermentación es difícil de detectar y controlar en línea	El proceso de fermentación se puede detectar y controlar en línea
El proceso de extracción es simple y controlable; poca agua orgánica residual	El proceso de extracción suele ser complejo; hay una gran cantidad de aguas residuales orgánicas
Actividad de agua baja	Alta actividad de agua
Recipiente de fermentación simple	Recipiente de fermentación sellado
Enriquecimiento natural o cepas de reproducción artificial	Cepas puras
El consumo de energía y la inversión en equipos son elevados	El consumo de energía y la inversión en equipos son bajos
Bajo costo de materia prima	Alto costo de materia prima

**Nota.** En la tabla se destacan algunas de las diferencias entre ambos tipos de fermentación. Tomado de: H. Chen, *Modern Solid State Fermentation (Theory and Practice)*, no. July. Beijing, China: Institute of Process Engineering. CAS, 2013.

### ***1.3.1. Reactores de fermentación***

La base para el proceso de fermentación es el biorreactor a utilizar, donde en la FES todavía se están desarrollando los sistemas en el biorreactor, ya que aún se presentan problemas asociados a los lechos sólidos, las características de transferencia de calor y la manipulación de materiales, además, de que la eliminación del calor es la principal preocupación, ya que el aumento de temperatura en el medio puede llegar a inhibir las enzimas producidas o incluso la muerte celular de los microorganismos. [18]

Los biorreactores actuales se pueden resumir en dos tipos: reactores estáticos y reactores dinámicos. El reactor estático es aquel donde el medio de cultivo está en estado estacionario, es decir que las variables que se miden sobre el medio permanecen constantes en el tiempo; este tipo de fermentación causa dificultades en la transferencia de masa y calor, suministro de oxígeno y control de variables importantes como temperatura, humedad y pH. Por otro lado, los reactores dinámicos son aquellos donde el medio de cultivo está en movimiento continuo o intermitente, lo cual mejora la transferencia de masa y calor además del suministro de oxígeno, sin embargo, las partes mecánicas utilizadas en el reactor pueden llegar a desfavorecer la operación aséptica del mismo, además del consumo de energía y probabilidad de daño micelial en los microorganismos. [18]

Hasta la fecha, se han desarrollado muchos tipos de reactores para SSF (incluidas las escalas de producción de laboratorio, piloto e industrial), donde los más destacados son: tipo de tambor, tipo de caja de madera, tipo de placa tapada, tipo de caja de cultivo vertical, tipo de caja de cultivo inclinada, tipo de bandeja, tipo de cinta transportadora, tipo de cilindro y tipo mixto. Independientemente de los tipos de biorreactores, se deben considerar los siguientes aspectos a la hora de realizar la fermentación: inoculación, esterilización, características del sustrato de fermentación, suministro de aire, medición de los parámetros y control, muestreo y análisis y simplicidad de la estructura para que sea fácil de operar. [18]

### **1.4.Hidrólisis enzimática**

La hidrólisis enzimática consiste en el uso de enzimas intracelulares o extracelulares capaces de degradar un material en específico, rompiendo los enlaces que generan la estabilidad y la dificultad de ser degradados de manera natural. La definición de hidrólisis según Oxford es que la hidrólisis hace referencia a la descomposición de sustancias orgánicas por acción del agua, sin embargo, materia orgánica como los compuestos lignocelulósicos que son mucho más complicados de ser degradados naturalmente deben ser degradados por un factor externo que acelere su descomposición, este es el caso de los microorganismos como los hongos que para su metabolismo liberan enzimas lignocelulolíticas que funcionan como catalizadores y promueven las reacciones de hidrólisis que permite la conversión de polímeros como la lignina y la celulosa en carbohidratos y compuestos con cadenas más cortas y fáciles de consumir por los hongos. La hidrólisis enzimática es una de las operaciones más importantes, en la que compuestos como los polisacáridos son hidrolizados en monosacáridos que subsecuentemente pueden ser convertidos en etanol por microorganismos. [19]

## **1.5.Biomasa**

«La materia orgánica, en particular la materia celulósica o lignocelulósica, está disponible de forma renovable o recurrente, incluidos cultivos y árboles energéticos dedicados, madera y residuos de madera, plantas y residuos asociados, residuos de cultivos de alimentos y piensos agrícolas, fibra vegetal, plantas acuáticas, Residuos, residuos industriales específicos, el componente papel de los residuos sólidos urbanos, otros residuos, todos ellos denominados biomasa».[20] De acuerdo con lo mencionado, la biomasa resulta ser un material que debido a su composición en gran variedad de ocasiones tiene un potencial energético relevante el cual puede ser aprovechado, sin embargo, los estados de obtención de la biomasa varían, por lo que residuos distintos sectores agrícolas son inicialmente tratados para la obtención de una biomasa con mayor potencial energético.

### ***1.5.1. Potencial energético en materia orgánica***

El potencial energético o capacidad calorífica de la materia orgánica, son términos que pueden ser evaluados de distintas maneras, todas dependiendo de la composición de dicho material. Dentro de los compuestos orgánicos muchos de ellos son aprovechados energéticamente debido a su



capacidad reaccionar con el oxígeno, generando gran cantidad de energía calorífica que hoy en día tiene infinidad de propósitos industriales y domésticos, éste es el caso de muchos de productos derivados del petróleo. De igual manera, materia orgánica como biomasa de residuos agroindustriales tienen dicho potencial debido a las largas cadenas de carbohidratos que contienen, sin embargo, en muchos casos estos están polimerizados y su capacidad de hacer combustión es disminuida en gran proporción. Hoy en día, la biomasa sigue siendo un tema de crecimiento importancia en todo el mundo, en particular debido a su idoneidad como fuente de bioenergía, como resultado del aumento de la demanda de energía, el aumento constante del precio de los combustibles fósiles y la necesidad de reducir Emisiones de gases de efecto invernadero. [20]

### ***1.5.2. Materia volátil***

La materia volátil contenida por la biomasa, no es más que aquellas cadenas de carbono que han sido hidrolizadas de tal manera que se obtienen compuestos muy ligeros que su punto de ebullición es mucho menor que todos los demás producidos durante la fermentación, por lo tanto, la mayoría de estos compuestos se encuentran libres en fase gaseosa dentro de todos los productos obtenidos. El estudio y determinación del contenido de los compuestos orgánicos volátiles en la biomasa producida es de suma importancia, pues estos pueden ser aprovechados como combustible libre obtenido de manera indirecta.

### ***1.5.3. Contenido de humedad***

La fermentación en sólido es un método de degradación de material orgánico con el uso de microorganismos que no requieren un medio acuoso y un porcentaje de humedad muy alto, brindando la oportunidad de ahorrar energía para el postratamiento de la biomasa obtenida en la retirada de líquidos de la biomasa que disminuyan su capacidad energética y el rendimiento de procesos que buscan separar la materia orgánica en otro tipo de combustibles como la pirólisis.

## **1.6. Pirólisis**

«La pirólisis es un proceso termoquímico que convierte la materia orgánica en combustible útiles, con un alto rendimiento, mediante calentamiento a temperatura moderadamente alta (350-650°C) y en ausencia de oxígeno. Por su capacidad de tratamiento, es el método más eficaz para competir con las fuentes de combustibles no renovables. Desde un punto de vista químico, la pirólisis es un proceso complejo. Generalmente, se lleva a cabo a través de una serie de reacciones en las que influyen muchos factores: la estructura y composición de la materia prima, la tecnología utilizada, la velocidad de calentamiento, el tiempo de residencia, la velocidad de enfriamiento y la temperatura del proceso».[13] Los distintos tipos de procesos de pirólisis se clasifican atendiendo a la velocidad de calentamiento, el tiempo de residencia y la temperatura final en: carbonización, pirólisis convencional, pirólisis rápida, pirólisis flash de gases y líquidos, pirólisis ultra rápida, pirólisis a vacío, hidro-pirólisis y metano pirólisis. Cada tipo de pirólisis también tiene un propósito diferente, en el que varía la obtención de cada tipo de producto: productos líquidos, biochar (biocarbón), y productos gaseosos. En la tabla 4 se presentan los rendimientos de cada uno de los procesos termoquímicos.

**Tabla 4.**

*Comparación de rendimientos para diferentes procesos termoquímicos.*

PROCESO	RENDIMIENTOS (%)		
	LIQUIDOS	CHAR	GAS
PIRÓLISIS RÁPIDA	75	12	13
PIRÓLISIS CONVENCIONAL	50	20	30
CARBONIZACIÓN	30	35	35
GASIFICACIÓN	5	10	85

*Nota.* En la tabla se observan los diferentes rendimientos expresados en % peso/peso de las fracciones de líquidos, char y gas para diferentes procesos termoquímicos. Tomado de: A. Urien, “*Obtención de biocarbones y biocombustibles mediante pirólisis de biomasa residual,*” Tesis De Máster, p. 83, 2013.

La pirólisis, es por tanto, un proceso flexible, que permite, mediante el uso de la tecnología adecuada, favorecer la producción de gases, líquidos o aceites y biocarbones. [13]

## **2. METODOLOGÍA**

### **2.1.Revisión sistemática de la información**

Para la revisión sistemática de este documento, primero se debe plantear la metodología de búsqueda de información confiable y eficaz para obtener los resultados apropiados y con mayor acercamiento a los valores reales de las variables a definir. Para esto, se deben tener precisos los elementos para una correcta revisión sistemática que nos permitirá filtrar y reducir los sesgos asociados a la interpretación de las diferentes investigaciones que se encuentran para un mismo problema, así de este modo se obtiene información crítica, confiable, precisa y relevante para el problema planteado.

Según la Revista Colombiana de Gastroenterología se define la revisión sistemática como “un estudio integrativo, observacional, retrospectivo, secundario, en el cual se combinan estudios que examinan la misma pregunta” [6], donde también exponen los pasos de desarrollo de una revisión sistemática que se mencionan a continuación:

#### ***2.1.1. Definición de la pregunta problema***

En este primer paso se requiere que el planteamiento del problema se convierta en una pregunta puntual que pueda ser respondida. Entre más precisión se defina en los componentes principales tales como población, intervención de interés, contra quien se compara, entre otros, más exacta será la revisión. [6]

#### ***2.1.2. Especificación de los criterios de inclusión y exclusión de los estudios***

Según la Revista Colombiana de Gastroenterología, en este paso se deben señalar las características de los estudios para ser incluidos o excluidos. Estas características son elegidas a priori y tienen que ser de aspecto relevante. [6]

La estrategia de búsqueda para esta revisión inicia con la identificación de las bases de datos a utilizar. Estas bases de datos son electrónicas y son principalmente las compartidas por la universidad ya que otorgan mayor confianza al momento de la investigación, estas bases de datos son: Google Académico que permite una investigación avanzada de la información, Scopus, ScienceDirect y Knovel ya que son bases compartidas por la universidad para la investigación científica, y PubMed adicionalmente, ayuda a ampliar la búsqueda de información científica, para finalmente con la ayuda de SCImago Journal evaluar las revistas científicas con indicadores de impacto como el Índice Q y el Índice H, que hacen referencia a la cantidad de citas bibliográficas que tiene el artículo y la cantidad de citas que ha tenido, respectivamente.

Para los criterios de inclusión aplicados en este capítulo se tiene en cuenta los siguientes.

2.1.2.i. Idioma. Según el ranking de SCImago Journal en la categoría de ingeniería química, las primeras 10 revistas con mejor calificación son de origen estadounidense y europeo. Esto indica que el idioma destacado es el inglés. Por otro lado, el idioma español es utilizado en los países latinoamericanos, donde Colombia hace parte de este grupo, por esto, este criterio se clasifica en dos, inglés y español. La puntuación para el idioma es del 5% del total de la clasificación.

2.1.2.ii. Ubicación. Este criterio tiene un rango de ponderación en función de la ubicación del artículo, ya que se relaciona directamente con la relevancia del mismo. Por ejemplo, en el caso de que el objetivo sea encontrar la información de las investigaciones realizadas en Colombia, esta será la ubicación definida para este criterio y obtendrá la mayor calificación. Sin embargo, si hay artículos donde se hable del tema de interés sin ubicarse en Colombia, el estudio no cumplirá con el criterio de ubicación y su valor ponderado va a disminuir. Esto no quiere decir que se descartara el artículo inmediatamente, ya que por eso existen más criterios para la clasificación de la información.

2.1.2.iii. Fecha de publicación. Según el Ministerio de Ambiente en 2015, Colombia «tiene como objetivo principal definir los lineamientos y proporcionar herramientas para la planificación y toma de decisiones que permitan el desarrollo, fomento y promoción tanto de la oferta como de la demanda de los negocios verdes y sostenibles en el país, mediante el desarrollo de una plataforma adecuada de

instrumentos, incentivos, coordinación y articulación institucional orientada al crecimiento económico, la generación de empleo y la conservación del capital natural».[21] El termino economía circular se empezó a desarrollar en el país a mediados del 2015, es por esto que el criterio de ubicación tiene un rango temporal relevante entre 2015 y 2021, asegurando una revisión sistemática con información actualizada. Así mismo, este criterio tiene una puntuación elevada siendo del 20% de la clasificación total. Si existen artículos relevantes para la revisión sistemática pero no cumplen con el rango de fecha de publicación, este criterio disminuirá la ponderación 2 puntos por cada año menor al límite inferior (2015). Por ejemplo: si el estudio se publicó en 2010 quiere decir que su puntuación en este criterio será de 10 puntos (y no de 20 que es el máximo valor), pero si la publicación es del 2017, el puntaje será de 20 puntos.

2.1.2.iv. Calificación SCImago. Este criterio se divide en dos evaluaciones, el índice Q y el índice H. Estos indicadores son propios de la página de SCImago y son para evaluar las revistas científicas. Ambos indicadores son importantes y directamente proporcionales, por esto este criterio evalúa ambos indicadores como uno solo y no por separado. En caso de cumplir con el índice Q e índice H, se asignará el valor máximo para este criterio que corresponde al 15% del total.

- Índice Q = El índice Q representa los cuartiles al que pertenece la revista, quiere decir la posición que ocupa la revista a evaluar dentro de la categoría temática de la misma y se calcula en función del SCImago Journal Ranking (SJR). El valor de SJR es otro indicador propio de la página de SCImago donde se obtiene por la contabilización del número de citas recibidas en los últimos 3 años ponderando la importancia y/o prestigio de las revistas de donde provienen estas citas. Así, la calificación para el cuartil parte del número SJR que tenga y el género al que pertenezca la revista, por ejemplo: La revista a evaluar pertenece a un género en específico donde existirá un número "X" de revistas en esa categoría, cada una tiene un valor de SJR que se ordenaran de manera descendente, luego la cantidad total de revistas se dividirá entre 4 (ya que son 4 cuartiles) y se subdividirán las revistas dependiendo de su posición. Si la revista es de la categoría "Medicina" y existen 284 revistas en este género, cada una tendrá un valor de SJR y se ordenará de forma descendente. Las revistas que se encuentren dentro de la posición 1 a la 71 pertenecerán al cuartil 1 (Q1), de la posición 72 a la 142 será el cuartil 2 (Q2), de la posición 142 a la 213 será el cuartil 3 (Q3) y finalmente de la posición 214 a la 284 será el

cuartil 4 (Q4). Las revistas ubicadas en el Q1 son aquellas mejor posicionadas y de mayor prestigio. [22], [23]

- Índice H = Este indicador hace referencia a la cantidad de citas que ha recibido una revista en un tiempo dado. Este indicador también se puede dar a un autor, una revista o a un país. El índice H se obtiene si se han publicado H trabajos con H número de citas, por ejemplo: Si una revista tiene un índice H de 4 quiere decir que la revista posee mínimo 4 artículos que tienen al menos 4 citaciones cada uno. Se considera que las revistas con un valor H alto, son las revistas, países y/o autores mejor calificados y de mayor prestigio. [23]

Cabe resaltar que el portal de SCImago Journal está basada en la base de datos de Scopus, sin embargo, la fuente editorial de esta base de datos es Elsevier, el cual también cuenta con la base de datos de Science Direct.[24] Esto indica que, la calificación de este criterio no tiene limitación en su evaluación, ya que sin importar la base de datos en la que se basa la búsqueda de información, puede existir que la revista pertenezca o no a la editorial de Elsevier, por tanto, puede tener o no el índice Q e índice H. En los casos donde la revista no cuenta con índice Q e índice H, este criterio tiene un valor de 0.

2.1.2.v. Datos de publicación. Este criterio hace referencia a los datos mínimos que debe contener un artículo o una tesis para mayor credibilidad en la información, obteniendo un valor de 10% de la calificación total. Dentro de estos datos mínimos se encuentran:

- Nombre del autor.
- La fecha de publicación (ya sea artículo o tesis).
- Ubicación de donde se publica el estudio.
- En caso de ser artículo científico, es importante especificar la revista donde se publica el artículo.
- La facultad se tiene en cuenta ya que permite ver si el artículo está relacionado con lo que se está buscando y el área al que pertenece (aplica para artículo y tesis).
- En caso de que el estudio sea una tesis de maestría o doctorado, es importante especificar el título que se desea obtener con la publicación de dicho estudio.

2.1.2.vi. Contenido. Este criterio es uno de los de mayor relevancia ya que nos dará los datos y la información que contendrá la revisión sistemática, es por esto que tiene un valor máximo de 40% del total de la calificación. La evaluación a este criterio se basa en el tipo de información que se utiliza de los estudios encontrados. Por ejemplo, si la información que se recopila es del marco teórico o la introducción del estudio, el valor de este criterio no es de 40 puntos (el máximo valor), por el contrario, si la información tiene que ver con el desarrollo del estudio, el análisis y los resultados, la puntuación que se otorga es la máxima para este criterio.

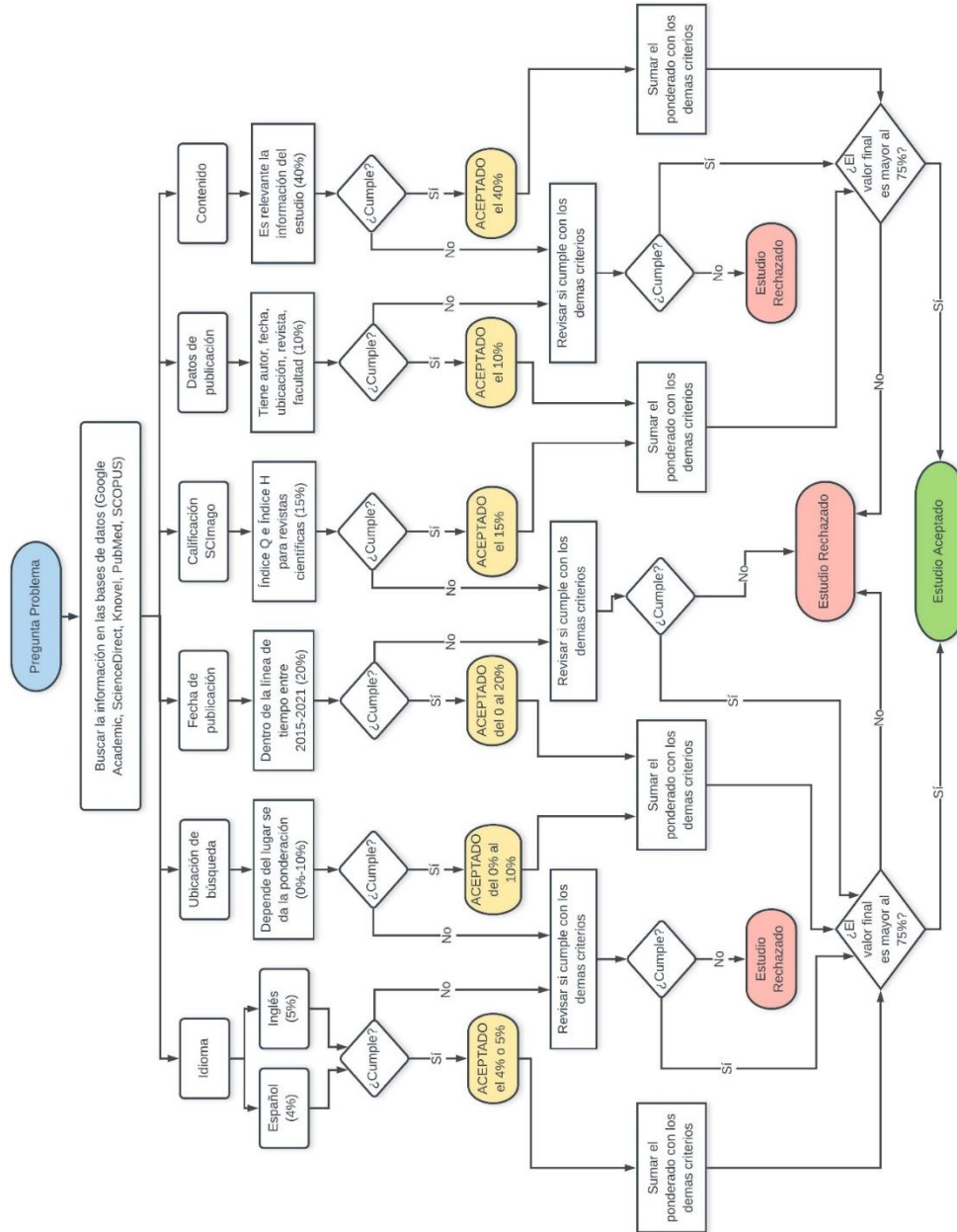
### ***2.1.3. Formulación del plan de búsqueda***

En este paso se realiza la estrategia de búsqueda donde debe estar claramente descrito el plan a desarrollar como un protocolo.[6] Para esto, se realiza un árbol de decisión como se observa en la figura 12, que describe como llegar a un resultado de información confiable para aplicar en la revisión sistemática.

En este árbol de decisión se muestran las diferentes rutas que se pueden obtener dependiendo de la evaluación y ponderación otorgado a cada criterio para el estudio. El diagrama está dividido en los criterios de evaluación, donde se observa las opciones si el criterio se cumple o no. Es importante resaltar que los criterios son dependientes entre sí, es decir, no se puede llegar a un resultado de aceptación o rechazo de un estudio si solo se evalúa un criterio, deben ser evaluados todos.

**Figura 12.**

*Árbol de decisión para la búsqueda de información.*



**Nota.** En la imagen se muestra los diferentes caminos que existen para la aceptación o el rechazo de la información buscada y encontrada.

**2.1.4. Evaluación de la calidad de la información**



Este paso se refiere específicamente a incluir escalas, criterios preestablecidos o ponderación a los criterios para la búsqueda de información.[6] En el ítem 2.1.2 se definen los criterios de búsqueda y se especifica la ponderación de cada uno. En la tabla 5 se observan los criterios de inclusión tanto para artículos científicos como tesis de maestrías o doctorados, con su respectivo valor ponderado. Si el documento tiene una calificación final mayor a 75 puntos (75%) para los artículos científicos y 64 puntos (64%) para tesis de maestrías o doctorados, este será aceptado y se incluirá en la revisión sistemática, de lo contrario será rechazado.

Cabe resaltar que el valor de aceptación para las tesis es diferente de los artículos ya que las tesis no cuentan con el criterio de la calificación SCImago, por ende, el 100% de calificación de las tesis equivalen a 85 puntos. Para aceptar la información calificada en los artículos, estos deben cumplir con mínimo el 75% de la calificación. En el caso de las tesis, el 75% de 85 puntos es 64 puntos aproximado. Es por esto que las tesis tienen un puntaje de aceptación de mínimo 64 puntos (o 64%) y los artículos de 75 puntos (o 75%).

**Tabla 5.**

*Criterios de inclusión para la búsqueda de información con su respectivo valor ponderado.*

PALABRAS CLAVE				
BUSCADOR (BASE DE DATOS)				
TÍTULO DOCUMENTO ENCONTRADO				
TIPO DE DOCUMENTO	ARTICULO CIENTIFICO		TESIS MAESTRIA O DOCTORADO	
IDIOMA (5%)	PONDERADO	ESPECIFICACION	PONDERADO	ESPECIFICACION
· ESPAÑOL (80%)		-		-
· INGLÉS (100%)		-		-
UBICACIÓN DE BÚSQUEDA (0% - 10%)				
FECHA DE PUBLICACIÓN (20%)				
CALIFICACIÓN SCIMAGO PARA REVISTAS CIENTIFICAS (15 %)		-	-	-
· INDICE H	-		-	-
· INDICE Q	-		-	-
DATOS DE PUBLICACIÓN (10%)	-	-	-	-
· AUTOR		-		-
· FECHA		-		-
· UBICACIÓN		-		-
· REVISTA		-	-	-
· FACULTAD		-		-
· TÍTULO A OBTENER	-	-		-
CONTENIDO (0% - 40%)		-		-
RESULTADO FINAL (>75%)				

*Nota.* En la tabla se muestran los criterios para la evaluación de la información buscada, identificando la diferencia entre la evaluación de los artículos científicos y las tesis de maestrías y doctorados.

### ***2.1.5. Interpretación y presentación de los resultados***

Finalmente, en este paso se muestra los resultados obtenidos en la aplicación de los criterios y la metodología de búsqueda de información.

## **2.2. Implementación de la revisión sistemática**

Ya definido y establecido el proceso para la búsqueda de la información confiable, se procede a aplicar esta metodología a las revisiones correspondientes. A continuación, se evalúa y se exponen los resultados de los documentos que se involucran para cada revisión.

### ***2.2.1. Revisión sistemática para residuos agroindustriales en Colombia***

Para la revisión sistemática de los residuos agroindustriales se plantea la siguiente pregunta problema: ¿Qué residuos agroindustriales son aptos para llevar a cabo la fermentación en solido? Esta pregunta identifica los componentes principales para la búsqueda necesaria para resolverla. Así mismo, gracias a la pregunta, se puede dar respuesta a la primera parte esencial del objetivo específico 1.

Los criterios de inclusión y exclusión de información que se exponen anteriormente, son utilizados para esta primera parte del documento, donde el criterio de ubicación se definió en el territorio de Colombia y la fecha optima en el rango de 2015 a 2021. En la tabla 6 se puede observar los resultados de la metodología aplicada para esta primera revisión.

**Tabla 6.**

*Tabla de la clasificación de información para la revisión sistemática de residuos agroindustriales.*

<b>Residuos Agroindustriales</b>			
<b>PALABRAS CLAVE</b>		Residuos agroindustriales en Colombia	ENA 2017
<b>BUSCADOR</b>		Google Académico	Google Académico
<b>TITULO DOCUMENTO</b>		Aprovechamiento de residuos agroindustriales en Colombia	Boletín Técnico, Encuesta Nacional Agropecuaria (ENA) 2017
<b>TIPO DE DOCUMENTO</b>		Artículo	Artículo
<b>IDIOMA (5%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Español	Español
	<b>PONDERADO</b>	5	5
<b>UBICACIÓN (10%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Colombia	Colombia
	<b>PONDERADO</b>	10	10
<b>FECHA DE PUBLICACION (20%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	2017	2019
	<b>PONDERADO</b>	20	20
<b>CALIFICACION SCIMAGO (15%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Indice Q = NA Indice H = NA	Indice Q = NA Indice H = NA
	<b>PONDERADO</b>	0	0
<b>DATOS DE PUBLICACION (10%)</b>	<b>PONDERADO</b>	10	8
<b>CONTENIDO (40%)</b>	<b>PONDERADO</b>	40	40
<b>TOTAL</b>		85	83
<b>RESULTADO FINAL (&gt;75%)</b>		Aceptado	Aceptado

**Nota.** En la tabla se observan los estudios evaluados para la revisión sistemática de los residuos agroindustriales, resaltando cada criterio evaluado, su respectivo valor ponderado y si es aprobado o no.

Por otro lado, según la Encuesta Nacional Agropecuaria (ENA) en 2017, los productos destacados en el grupo de agroindustriales son el café, la palma de aceite y la caña de azúcar.[3] Es por esto, que se evalúan los residuos de estas industrias junto con la industria del arroz para saber cuáles son óptimas para la fermentación en sólido.

Para la revisión de los residuos de cada industria se tiene en cuenta los criterios establecidos anteriormente, incluyendo la ubicación definida en Colombia y el rango de tiempo entre 2015 y 2021. En la tabla 7a y 7b se observan los resultados de la calificación para esta revisión.

**Tabla 7a.**

*Tabla de la clasificación de información para la revisión sistemática de los residuos de la industria del café y la caña de azúcar.*

<b>Residuos de la Industria:</b>		<b>Del Café</b>		<b>De Caña de Azúcar</b>	
<b>PALABRAS CLAVE</b>		<i>Buscado Anteriormente</i>	Pulpa y mucilago de café	<i>Buscado Anteriormente</i>	Residuos de la caña de azúcar
<b>BUSCADOR</b>			Scopus		Google Académico
<b>TITULO DOCUMENTO</b>		Aprovechamiento de residuos agroindustriales en Colombia	Applications of Compounds from Coffee Processing By-products	Aprovechamiento de residuos agroindustriales en Colombia	Aprovechamiento de Residuos de Cosecha de la Caña de Azúcar
<b>TIPO DE DOCUMENTO</b>		Articulo	Articulo	Articulo	Articulo
<b>IDIOMA (5%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Español	Inglés	Español	Español
	<b>PONDERADO</b>	5	5	5	5
<b>UBICACIÓN (10%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Colombia	España	Colombia	Mexico
	<b>PONDERADO</b>	10	8	10	6
<b>FECHA DE PUBLICACION (20%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	2017	2020	2017	2016
	<b>PONDERADO</b>	20	20	20	20
<b>CALIFICACION SCIMAGO (15%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Indice Q = NA Indice H = NA	Indice Q = 1 Indice H = 44	Indice Q = NA Indice H = NA	Indice Q = NA Indice H = NA
	<b>PONDERADO</b>	0	12	0	0
<b>DATOS DE PUBLICACION (10%)</b>	<b>PONDERADO</b>	10	10	10	10
<b>CONTENIDO (40%)</b>	<b>PONDERADO</b>	40	40	40	40
<b>TOTAL</b>		85	95	85	81
<b>RESULTADO FINAL (&gt;75%)</b>		Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado

*Nota.* En la tabla se observan los estudios evaluados para la revisión sistemática de los residuos para las industrias del café y la caña de azúcar, resaltando cada criterio evaluado, su respectivo valor ponderado y si es aprobado o no.

**Tabla 7b.**

*Tabla de la clasificación de información para la revisión sistemática de los residuos de la industria de la palma de aceite y del arroz.*

<b>Residuos de la Industria:</b>		<b>De Palma de Aceite</b>	<b>De Arroz</b>		
<b>PALABRAS CLAVE</b>		Residuos de la palma de aceite	<i>Buscado Anteriormente</i>	Residuos del arroz	Cascarilla de arroz
<b>BUSCADOR</b>		Google Académico		Google Académico	Scopus
<b>TITULO DOCUMENTO</b>		Subproductos de la Palma de Aceite como Materias Primas de Biomasa	Aprovechamiento de residuos agroindustriales en Colombia	Alternativas de Aprovechamiento de la Cascarilla de Arroz en	Pyrolysis System to Obtain Carbonaceous Material from Rice Husk Used as a
<b>TIPO DE DOCUMENTO</b>		Articulo	Articulo	Tesis	Articulo
<b>IDIOMA (5%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Español	Español	Español	Inglés
	<b>PONDERADO</b>	5	5	5	5
<b>UBICACIÓN (10%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Colombia	Colombia	Colombia	Colombia
	<b>PONDERADO</b>	10	10	10	10
<b>FECHA DE PUBLICACION (20%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	2016	2017	2009	2020
	<b>PONDERADO</b>	20	20	8	20
<b>CALIFICACION SCIMAGO (15%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Indice Q = NA Indice H = NA	Indice Q = NA Indice H = NA	Indice Q = NA Indice H = NA	Indice Q = NA Indice H = 1
	<b>PONDERADO</b>	0	0	0	0
<b>DATOS DE PUBLICACION (10%)</b>	<b>PONDERADO</b>	10	10	10	10
<b>CONTENIDO (40%)</b>	<b>PONDERADO</b>	40	40	40	35
<b>TOTAL</b>		85	85	73	80
<b>RESULTADO FINAL (&gt;75%)</b>		Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado

*Nota.* En la tabla se observan los estudios evaluados para la revisión sistemática de los residuos de las industrias de la palma de aceite y del arroz, resaltando cada criterio evaluado, su respectivo valor ponderado y si es aprobado o no.

### **2.2.2. Revisión sistemática para pretratamientos para los residuos lignocelulósicos**

Para esta revisión sistemática se plantea la siguiente pregunta problema: ¿Es necesario implementar el uso de un tratamiento previo al tratamiento microbiológico en una fermentación en solido? Gracias a esta pregunta se identifican los componentes principales para la búsqueda de información necesaria para dar respuesta a la parte final del objetivo específico 1.

Existen diferentes tipos de pretratamientos para el aprovechamiento y la obtención de distintos productos a partir de residuos lignocelulósicos, las cuales dependen de factores y características

cruciales llamadas por Mohammad y Keikhosro “Parámetros efectivos en el pretratamiento de lignocelulosa”. [25]

Según Mohammad y Keikhosro el objetivo principal de los pretratamientos es cambiar las propiedades de la lignocelulosa natural que brindan mayor resistencia hacia el ataque enzimático, para preparar los residuos para la degradación enzimática. Los mejores métodos y condiciones de pretratamientos dependen correctamente en el tipo de lignocelulosa que serán posteriormente tratados para la obtención del producto de interés. La cristalinidad de la celulosa, el área superficial accesible, la protección de la lignina y la celulosa, la degradación de la celulosa polimerizada, y el grado de acetilación de las hemicelulosas, son principales factores que se consideran que más afectan la tasa de degradación biológica de lignocelulosa por las enzimas. [25]

Es por esto que esta segunda revisión se divide en dos pasos. El primero es la definición y conocimiento de los “parámetros efectivos en el pretratamiento de lignocelulosa” y el segundo paso son los pretratamientos que se pueden aplicar a los residuos elegidos óptimos para la fermentación.

Los criterios de inclusión y exclusión de información que se exponen anteriormente, son utilizados para esta segunda parte del documento, donde el criterio de ubicación se definió en el territorio de Colombia y la fecha óptima en el rango de 2015 a 2021, para ambos pasos. En las tablas 8a y 8b se puede observar los resultados de la metodología aplicada para el primer paso y las tablas 9a, 9b y 9c exponen el segundo paso de esta segunda revisión.

**Tabla 8a.**

*Tabla de la clasificación de información para los parámetros para los pretratamientos de la biomasa residual (primera parte).*

<b>PALABRAS CLAVE</b>		Enzimas lignocelulolíticas AND hongos de podredumbre blanca	Pretreatment and lignocellulosic waste	Hydrolysis AND cellulose	Digestibility of lignocellulose
<b>BUSCADOR</b>		Google Académico	Scopus	Google Académico	Science Direct
<b>TITULO DOCUMENTO</b>		Evaluacion de la Degradacion de Residuos de Floricultura para la Obtencion de Azucares con el Uso de Tres Hongos	Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review	Mechanism of the Enzymatic Hydrolysis of Cellulose: Effects of Major Structural Features of Cellulose on Enzymatic Hydrolysis	Effect of Structural Features on Enzyme Digestibility of Corn Stover
<b>TIPO DE DOCUMENTO</b>		Tesis de Doctorado	Artículo	Artículo	Artículo
<b>IDIOMA (5%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Español	Inglés	Inglés	Inglés
	<b>PONDERADO</b>	5	5	5	5
<b>UBICACIÓN (10%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Colombia	Irán	Estados Unidos	Estados Unidos
	<b>PONDERADO</b>	10	7	6	6
<b>FECHA DE PUBLICACION (20%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	2011	2008	1980	2006
	<b>PONDERADO</b>	12	6	0	2
<b>CALIFICACION SCIMAGO (15%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Indice Q = NA Indice H = NA	Indice Q = 1 Indice H = 140	Indice Q = 1 Indice H = 182	Indice Q = 1 Indice H = 273
	<b>PONDERADO</b>	0	15	15	15
<b>DATOS DE PUBLICACION (10%)</b>	<b>PONDERADO</b>	10	10	10	10
<b>CONTENIDO (40%)</b>	<b>PONDERADO</b>	40	40	40	40
<b>TOTAL</b>		77	83	76	78
<b>RESULTADO FINAL (&gt;75%)</b>		Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado

*Nota.* En la tabla se observan los estudios evaluados para la revisión sistemática de los parámetros a tener en cuenta para los pretratamientos de la biomasa residual y el primer parámetro, la cristalinidad, resaltando cada criterio evaluado, su respectivo valor ponderado y si es aprobado o no.

**Tabla 8b.**

*Tabla de la clasificación de información para los parámetros para los pretratamientos de la biomasa residual (segunda parte).*

<b>Parámetros</b>		<b>Efecto del Área Superficial Accesible</b>		<b>Efecto de la Lignina</b>	<b>Efecto de la Hemicelulosa</b>
<b>PALABRAS CLAVE</b>		<i>Buscado Anteriormente</i>	Lignocellulose AND hydrolysis	Hydrolysis of lignocellulose	<i>Buscado Anteriormente</i>
<b>BUSCADOR</b>			Science Direct	Science Direct	
<b>TITULO DOCUMENTO</b>		Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review	Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Ethanol Production: A Review	Inhibition of Cellulase, Xylanase and $\beta$ -Glucosidase by Softwood Lignin Preparations	Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review
<b>TIPO DE DOCUMENTO</b>		Artículo	Artículo	Artículo	Artículo
<b>IDIOMA (5%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Inglés	Inglés	Inglés	Inglés
	<b>PONDERADO</b>	5	5	5	5
<b>UBICACIÓN (10%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Irán	Estados Unidos	Canadá	Irán
	<b>PONDERADO</b>	7	6	7	7
<b>FECHA DE PUBLICACION (20%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	2008	2002	2006	2008
	<b>PONDERADO</b>	6	0	2	6
<b>CALIFICACION SCIMAGO (15%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Indice Q = 1 Indice H = 140	Indice Q = 1 Indice H = 273	Indice Q = 1 Indice H = 147	Indice Q = 1 Indice H = 140
	<b>PONDERADO</b>	15	15	15	15
<b>DATOS DE PUBLICACION (10%)</b>	<b>PONDERADO</b>	10	10	10	10
<b>CONTENIDO (40%)</b>	<b>PONDERADO</b>	40	40	40	40
<b>TOTAL</b>		83	76	79	83
<b>RESULTADO FINAL (&gt;75%)</b>		Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado

**Nota.** En la tabla se observan los estudios evaluados para la revisión sistemática de los parámetros a tener en cuenta para los pretratamientos de la biomasa residual como el efecto del área superficial accesible, el efecto de la lignina y el efecto de la hemicelulosa, resaltando cada criterio evaluado, su respectivo valor ponderado y si es aprobado o no.

Adicionalmente, la meta al escoger estos pretratamientos es que además deben cumplir con los objetivos del desarrollo sostenible como por ejemplo: debe cumplir con el objetivo número 7 (Energía asequible y no contaminante) por medio de los posteriores procesos que aprovechan el potencial energético de la biomasa fermentada, vaya de la mano como mínimo con los siguientes objetivos: número 11 (ciudades y comunidades sostenibles) al generar rentabilidad sobre el aprovechamiento de residuos obtenidos a partir de la industria agroindustrial, número 14 (vida submarina) donde no se tendrán en cuenta aquellos pretratamientos que involucren el desecho de



aguas contaminantes a ríos, lagos o mares, numero 13 (acción por el clima) controlando y evitando la generación de gases de efecto invernadero a la atmosfera y, por último, numero 15 (vida de ecosistemas terrestres) donde se asegure que no exista ningún daño a ecosistemas por la producción de agentes tóxicos o contaminantes. [4]

**Tabla 9a.**

*Tabla de la clasificación de información para los diferentes pretratamientos para los residuos lignocelulósicos (primera parte).*

<u>Pretratamientos</u>		<u>Pretratamientos Físicos</u>		<u>Molienda</u>	
PALABRAS CLAVE		Buscado Anteriormente	Buscado Anteriormente	Wet milling and lignocellulosic waste	Milling and types
BUSCADOR				Scopus	Google Académico
TITULO DOCUMENTO		Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review	Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review	Increasing the efficiency of lignocellulosic biomass enzymatic hydrolysis: Hydrothermal pretreatment, extraction of surface lignin, wet milling and production of cellulolytic enzymes	The milling–milling machining method and its realization
TIPO DE DOCUMENTO		Artículo	Artículo	Artículo	Artículo
IDIOMA (5%)	ESPECIFICACION	Inglés	Inglés	Inglés	Inglés
	PONDERADO	5	5	5	5
UBICACIÓN (10%)	ESPECIFICACION	Irán	Irán	Grecia	China
	PONDERADO	7	7	6	7
FECHA DE PUBLICACION (20%)	ESPECIFICACION	2008	2008	2019	2015
	PONDERADO	6	6	20	20
CALIFICACION SCIMAGO (15%)	ESPECIFICACION	Indice Q = 1 Indice H = 140	Indice Q = 1 Indice H = 140	Indice Q = 1 Indice H = 145	Indice Q = 1 Indice H = 112
	PONDERADO	15	15	15	15
DATOS DE PUBLICACION (10%)	PONDERADO	10	10	10	10
CONTENIDO (40%)	PONDERADO	40	40	35	30
TOTAL		83	83	91	87
RESULTADO FINAL (>75%)		Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado

**Nota.** En la tabla se observan los estudios evaluados para la revisión sistemática de los diferentes pretratamientos para los residuos lignocelulósicos, como el pretratamiento físico de molienda, resaltando cada criterio evaluado, su respectivo valor ponderado y si es aprobado o no.

**Tabla 9b.**

*Tabla de la clasificación de información para los diferentes pretratamientos para los residuos lignocelulósicos (segunda parte).*

<b>Pretratamientos</b>		<b>Molienda</b>		<b>Radiación (Microondas - Rayos Ultravioleta)</b>		
<b>PALABRAS CLAVE</b>		Molienda and lignocelulosa	Hammermill	Irradiation and lignocellulose	Irradiation and lignocellulose	UV radiation
<b>BUSCADOR</b>		Google Académico	Scopus	Science Direct	Science Direct	Science Direct
<b>TITULO DOCUMENTO</b>		Biomasa, Biocombustibles y sostenibilidad	Mechanochemical and Size Reduction Machines for Biorefining	A review on the environment-friendly emerging techniques for pretreatment of lignocellulosic biomass: Mechanistic insight and advancements	Microwave heating processing as alternative of pretreatment in second generation biorefinery: An overview	Light based anti-infectives: ultraviolet C irradiation, photodynamic therapy, blue light, and beyond
<b>TIPO DE DOCUMENTO</b>		Libro	Artículo	Artículo	Artículo	Artículo
<b>IDIOMA (5%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Español	Inglés	Inglés	Inglés	Inglés
	<b>PONDERADO</b>	5	5	5	5	5
<b>UBICACIÓN (10%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	España	Suiza	India	México	Estados Unidos
	<b>PONDERADO</b>	7	8	6	6	8
<b>FECHA DE PUBLICACION (20%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	2012	2020	2021	2017	2013
	<b>PONDERADO</b>	14	20	20	20	16
<b>CALIFICACION SCIMAGO (15%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	No Aplica	Indice Q = 2 Indice H = 131	Indice Q = 1 Indice H = 228	Indice Q = 1 Indice H = 177	Indice Q = 1 Indice H = 127
	<b>PONDERADO</b>	No Aplica	13	15	15	15
<b>DATOS DE PUBLICACION (10%)</b>	<b>PONDERADO</b>	10	10	10	10	10
<b>CONTENIDO (40%)</b>	<b>PONDERADO</b>	40	30	35	30	30
<b>TOTAL</b>		76	86	91	86	84
<b>RESULTADO FINAL (&gt;75%)</b>		Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado

*Nota.* En la tabla se observan los estudios evaluados para la revisión sistemática de los diferentes pretratamientos para los residuos lignocelulósicos, como la molienda y radiación, resaltando cada criterio evaluado, su respectivo valor ponderado y si es aprobado o no.

**Tabla 9c.**

*Tabla de la clasificación de información para los diferentes pretratamientos para los residuos lignocelulósicos (tercera parte).*

<b>Pretratamientos Físicoquímicos</b>		<b>Explosión con Vapor</b>		<b>Pretratamientos Químicos</b>	
<b>PALABRAS CLAVE</b>	Irradiation and lignocellulose	Explosion con vapor	Vapor explosion and lignocellulose	Pretreatment and lignocellulosic waste	Pretreatment and lignocellulosic waste
<b>BUSCADOR</b>	Science Direct	Google Académico	Scopus	Google Académico	Science Direct
<b>TITULO DOCUMENTO</b>	A review on the environment-friendly emerging techniques for pretreatment of lignocellulosic biomass: Mechanistic insight and	Remoción de lignina en el pretratamiento de cascarilla de arroz por explosión con vapor	Ethanol from lignocellulosic materials by a simultaneous saccharification and fermentation process (SFS) with <i>Kluyveromyces marxianus</i>	Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review	A comparison of chemical pretreatment methods for improving saccharification of cotton stalk
<b>TIPO DE DOCUMENTO</b>	Artículo	Artículo	Artículo	Artículo	Artículo
<b>IDIOMA (5%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Inglés	Español	Inglés	Inglés
	<b>PONDERADO</b>	5	5	5	5
<b>UBICACIÓN (10%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	India	Perú	España	Suiza
	<b>PONDERADO</b>	6	8	7	8
<b>FECHA DE PUBLICACION (20%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	2021	2019	2004	2007
	<b>PONDERADO</b>	20	20	0	4
<b>CALIFICACION SCIMAGO (15%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Indice Q = 1 Indice H = 228	Indice Q = NA Indice H = NA	Indice Q = 2 Indice H = 149	Indice Q = 2 Indice H = 63
	<b>PONDERADO</b>	15	0	14	13
<b>DATOS DE PUBLICACION (10%)</b>	<b>PONDERADO</b>	10	10	10	10
<b>CONTENIDO (40%)</b>	<b>PONDERADO</b>	35	35	40	35
<b>TOTAL</b>		91	78	76	75
<b>RESULTADO FINAL (&gt;75%)</b>		Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado

**Nota.** En la tabla se observan los estudios evaluados para la revisión sistemática de los diferentes pretratamientos para los residuos lignocelulósicos, como los pretratamientos físicoquímicos, la explosión con vapor y los pretratamientos químicos, resaltando cada criterio evaluado, su respectivo valor ponderado y si es aprobado o no.

### 2.2.3. Revisión sistemática para microorganismos degradadores de material lignocelulósico

Para la revisión de los microorganismos degradadores de material lignocelulósico se define la siguiente pregunta problema: ¿Cuáles son los microorganismos capaces de degradar material lignocelulósico? Con ayuda de esta pregunta, se identifican los componentes necesarios para dar respuesta y solución al objetivo específico 2.

Los criterios de inclusión y exclusión de información utilizados para esta tercera parte del documento se definieron de igual forma que en las metodologías anteriores, donde el criterio de ubicación se definió en el territorio de Colombia y la fecha optima en el rango de 2015 a 2021. En

las tablas 10a y 10b se puede observar los resultados de la metodología aplicada para los microorganismos degradadores de material lignocelulósico.

### Tabla 10a.

*Tabla de la clasificación de información para la revisión sistemática de microorganismos degradadores de material lignocelulósico (primera parte).*

<u>Microorganismos Degradadores de Material Lignocelulósico</u>		<u>Bacterias</u>	<u>Hongos de Podredumbre Blanca</u>	
<b>PALABRAS CLAVE</b>	Enzimas lignocelulolíticas AND hongos de podredumbre blanca	Enzimas bacterianas en cascariilla de arroz	Enzimas lignocelulolíticas AND hongos de podredumbre blanca	Hongos de podredumbre blanca AND lignino peroxidasa
<b>BUSCADOR</b>	Google Académico	Google Académico	Google Académico	Science Direct
<b>TITULO DOCUMENTO</b>	Evaluacion de la Degradacion de Residuos de Floricultura para la Obtencion de Azucars con el Uso de Tres Hongos Lignoceluloliticos	Utilizacion de Residuos Agroindustriales para la Produccion de Enzimas por Bacillus Subtilis E44	Evaluacion de la Degradacion de Residuos de Floricultura para la Obtencion de Azucars con el Uso de Tres Hongos Lignoceluloliticos	Produccion de Enzimas Ligninolíticas Durante la Degradacion del Herbicida Paraquat por Hongos de la Pudricion Blanca
<b>TIPO DE DOCUMENTO</b>	Tesis de Doctorado	Artículo	Tesis de Doctorado	Artículo
<b>IDIOMA (5%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Español	Español	Español
	<b>PONDERADO</b>	5	5	5
<b>UBICACIÓN (10%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Colombia	España	Colombia
	<b>PONDERADO</b>	10	6	10
<b>FECHA DE PUBLICACION (20%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	2011	2020	2011
	<b>PONDERADO</b>	12	20	12
<b>CALIFICACION SCIMAGO (15%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Indice Q = NA Indice H = NA	Indice Q = 4 Indice H = 12	Indice Q = NA Indice H = NA
	<b>PONDERADO</b>	0	8	0
<b>DATOS DE PUBLICACION (10%)</b>	<b>PONDERADO</b>	10	10	10
<b>CONTENIDO (40%)</b>	<b>PONDERADO</b>	40	40	40
<b>TOTAL</b>		77	89	77
<b>RESULTADO FINAL (&gt;75%)</b>		Aceptado	Aceptado	Aceptado

*Nota.* En la tabla se observan los estudios evaluados para la revisión sistemática de los diferentes microorganismos capaces de degradar material lignocelulósico, resaltando cada criterio evaluado, su respectivo valor ponderado y si es aprobado o no.

**Tabla 10b.**

*Tabla de la clasificación de información para la revisión sistemática de microorganismos degradadores de material lignocelulósico (segunda parte).*

<u>Microorganismos:</u>		<u>Hongos de Podredumbre Blanca</u>		<u>Consortios</u>	<u>Caracterización y Taxonomía HPB</u>
<b>PALABRAS CLAVE</b>		Fermentacion en solido con HPB	Fermentacion en solido AND cascarilla de arroz y palma AND hpb	Enzimas ligninolíticas and bacterias	Taxonomia AND Ascomycetes
<b>BUSCADOR</b>		Scopus	Google Académico	Google Académico	Google Académico
<b>TITULO DOCUMENTO</b>		Production of Lignocellulolytic Enzymes from Three White-rot Fungi by Solid-state Fermentation and Mathematical Modeling	Evaluacion del Proceso de Degradacion de un Colorante Sintetico Tipo Azo Mediante un Sistema de Fermentacion en Estado Solido	Evaluacion del Consorcio entre Pleurotus ostreatus, Trametes versicolor y Bacterias Aerobicas para Remocion de Colorantes	Estudio Taxonómico de los Ascomycetes del suelo *
<b>TIPO DE DOCUMENTO</b>		Artículo	Tesis de Maestría	Artículo	Tesis de Doctorado
<b>IDIOMA (5%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Inglés	Español	Español	Español
	<b>PONDERADO</b>	5	5	5	5
<b>UBICACIÓN (10%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Colombia	Colombia	Colombia	España
	<b>PONDERADO</b>	10	10	10	8
<b>FECHA DE PUBLICACION (20%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	2015	2014	2020	2000
	<b>PONDERADO</b>	20	18	20	0
<b>CALIFICACION SCIMAGO (15%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Indice Q = 3 Indice H = 83	Indice Q = NA Indice H = NA	Indice Q = NA Indice H = NA	Indice Q = NA Indice H = NA
	<b>PONDERADO</b>	10	0	0	0
<b>DATOS DE PUBLICACION (10%)</b>	<b>PONDERADO</b>	10	10	10	10
<b>CONTENIDO (40%)</b>	<b>PONDERADO</b>	40	40	40	40
<b>TOTAL</b>		95	83	85	63
<b>RESULTADO FINAL (&gt;75%)</b>		Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado

*Nota.* En la tabla se observan los estudios evaluados para la revisión sistemática de los diferentes microorganismos capaces de degradar material lignocelulósico, resaltando cada criterio evaluado, su respectivo valor ponderado y si es aprobado o no.

Cabe resaltar que, para la parte de caracterización y taxonomía de los hongos de podredumbre blanca se utiliza una tesis doctoral del estudio de Ascomycetes del suelo, el cual brinda la información necesaria para la caracterización de los hongos que se utilizan en la fermentación en sólido. Al ser una tesis, su puntaje de aceptación debe ser >64%, sin embargo, el puntaje recibido es de 63%. Esto es porque el año de publicación es del 2000, un valor fuera del rango de aceptación, por lo cual recibe 0 puntos en ese criterio, no permitiendo que el estudio tenga mayor puntaje.

No obstante, se hizo una excepción para este estudio, el cual aun sin cumplir con el puntaje mínimo, es el estudio que mejor información brinda para esta parte del proyecto, ya que, al ser de carácter teórico, la información recopilada no tiene variación significativa a través en el tiempo,

por lo cual se permite la utilización de esta tesis para la taxonomía de los hongos de podredumbre blanca.

#### ***2.2.4. Revisión sistemática para la fermentación en sólido***

Para la revisión de la fermentación en estado sólido se define la siguiente pregunta problema: ¿Cuáles son las características de la fermentación en sólido y los factores de crecimiento del cultivo? Con ayuda de esta pregunta, se identifican los componentes necesarios para dar respuesta y solución al objetivo específico 3.

Los criterios de inclusión y exclusión de información utilizados para esta cuarta parte del documento se definieron de igual forma que en las metodologías anteriores, donde el criterio de ubicación se definió en el territorio de Colombia y la fecha optima en el rango de 2015 a 2021.

En las tablas 11 y 12 se puede observar los resultados de la metodología aplicada para las características de la fermentación en solido al igual que para los parámetros de crecimiento de los cultivos.

**Tabla 11.**

*Tabla de la clasificación de información para la revisión sistemática de las condiciones de desarrollo de la fermentación en sólido.*

<b>Fermentacion en Solido</b>		<b>Condiciones de Desarrollo de la Fermentacion</b>			
<b>PALABRAS CLAVE</b>	Fermentacion en solido	Fermentacion en solido AND cascarilla de arroz y palma AND hpb	pH de lacascarilla de arroz	pH de los racimos vacios de la palma	
<b>BUSCADOR</b>	Google Académico	Google Académico	Google Académico	Google Académico	
<b>TITULO DOCUMENTO</b>	Modern Solid State Fermentation (Theory and Practice) **	Evaluacion del Proceso de Degradacion de un Colorante Sintetico Tipo Azo Mediante un Sistema de Fermentacion en Estado Solido	Caracterizacion fisico-quimica de residuos agroindustriales (cascarilla de arroz y cascarilla de café), como materia prima potencial para la obtencion de	Uso de residuos agroindustriales en previveros de palma aceitera (Elaeis guineensis, Arecaceae): Crecimiento y absorcion de	
<b>TIPO DE DOCUMENTO</b>	Libro	Tesis de Maestría	Tesis de Licenciatura	Artículo	
<b>IDIOMA (5%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Inglés	Español	Español	Español
	<b>PONDERADO</b>	5	5	5	5
<b>UBICACIÓN (10%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	China	Colombia	Nicaragua	Costa Rica
	<b>PONDERADO</b>	4	10	7	7
<b>FECHA DE PUBLICACION (20%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	2013	2014	2016	2018
	<b>PONDERADO</b>	16	18	20	20
<b>CALIFICACION SCIMAGO (15%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Indice Q = NA Indice H = NA	Indice Q = NA Indice H = NA	Indice Q = NA Indice H = NA	Indice Q = NA Indice H = NA
	<b>PONDERADO</b>	0	0	0	0
<b>DATOS DE PUBLICACION (10%)</b>	<b>PONDERADO</b>	10	10	10	10
<b>CONTENIDO (40%)</b>	<b>PONDERADO</b>	40	40	35	35
<b>TOTAL</b>		75	83	77	77
<b>RESULTADO FINAL (&gt;75%)</b>		Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado

*Nota.* En la tabla se observan los estudios evaluados para la revisión sistemática de las condiciones de desarrollo de la fermentación en sólido, resaltando cada criterio evaluado, su respectivo valor ponderado y si es aprobado o no.

**Tabla 12.**

*Tabla de la clasificación de información para la revisión sistemática de los factores de crecimiento del cultivo.*

<b>Condiciones de Desarrollo de la Fermentación</b>		<b>Factores de Crecimiento del Cultivo</b>		
<b>PALABRAS CLAVE</b>	pH óptimo del hongo pleurotus ostreatus	Enzimas lignocelulolíticas AND hongos de podredumbre blanca	Fermentación en sólido con HPB	Fermentación en sólido AND cascarilla de arroz y palma AND hpb
<b>BUSCADOR</b>	Google Académico	Google Académico	Scopus	Google Académico
<b>TÍTULO DOCUMENTO</b>	Evaluación de los parámetros productivos de la semilla de Pleurotus ostreatus propagada en diferentes medios de cultivo	Evaluación de la Degradación de Residuos de Floricultura para la Obtención de Azúcares con el Uso de Tres Hongos Lignocelulolíticos	Production of Lignocellulolytic Enzymes from Three White-rot Fungi by Solid-state Fermentation and Mathematical Modeling	Evaluación del Proceso de Degradación de un Colorante Sintético Tipo Azo Mediante un Sistema de Fermentación en Estado Sólido
<b>TIPO DE DOCUMENTO</b>	Artículo	Tesis de Doctorado	Artículo	Tesis de Maestría
<b>IDIOMA (5%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Español	Español	Inglés
	<b>PONDERADO</b>	5	5	5
<b>UBICACIÓN (10%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Colombia	Colombia	Colombia
	<b>PONDERADO</b>	10	10	10
<b>FECHA DE PUBLICACION (20%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	2010	2011	2015
	<b>PONDERADO</b>	11	12	20
<b>CALIFICACION SCIMAGO (15%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Índice Q = NA Índice H = NA	Índice Q = NA Índice H = NA	Índice Q = 3 Índice H = 83
	<b>PONDERADO</b>	0	0	10
<b>DATOS DE PUBLICACION (10%)</b>	<b>PONDERADO</b>	10	10	10
<b>CONTENIDO (40%)</b>	<b>PONDERADO</b>	40	40	40
<b>TOTAL</b>		76	77	95
<b>RESULTADO FINAL (&gt;75%)</b>		Aceptado	Aceptado	Aceptado

*Nota.* En la tabla se observan los estudios evaluados para la revisión sistemática de los factores de crecimiento del cultivo en la fermentación, resaltando cada criterio evaluado, su respectivo valor ponderado y si es aprobado o no.

Cabe resaltar que, para la parte introductoria de la fermentación en sólido, se utiliza un libro titulado “Modern Solid State Fermentation (Theory and Practice)”, el cual brinda la información necesaria para entender la fermentación en sólido, las ventajas y desventajas en comparación con la fermentación sumergida y las condiciones de la fermentación. Al ser un libro, su puntaje de aceptación no está definido, sin embargo, al evaluarse el puntaje fue de 75%, lo cual indica que está bien evaluado para utilizarlo en esta parte del proyecto.

### **2.2.5. Revisión sistemática para la biomasa degradada después de la fermentación**



Para la revisión de la biomasa obtenida en la fermentación se define la siguiente pregunta problema: ¿Cuál es el potencial energético de la biomasa obtenida después de la fermentación en sólido? Con ayuda de esta pregunta, se identifican los componentes necesarios para dar respuesta y solución al objetivo específico 4.

Los criterios de inclusión y exclusión de información utilizados para esta cuarta parte del documento se definieron de igual forma que en las metodologías anteriores, donde el criterio de ubicación se definió en el territorio de Colombia y la fecha optima en el rango de 2015 a 2021. En las tablas 13 y 14 se puede observar los resultados de la metodología aplicada para las características de la fermentación en solido al igual que para los parámetros de crecimiento de los cultivos.

**Tabla 13.**

*Tabla de la clasificación de información para la revisión sistemática para la composición y propiedades de la biomasa.*

<b>Biomasa Degradada</b>		<b>Composicion y Propiedades de la Biomasa</b>			<b>Porcentaje de Biomasa</b>
<b>PALABRAS CLAVE</b>	Enzimas lignocelulolíticas AND hongos de podredumbre blanca	Pyrolysis AND lignocellulose	Degradation AND lignocellulose	Degradation AND lignocellulose	Degradation AND lignocellulose
<b>BUSCADOR</b>	Google Académico	Science Direct	PubMed	PubMed	PubMed
<b>TITULO DOCUMENTO</b>	Evaluacion de la Degradacion de Residuos de Floricultura para la Obtencion de Azucares con el Uso de Tres Hongos Lignoceluloliticos	Selective Fungal Pretreatment Favored Pyrolysis Products of Wheat Straw Based On Pyrolytic Polygeneration System	Fungal Degradation of Lignocellulosic Residues: An Aspect of Improved Nutritive Quality	Fungal Degradation of Lignocellulosic Residues: An Aspect of Improved Nutritive Quality	Fungal Degradation of Lignocellulosic Residues: An Aspect of Improved Nutritive Quality
<b>TIPO DE DOCUMENTO</b>	Tesis de Doctorado	Artículo	Artículo	Artículo	Artículo
<b>IDIOMA (5%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Español	Inglés	Inglés	Inglés
	<b>PONDERADO</b>	5	5	5	5
<b>UBICACIÓN (10%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Colombia	Holanda	India	India
	<b>PONDERADO</b>	10	7	7	7
<b>FECHA DE PUBLICACION (20%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	2011	2020	2013	2013
	<b>PONDERADO</b>	12	20	16	16
<b>CALIFICACION SCIMAGO (15%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Indice Q = NA Indice H = NA	Indice Q = 1 Indice H = 146	Indice Q = 1 Indice H = 88	Indice Q = 1 Indice H = 88
	<b>PONDERADO</b>	0	15	15	15
<b>DATOS DE PUBLICACION (10%)</b>	<b>PONDERADO</b>	10	10	10	10
<b>CONTENIDO (40%)</b>	<b>PONDERADO</b>	40	35	40	40
<b>TOTAL</b>		77	92	93	93
<b>RESULTADO FINAL (&gt;75%)</b>		Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado

**Nota.** En la tabla se observan los estudios evaluados para la revisión sistemática de para la composición y propiedades de la biomasa obtenida en la fermentación, resaltando cada criterio evaluado, su respectivo valor ponderado y si es aprobado o no.

**Tabla 14.**

*Tabla de la clasificación de información para la revisión sistemática para el aprovechamiento del potencial energético de la biomasa.*

<b><i>Biomasa Degradada</i></b>		<b><i>Aprovechamiento del Potencial Energetico</i></b>			
<b>PALABRAS CLAVE</b>		Pyrolysis AND lignocellulose	Pyrolysis AND lignocellulose	Pyrolysis AND lignocellulosic biomass	Pyrolysis AND lignocellulose
<b>BUSCADOR</b>		Science Direct	PubMed	PubMed	PubMed
<b>TITULO DOCUMENTO</b>		Selective Fungal Pretreatment Favored Pyrolysis Products of Wheat Straw Based On Pyrolytic Polygeneration System	Pyrolysis Oil Biorefinery	Essential Quality Attributes of Tangible Bio-Oils From Catalytic Pyrolysis of Lignocellulosic Biomass	Pyrolysis Characteristics and Kinetics of Lignin Derived From Enzymatic Hydrolysis Residue of Bamboo Pretreated with White-rot Fungus
<b>TIPO DE DOCUMENTO</b>		Artículo	Artículo	Artículo	Artículo
<b>IDIOMA (5%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Ingles	Ingles	Ingles	Ingles
	<b>PONDERADO</b>	5	5	5	5
<b>UBICACIÓN (10%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Holanda	Alemania	Japón	China
	<b>PONDERADO</b>	7	9	7	8
<b>FECHA DE PUBLICACION (20%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	2020	2017	2019	2016
	<b>PONDERADO</b>	20	20	20	20
<b>CALIFICACION SCIMAGO (15%)</b>	<b>ESPECIFICACION</b>	Indice Q = 1 Indice H = 146	Indice Q = 1 Indice H = 87	Indice Q = 1 Indice H = 99	Indice Q = 1 Indice H = 99
	<b>PONDERADO</b>	15	14	15	15
<b>DATOS DE PUBLICACION (10%)</b>	<b>PONDERADO</b>	10	10	10	10
<b>CONTENIDO (40%)</b>	<b>PONDERADO</b>	35	30	35	35
<b>TOTAL</b>		92	88	92	93
<b>RESULTADO FINAL (&gt;75%)</b>		Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado

*Nota.* En la tabla se observan los estudios evaluados para la revisión sistemática para el aprovechamiento del potencial energético de la biomasa obtenida en la fermentación, resaltando cada criterio evaluado, su respectivo valor ponderado y si es aprobado o no.

### 3. DISCUSION Y RESULTADOS

#### 3.1. Selección de residuos agroindustriales en Colombia

Gracias a la revisión sistemática realizada para la selección de los residuos lignocelulósicos aptos para la fermentación en sólido, se identifica que el grupo “agroindustriales” tiene mayor participación en comparación con los demás grupos de subdivisiones según la Encuesta Nacional Agropecuaria (ENA) del 2017. Esta encuesta permite identificar que la participación de las industrias agroindustriales es de un total del área sembrada o plantada del 40.2%, un total del área cosechada de 46.8% y un total de producción en toneladas de producto de 64.7%, identificando así que las industrias agroindustriales tienen gran relevancia en la producción de residuos lignocelulósicos en el país. De igual manera, los cultivos de café, palma de aceite y caña de azúcar fueron los cultivos de mayor participación con un total de 39.8%, 25.3% y 13.5% respectivamente. [3]

Por otro lado, según la Revista de Investigación Agraria y Ambiental, en Colombia “en procesamiento de productos como: café, palma de aceite, caña de azúcar y panelera, maíz, arroz, banano y plátano se obtiene una producción de 14.974.807 t/año y se producen alrededor de 71.943.813 t/año de residuos que en la gran mayoría de los casos son incinerados o llevados a rellenos sanitarios”. [2] Esto permite rectificar que los cultivos de café, palma de aceite y caña de azúcar son los principales productos en la siembra y cosecha del país, además de destacar el cultivo de arroz, el cual también es un producto de alta demanda y con generación de residuos que pueden ser aprovechados para la fermentación en sólido.

Estas cifras presentadas permiten observar que industrias como el café, la palma de aceite, la caña de azúcar y el arroz son los 4 productos principales de siembra y cosecha en el país. Esto convierte a estos productos en potenciales candidatos para desarrollar la fermentación en sólido con los residuos, ya que entre mayor producción mayores son sus desechos. No obstante, es conocido que actualmente parte de las industrias atienden y aprovechan los residuos o subproductos generados en sus procesos, es por esto que se debe identificar si los residuos de aquellas que procesan los

cultivos anteriormente mencionados, ya son aprovechados. A continuación, se presenta la discusión sobre los 4 tipos de residuos agroindustriales candidatos para la fermentación en sólido.

### **3.1.1. Residuos de la industria del café**

Con la revisión sistemática realizada para esta industria se evidencia que el café es uno de los principales productos de siembra y cosecha en el país, siendo Colombia uno de los mayores productores de café Arábica, llamado así por el método de producción del grano, donde en 100 kg de frutos de café maduros, 39 kg corresponden a piel y pulpa, los primeros subproductos generados en el proceso. Por otro lado, por cada 100 kg de frutos frescos, se generan 22 kg de mucilago y 39 kg de pergamino.[26] Esto indica que existen gran cantidad de residuos en el procesamiento del grano con gran potencial energético ya que según la Revista de Investigación Agraria y Ambiental se resalta que «estudios evidencian que los residuos generados por el café tienen una energía de 65.955 MJ; por lo tanto, la energía disponible por 1 ha/año es equivalente a la de 513 gal<sub>us</sub> de gasolina (teniendo en cuenta que la gasolina tiene un poder calorífico de 34 MJ/L que equivalen a 128,69 gal<sub>us</sub>). En cuanto a la producción de etanol, se evidenció que a partir de la pulpa y el mucilago que se generan en 1 ha, se pueden obtener 102 L de etanol con una energía de 2.150 MJ equivalentes a 17 gal<sub>us</sub> de gasolina». [2]

Adicionalmente, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO, por sus siglas en inglés *Food Agriculture Organization*) desarrolló un Código de Conducta (CoC, por sus siglas en inglés *Code of Conduct*) para la reducción de los residuos y desperdicios de alimento, proponiendo una pirámide invertida estableciendo prioridades para poder reducir el desperdicio de alimento y ahorrar recursos naturales.[26] Gracias a esto, actualmente existen procesos de aprovechamiento de estos subproductos, por ejemplo, la cascara se utiliza para la elaboración de compostaje en los países productores de café, aunque otros usos de este subproducto son como biocombustible, producción de enzimas, biosorbentes, como materia prima para la producción de etanol y extracción de miel o harina de cascara de café para consumo humano o animal. Al igual que la cascara, los demás subproductos del café se utilizan para obtener otros productos de uso humano o animal, como la obtención de cafeína, proteínas, enzimas o producir melaza a partir de la pulpa del café, obtención de pectinas, antioxidantes y flavonoides a partir del mucilago, como combustible a partir del pergamino del café, entre otras aplicaciones. [26]

Finalmente, el Centro de Investigaciones del Café CENICAFE ha estado realizando estudios para nuevos procesos de aplicación utilizando estos residuos, destacando el uso de estos residuos para la producción de biogás, bioetanol y combustible directo.[2] Se evidencia entonces que los residuos del café son aprovechados para las aplicaciones mencionadas anteriormente, además de contar con una institución que desea encontrar la mejor ruta de aprovechamiento de los subproductos, incluyendo el área de producción de energía. Por esta razón se descarta la posibilidad de utilizar los residuos de este producto para la fermentación en sólido con los hongos de la podredumbre blanca. No obstante, aunque en este trabajo no se tienen en cuenta estos residuos, no quiere decir que no sean aptos o capaces de fermentarse para generar biomasa con potencial energético.

### ***3.1.2. Residuos de la industria de la caña de azúcar***

Al igual que con los residuos de la cosecha del café, se evidencia la gran participación de la caña de azúcar en el sector agroindustrial, ya que es el segundo producto de mayor participación de siembra y cosecha del país, donde los subproductos de la cosecha de la caña de azúcar son mayormente conocidos como bagazo de caña, donde para la cosecha en verde, se producen de 50 a 100 toneladas/hectárea.[27] Adicionalmente, la industria azucarera es una de las más representativas de Colombia. De los subproductos generados de este producto se pueden obtener una variedad de aplicaciones útiles y de valor para el sector. Por ejemplo, los residuos pueden ser utilizados como cobertura del suelo, compost, tableros aglomerados, alimentos para animales, producción de pulpa y papel, entre otros.[2] Gracias a la cosecha de la caña, la retención en la humedad del suelo es uno de los factores que permiten alcanzar mayores rendimientos en áreas donde no hay buena precipitación. Por otro lado, cuando es utilizada para el alimento de rumiantes “se combina con otros forrajes e ingredientes alimenticios, la caña representa una opción nutricional de bajo costo y mayor eficiencia en la producción animal”. [27]

Una de las aplicaciones mayormente utilizadas para el bagazo de caña es la producción de bioetanol, un combustible proveniente de fuentes renovables. Adicionalmente, los residuos de la caña de azúcar se utilizan como generadores de energía eléctrica, “cuatro toneladas de residuos equivalen en energía eléctrica a lo producido por una tonelada de carbón”. [27] Según la Revista

Agraria y Ambiental, «en los últimos años, se ha evidenciado una variante de trascendencia para los residuos de bagazo, consistente en la creación de bioetanol. Este biocombustible se destina principalmente a la mezcla con gasolina, combinación ampliamente utilizada en el país que reduce la dependencia del derivado del petróleo, además de oxigenar el combustible y reducir el nivel de contaminación causada por los gases de efecto invernadero.» [2]

Los resultados obtenidos evidencian que las industrias azucareras aprovechan de sus subproductos. Es por esto que se descarta la posibilidad de utilizar los residuos de este producto para la fermentación en sólido con los hongos de la podredumbre blanca en la presente revisión sistemática. No obstante, aunque en este trabajo no se tienen en cuenta estos residuos, no quiere decir que no sean aptos o capaces de fermentarse para generar biomasa con potencial energético.

### ***3.1.3. Residuos de la industria de la palma de aceite***

Continuando con la revisión sistemática de los cultivos candidatos para la fermentación en sólido, la industria de palma de aceite es el tercer tipo de producto consecutivo en mayor cantidad de siembra, cosecha y producción en el país. Cabe resaltar que en el proceso de cosecha de la palma de aceite existen varias etapas en las que se genera una variedad de subproductos. Estos subproductos pueden provenir directamente de la etapa de cosecha de los frutos, donde las hojas de la palma (en donde están los racimos de frutos frescos) y los estípites (haciendo referencia a los troncos y raíces que se liberan cuando el terreno se va a replantar después de 20 o 30 años) son los primeros subproductos generados en la industria de la palma de aceite. Generalmente estos residuos se utilizan como compostaje de fertilización orgánica y como fuente de carbono. [28]

Según la Revista Palmas en 2016, en Colombia hay 400.000 toneladas de racimos de fruto vacío (RFV) y 400.000 toneladas de fibra de mesocarpio, cifra cercana al 2% de la producción mundial de aceite de palma. Adicionalmente, en el país hay de 200.000 a 300.000 toneladas de hueso y 60.000 toneladas de torta de palmiste. Los subproductos mencionados anteriormente son biomasa lignocelulósica y fibrosa con potencial en la producción de energía. Algunos de los usos que se da actualmente para estos residuos son: compactados de RFV para combustión, desmenuzados orgánicos como suplementos de carbono en el suelo, aceite de pirólisis de alta densidad de energía

cuando se someten los RFV a pirólisis rápida, quemado de la fibra del mesocarpio y cuesco en calderas de vapor y elaboración de alimento de animales, como aves de corral y ganado vacuno, a partir de la torta de palmiste. [28]

Según la Revista Palmas, todos los subproductos mencionados tienen un potencial de uso en la generación de energía por pirólisis rápida. Adicionalmente, mencionan que los residuos deben ser tratados previamente para poder obtener buenos resultados y altas eficiencias.[28] Gracias a esto se decide evaluar la posibilidad de utilizar los residuos de este producto para la fermentación en sólido con los hongos de la podredumbre blanca para un posterior proceso de pirólisis para esta revisión sistemática.

#### ***3.1.4. Residuos de la industria de arroz***

El cuarto y último cultivo evaluado en esta revisión sistemática es el arroz, donde el residuo corresponde a la cascara o pajilla, el cual constituye alrededor del 20% del grano y es separada en el proceso de trilla para la obtención de arroz blanco, cuando se separa el grano de arroz de la cascara realizado comúnmente con rodillos de goma.[29] La cascarilla de arroz es uno de los subproductos mayoritarios de la producción agrícola en países que cultivan y producen este producto. Aproximadamente, de cada cinco toneladas de arroz con cascara procesado se genera una tonelada de cascarilla de arroz. [30]

Se ha propuesto utilizar este residuo como aditivo para la fabricación de cemento y caucho, extrusión de polímeros con fibras naturales, fabricación de materiales aislantes, obtención de alcohol, sustrato para cultivos, entre otros. En países como India y China, se aprovechan las propiedades de este subproducto y sus potenciales aplicaciones en ciencia y tecnología. Sin embargo, en Colombia no hay avances sobre aplicaciones producidas por este subproducto orgánico, es decir, no hay evidencia de implementación de métodos que utilicen este subproducto para la generación de otros productos. No obstante, estudios han demostrado que este subproducto tiene potenciales aplicaciones en diversas áreas.[30] Un ejemplo es el estudio que se realizó en el Meta para utilizar los residuos del arroz como aditivo en la elaboración de bloques de cemento, los cuales al someterlos a pruebas mecánicas no cumplían con una de las normas para evaluar la

calidad de los bloques. Cabe destacar que, aunque en este estudio los resultados no fueron positivos para el aprovechamiento de este residuo, existen más estudios que evalúan diferentes aplicaciones. [2]

Actualmente las cascarillas son incineradas para reducir los altos volúmenes que generan, lo cual produce humos contaminantes. Cabe resaltar que las cascarillas tienen un potencial energético aprovechable si estas son reutilizadas, es por esto que, al igual que con los residuos de la palma de aceite, se evidencia que las industrias arroceras no aprovechan lo suficiente de los subproductos generados, por lo cual se desea evaluar la posibilidad de utilizar los residuos de este producto para la fermentación en sólido con los hongos de la podredumbre blanca para esta revisión sistemática.

Finalmente, gracias a la revisión sistemática y a la evaluación de los principales cultivos agrícolas producidos en Colombia, se identifica que los residuos mayormente aptos para la fermentación en sólido son los residuos de la palma de aceite y del arroz, como se menciona anteriormente.

### **3.2. Selección de los pretratamientos para los residuos lignocelulósicos**

Con el propósito de mejorar el rendimiento de la fermentación en sólido de los residuos lignocelulósicos mencionados anteriormente, se definirán y evaluarán los diferentes pretratamientos a los que se puede someter la biomasa, relacionándolo con los parámetros para los pretratamientos de la biomasa presentados por Mohammad y Keikhosro que se explican a continuación.

#### ***3.2.1. Parámetros para los pretratamientos de la biomasa residual***

De acuerdo con la información recopilada durante la revisión sistemática desarrollada para la selección de los pretratamientos que se deben realizar a los residuos lignocelulósicos seleccionados, se evidenció la relevancia de evaluar el impacto de parámetros estructurales del material lignocelulósico, los cuales influyen directamente a la eficiencia en la degradación de la biomasa inicial, permitiendo así definir posteriormente los pretratamientos que más favorezcan la fermentación en sólido. Estos parámetros son los siguientes.



3.2.1.i. Cristalinidad. La discusión que se presentará a continuación es con el fin de indicar que la cristalinidad es un factor importante en la digestibilidad de residuos lignocelulósicos. Sin embargo, este no es el único factor que influye en la efectividad de la hidrólisis enzimática de estos materiales, debido a la naturaleza heterogénea de la celulosa y la contribución de otros componentes como la lignina y la hemicelulosa. Las microfibrillas de la celulosa contenida en estos residuos contienen regiones amorfas y cristalinas, y la cristalinidad es dada por las cantidades relativas de estas dos regiones; la mayor parte de la celulosa está en forma cristalina. Ha sido demostrado que la *celulasa* hidroliza más fácilmente la celulosa en cuanto tenga más parte amorfa accesible, mientras que la enzima no es tan eficaz para degradar la menor parte cristalina accesible. Por lo tanto, se espera que la celulosa de alta cristalinidad sea más resistente a la hidrólisis enzimática, y es ampliamente aceptado que al disminuir la cristalinidad aumenta la digestibilidad de las lignocelulosas. [31]

Por lo contrario, en el estudio presentado por L. T. Fan, Y. Lee, y H. David, se demuestra mayor digestibilidad de lignocelulosas cristalinas, este conflicto puede aparecer mientras no se tenga en cuenta los efectos de otros parámetros involucrados. En ciertos casos el pretratamiento de maderas duras y blandas por hidrólisis ácida y la determinación de la distribución del tamaño de los poros del sustrato benefician la posterior degradación del material lignocelulósico.[31] Independientemente del sustrato, la tasa inicial de hidrólisis tiende a ser linealmente correlacionada con el volumen del poro de el sustrato accesible a el tamaño de la *celulasa*. Sin embargo, también se demostró que el índice de cristalinidad no tiene relación con la tasa de hidrólisis; Kim y Holtzaple encontraron que el grado de la cristalinidad del rastrojo de maíz aumentó ligeramente del 43% al 60% a través de la deslignificación con hidróxido de calcio [32], que estaba relacionado con la eliminación de componentes amorfos (lignina, hemicelulosa). No obstante, un aumento en la cristalinidad del material pretratado no afecta el rendimiento de la hidrólisis enzimática. Se ha observado un aumento en la cristalinidad de la celulosa al reducir el tamaño por molienda. Se cree que la recristalización durante la expansión causada por el agua puede aumentar la cristalinidad de la celulosa altamente molida. [25]

En conclusión, la cristalinidad de la celulosa es un parámetro de gran importancia que debe ser evaluado previo a la hidrólisis enzimática, ya que la proporción de material cristalino define la

cantidad necesaria de enzimas “endoglucanasas”, que se deben producir para la ruptura de sus enlaces. [11] Sin embargo, se evidencia que la cristalinidad depende directamente de otros factores implícitos estructuralmente en la lignocelulosa.

3.2.1.ii. Efecto del área superficial accesible. Diversos estudios han demostrado una buena correlación entre el volumen del poro (el área superficial accesible de la *celulosa*) y la digestibilidad enzimática de materiales lignocelulósicos. La razón principal para la mejora en la hidrólisis enzimática por remoción de la lignina y la hemicelulosa está relacionada con el área accesible de la celulosa. El efecto de esta área puede correlacionarse con la cristalinidad o con la protección de lignina o la presencia de hemicelulosa, o todos al mismo tiempo. [33]

Los materiales lignocelulósicos tienen dos tipos de área superficial: externa e interna. El área superficial externa está relacionada con el tamaño y la forma de las partículas, mientras que la interna depende de la estructura capilar de las fibrillas celulósicas. Normalmente, las fibras celulósicas al estar mojadas se denota un aumento en el área superficial específica externa de 15 - 40  $\mu\text{m}$ , a ser posteriormente 0.6 – 1.6  $\text{m}^2/\text{g}$ ; sin embargo, el área superficial interna disminuye su tamaño [33]. De la misma manera hay que tener en cuenta que el factor de área superficial específica se relaciona en cierto modo con el factor anteriormente definido, pues en el momento de que la biomasa (material lignocelulósico) se encuentra húmedo, incrementa la cristalinidad de la celulosa, debido a una recristalización de celulosa altamente amorfa.

El área superficial accesible cambia durante la hidrólisis enzimática. La tasa de hidrólisis es usualmente muy alta en un principio, posteriormente decrece en las siguientes etapas. Debido a que el área superficial de la celulosa no es la mayor limitante para la hidrólisis de la celulosa, como si lo puede ser factores de igual importancia como la dificultad de hidrolizar la parte cristalina de la misma. [25]

3.2.1.iii. Efecto estructural de la lignina. A partir de la información recopilada se logró evidenciar la importancia de remover la lignina con el fin de aumentar el rendimiento de la degradación de la biomasa, pues la celulosa y la hemicelulosa aumentan la fuerza de sus enlaces y composición con la presencia de la lignina. Esto es debido a que la lignina es responsable de la integridad, rigidez

estructural y prevención del aumento del tamaño de las lignocelulosas. Por tanto, el contenido y la distribución de la lignina constituyen el factor más reconocido que es responsable de la recalcitrancia de los materiales lignocelulósicos a la degradación enzimática al limitar la accesibilidad de la enzima; por lo tanto, procesos de deslignificación pueden mejorar la velocidad y el alcance de la hidrólisis enzimática. Sin embargo, en la mayoría de los métodos de deslignificación, parte de la hemicelulosa también se hidroliza y, por lo tanto, la deslignificación no muestra el único efecto de lignina. La lignina disuelta debido a, por ejemplo, el pretratamiento de lignocelulosas también es un inhibidor de celulasa, xilanasas y glucosidasas. [34]

El rol inhibitorio de la lignina puede relacionarse con su efecto sobre la inflamación de la celulosa, por otra parte, dicha inflamación de la celulosa puede obtenerse sin eliminar la lignina, y sin aumentar el tamaño de los poros ni el grado de hidrólisis. La razón para que la remoción de la lignina mejore la tasa de hidrólisis enzimática puede ser relacionada con una mayor accesibilidad superficial para las enzimas, aumentando la cantidad de poros disponibles después de eliminar la lignina.

3.2.1.iv. Efecto de la presencia de hemicelulosa. Finalmente, como se mencionó en los parámetros anteriores es importante evaluar el efecto que genera la hemicelulosa en la estructura de las lignocelulosas, pues ésta es una barrera física que rodea las fibras de celulosa y puede protegerla de ataque enzimático. Se demostró que muchos métodos de pretratamiento pueden eliminar hemicelulosas y consecuentemente mejoran la hidrólisis enzimática. Pero la mayoría de estos procesos en parte logran eliminar también la lignina, por lo que la mejora no es el resultado de la eliminación de la hemicelulosa sola.[25] Sin embargo, es importante tener en cuenta la presencia de la hemicelulosa, ya que, como se mencionó anteriormente, procesos de deslignificación pueden remover parte de la hemicelulosa presente, no obstante, la cantidad restante puede disminuir la velocidad de la digestión enzimática, asimismo será de gran relevancia identificar la capacidad de los microorganismos involucrados en la fermentación de producir hemicelulosas.

De la misma manera, la selección de los pretratamientos que demuestren ser lo suficientemente beneficiosos para este proceso, teniendo en cuenta que aporten a el avance del cumplimiento de los objetivos del desarrollo sostenible (planteados por la ONU) en Colombia, se presentan a continuación. Aquellos que fueron evaluados y seleccionados están divididos según sus

fundamentos y funcionamiento. Es importante recalcar que ciertos pretratamientos serán definidos igualmente como etapas esenciales para la posterior fermentación en sólido.

### ***3.2.2. Pretratamientos físicos***

Gracias a la revisión sistemática para los pretratamientos, se identifica que los pretratamientos físicos pueden incrementar el área superficial accesible y el tamaño de los poros, al igual que disminuir la cristalinidad y los grados de polimerización de la celulosa. Procesos como la molienda y la radiación pueden ser usadas para mejorar la hidrólisis enzimática o la biodegradabilidad de los residuos lignocelulósicos, es por esto que se evalúan ambos procesos. [25]

3.2.2.i. Molienda. Como se mencionó anteriormente, es importante la necesidad de poseer una extensa área superficial accesible que favorezca la hidrólisis enzimática, lo cual ha generado que la molienda o trituración sea una etapa indispensable previa a cualquier tipo de fermentación, pues la posibilidad de disminuir el tamaño de partícula de la biomasa incrementa considerablemente el valor de dicho parámetro, requerido para una hidrólisis óptima de la lignocelulosa. La molienda además de incrementar el área superficial de la biomasa también favorece la hidrólisis de la lignina al disminuir la barrera protectora que genera en la celulosa y la hemicelulosa, “eventualmente los sitios sin barreras donde las enzimas (celulasa) pueden acceder a la celulosa se agotan y la digestibilidad se detiene en alrededor del 66%.” [35] En el estudio realizado por Christos N., et al. [35], se demostró que en una biomasa a la cual se le realizó una extracción superficial de la lignina, el porcentaje de celulosa hidrolizado tuvo un aumento de alrededor del 15% y 20% debido a la molienda suave efectuada previamente, alcanzando un 80% de hidrólisis enzimática de la celulosa.

Existe diferentes tipos de molinos con diferentes propósitos, adecuados para funcionar sometidos a dos tipos de molienda: Molienda húmeda y molienda seca.[36] En este caso no se tendrá en cuenta la molienda húmeda debido a que este proceso se lleva a cabo cuando la biomasa será hidrolizada en una fermentación sumergida, brindando la posibilidad de obtener subproductos de interés, como el sirope, la fructosa, entre otros. [37] De la misma manera, la molienda en húmedo generaría mayores costos energéticos debido a que para llevar a cabo la fermentación en sólido sería necesario llevar a cabo una evaporación de gran parte del contenido de agua de la biomasa

triturada. Finalmente, como se mencionó anteriormente, humidificación de la celulosa aumenta el grado de cristalinidad debido a una recristalización de la celulosa amorfa. [25]

Por otra parte, la molienda en seco se puede llevar a cabo en gran variedad de diferentes molinos. Los tamaños de partícula obtenidos por molienda en seco de residuos lignocelulósicos realizado por Dell’Omo P. y Vincenzo A. tuvieron como resultado un tamaño promedio de partícula de 0.55 mm. Hay que tener en cuenta que la materia prima (residuos de palma de aceite y cascarilla de arroz) utilizada en este caso tienen tamaños distintos. Para realizar una molienda más eficaz, es necesario triturar los racimos de frutos vacíos secos provenientes de palma de aceite con el fin de tener tamaños de partícula similares a los demás residuos tratados. Debido al tamaño de los RFV el molino de cuchillas es el más apto para homogenizar el tamaño del material, en este caso se propone un molino de cuchillas de un solo eje el cual funciona efectivamente con materiales que presentan resistencia al corte y funciona de igual manera con materiales fibrosos. El funcionamiento de un molino mono-eje se da de manera que un actuador hidráulico desplaza el material lignocelulósico hacía las cuchillas, y debido a la rotación se efectúa la trituración del material en cuestión, como se puede ver en la figura 13.

**Figura 13.**

*Funcionamiento de un molino de cuchillas.*



**Nota.** En la figura se representa el sistema de funcionamiento de un molino de cuchillas desde una perspectiva lateral.

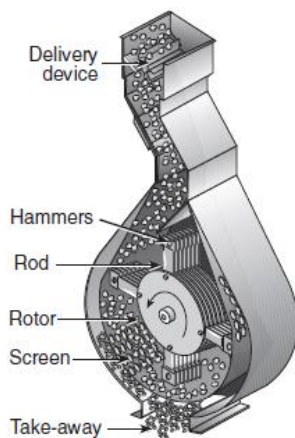
Otros tipos de molinos no lograrían moler de manera efectiva los residuos de gran tamaño (RFV) debido a que este tipo de material es fibroso y de composición cristalina que dificulta la trituración de los mismos, este es el caso de diferentes tipos de molino como: los molinos de bolas, molinos de rodillos, los molinos de chorro y las extrusoras. [38]

Posteriormente, el material lignocelulósico con tamaños de partícula similares sería sometido a una segunda molienda, con los siguientes propósitos: moler y disminuir el tamaño de la cascarilla de arroz y el cuesco de la palma y homogeneizar el tamaño de partícula de todos los residuos lignocelulósicos que deben entrar al biorreactor con tamaños similares para favorecer la digestión enzimática. Para ello, se hace uso de un molino de martillos el cual se adapta a las necesidades de tamaño de partícula y no genera ningún inconveniente al procesar materiales fibrosos, otros tipos de molinos como el de rodillo o barras presentan una eficiencia casi nula al momento de intentar triturar materiales fibrosos. [38]

Los molinos de martillos funcionan haciendo aprovechamiento de la gravedad, introduciendo el material que se desea triturar por la parte superior, posteriormente, se genera una acumulación del mismo justo antes de entrar en contacto con los martillos que se encuentran rotando constantemente, consecuentemente el material es desintegrado por impacto y fricción con los martillos a medida que son desplazados hacia el fondo del molino. Cuando las partículas se encuentran reducidas al tamaño deseado serán arrojados por las mallas que se encuentran en la parte inferior del molino, como se observa en la figura 14. [38]

#### **Figura 14.**

*Perspectiva frontal de un molino de martillos.*



**Nota.** En la figura se especifican las partes de un molino de martillos y se representa el recorrido del material triturado dentro del mismo. Tomado de: I. Lomovskiy, A. Bychkov, O. Lomovsky, and T. Skripkina, “*Mechanochemical and Size Reduction Machines for Biorefining*,” *Molecules*, vol. 25, no. 22, 2020.

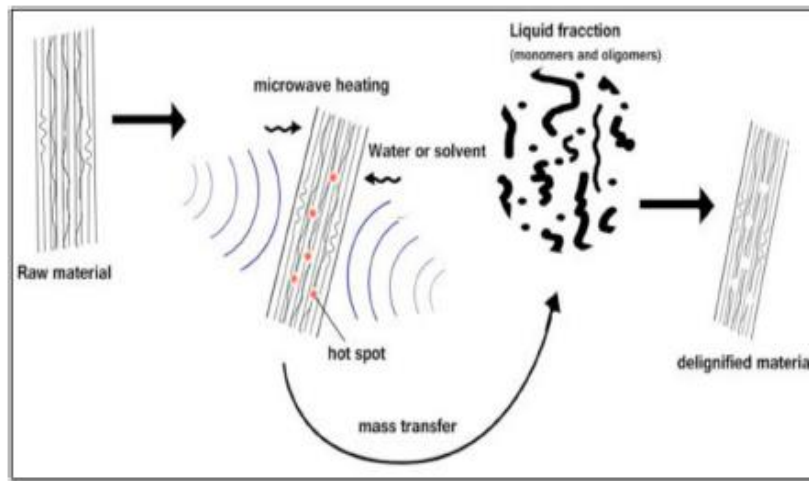
3.2.2.ii. Radiación. Continuando con los pretratamientos físicos que se pueden implementar en el proceso, existen diferentes tipos de métodos por radiación los cuales pueden ser considerados para mejorar la hidrólisis enzimática como, rayos gama, haces de electrones y el uso de microondas. De los anteriores los más utilizados son el uso de rayos gamma y microondas, donde se ha demostrado que el material lignocelulósico pretratado con radiación logra degradar la celulosa compuesta en el material a fibras frágiles y oligosacáridos con bajo peso molecular e incluso hasta celobiosa.[25] Esto podría deberse a la disociación preferencial de los enlaces glucósidos de las cadenas moleculares de la celulosa por irradiación en presencia de lignina. Para evaluar si la radiación es un pretratamiento óptimo a la fermentación en sólido, se debe estudiar los diferentes tipos de radiación a los cuales los residuos se pueden someter.

3.2.2.ii.a. Microondas. Es importante analizar la viabilidad y la necesidad del uso de las microondas como pretratamiento para la fermentación en sólido que se llevará a cabo posteriormente, debido a que cumple con el objetivo de disminuir la dificultad en el rompimiento de los enlaces involucrados en la estructura de la lignocelulosa.

Es necesario tener la información sobre las propiedades dieléctricas de la biomasa lignocelulósica antes del pretratamiento con microondas para una comprensión mecanicista de las interacciones materiales con la energía electromagnética. [39] Principalmente, las propiedades dieléctricas ayudan a encontrar una condición óptima para calentar los materiales de la biomasa utilizando la energía de las microondas. Al respecto, se observa que, más material dipolar demuestra mucha propiedad dieléctrica, y posteriormente genera calor sustancial dentro del objeto. Por tanto, la composición de la biomasa es un factor importante para el diseño de las condiciones paramétricas para microondas que se debe tener en cuenta para el calentamiento por microondas. Los grupos hidroxilo de la biomasa se atribuyen a la polaridad, y la presencia de fibras lignocelulósicas no polares da como resultado la formación de dipolo. Además, la región cristalina dentro de los materiales lignocelulósicos facilita en gran medida los flujos de corriente eléctrica, mientras que la presencia de humedad ayuda en el flujo en las regiones amorfas. [40] En la figura 15 se representa de manera gráfica el efecto de este pretratamiento en los residuos lignocelulósicos, como se explicó anteriormente, y de qué manera afectan su estructura molecular.

**Figura 15.**

*Efecto del pretratamiento de calentamiento por microondas en la lignocelulosa.*



**Nota.** La figura ilustrada representa las fases que experimenta el material lignocelulósico al ser sometido al pretratamiento con microondas. Tomado de: D. Haldar and M. K. Purkait, “A review on the environment-friendly emerging techniques for pretreatment of lignocellulosic biomass: Mechanistic insight and advancements,” Chemosphere, vol. 264, p. 128523, 2021.

Este método demuestra ser un pretratamiento efectivo que brinda beneficios al rendimiento de una posterior hidrólisis enzimática, sin embargo, este método no es considerado una etapa esencial previa a la fermentación en sólido, ya que el no uso de dicho pretratamiento no significa que no se pueda llevar a cabo la degradación del material lignocelulósico con el uso del método microbiológico. Por lo tanto, es recomendable realizar un estudio del costo económico y energético que pueda generar el uso de microondas como pretratamiento para los residuos lignocelulósicos.

3.2.2.ii.b. Rayos Ultravioleta. Otro método de pretratamiento por radiación a considerar es el uso de Rayos Ultravioleta C (UVC), con el propósito de eliminar la microbiota que pueda estar contenida en los residuos lignocelulósicos antes de entrar a la fermentación, pues dependiendo la procedencia de los residuos y las condiciones por las que ha sido sometido es probable que tenga un alto contenido de microorganismos distintos a los hongos de podredumbre blanca, que puedan inhibir el crecimiento de dichos hongos usados para la fermentación en sólido.



En la actualidad se ha vuelto relevante la problemática que consiste en que los microorganismos, más específicamente las bacterias, con el paso del tiempo, cada vez presentan mayor resistencia a los antibióticos. Entre los nuevos enfoques de tratamientos no antibióticos destaca el grupo de tecnologías basadas en la luz, que incluyen terapia de radiación ultravioleta C, terapia fotodinámica, terapia de luz azul y otras basadas en la luz. Las ventajas más atractivas de las terapias antimicrobianas basadas en la luz radican en su capacidad para erradicar los microbios independientemente de la resistencia a los antibióticos, y la improbabilidad fundamental de los propios microbios de desarrollar resistencia a estas terapias basadas en la luz. [41]

El uso de rayos UVC demuestra ser un pretratamiento efectivo contra la presencia de microorganismos que afecten la hidrólisis enzimática, sin embargo, este método no es considerado una etapa esencial previa a la fermentación en sólido, ya que el contenido de diferentes microorganismos previo a la fermentación en sólido depende de diferentes factores, entre ellos, considerar las temperaturas en las que se lleve a cabo pretratamientos como la radiación con microondas que puedan eliminar la microbiota por las condiciones extremas a las que se le somete. Por lo tanto, es recomendable realizar un estudio detallado de los microorganismos presentes en la biomasa previo a su degradación.

### ***3.2.3. Pretratamientos fisicoquímicos***

Gracias a la revisión sistemática desarrollada, se evidenció la importancia de evaluar el uso de procesos fisicoquímicos [25], en este caso, se mencionaran aquellos que tienen mayor uso en el tratamiento de residuos lignocelulósicos, sin embargo, sólo uno de ellos cumple con el requisito de ser “amigable con el medio ambiente” y de igual manera con el criterio relacionado a los objetivos de desarrollo sostenible, debido a que la mayoría hacen uso de compuestos químicos (tóxicos o contaminantes), además que, una de las desventajas de los pretratamientos fisicoquímicos es el alto costo energético y económico que implican.[40]

3.2.3.i. Explosión con vapor. Al igual que con la radiación de microondas el uso del pretratamiento de explosión con vapor demuestra ser un pretratamiento eficaz que favorece el rendimiento de una posterior hidrólisis enzimática, sin embargo, este método no es considerado una etapa esencial

previa a la fermentación en sólido, ya que el no uso de dicho pretratamiento no significa que no se pueda llevar a cabo la degradación del material lignocelulósico con el uso del método microbiológico. Por lo tanto, es recomendable realizar un estudio del costo económico y energético que pueda generar el uso de la explosión con vapor como pretratamiento para los residuos lignocelulósicos.

También denominada “Autohidrolisis”. La explosión con vapor ha recibido una atención sustancial en el pretratamiento de lignocelulosa para procesos como la producción de etanol y biogás, debido a la capacidad de remover parte de la lignina contenida en el material, así como la eliminación o solubilización de la hemicelulosa que mejoran el rendimiento de la posterior hidrolisis enzimática.[25] «En el pretratamiento por explosión con vapor de los residuos lignocelulósicos el pH del material residual y del lixiviado puede caer a valores ácidos, esto es atribuido a la formación de ácidos orgánicos, como el ácido acético formado a partir de los grupos acetilo de la hemicelulosa. Esta acidez produce la auto hidrólisis de la hemicelulosa. Dependiendo de la severidad del tratamiento se pueden producir dos tipos de reacciones: la despolimerización por hidrólisis ácida y la condensación -repolimerización de la lignina. La transformación de la estructura química de la lignina puede ser evaluada por la aparición, disminución o desaparición de grupos funcionales y enlaces característicos como los grupos hidroxilo (OH) o carbonilo (C=O), que puede corresponder a los ésteres alifáticos encontrados en la lignina y la hemicelulosa, así como los enlaces (C-O) unidos a polisacáridos o anillos aromáticos en residuos de lignina, entre otros». [42]

Ballesteros et al. [43] aplicaron la explosión de vapor para la producción de etanol a partir de varios materiales lignocelulósicos. Las astillas de álamo y eucalipto las trataron a 210°C durante 4 minutos; paja de trigo a 190°C durante 8 minutos; residuos de Brassica carinata a 210°C durante 8 min; y por último bagazo de sorgo dulce a 210°C durante 2 minutos. La explosión de vapor solubilizo ampliamente los azúcares hemicelulósicos y disminuyó el contenido de xilosa en un rango del 75% - 90% dependiendo del sustrato.

Es importante tener en cuenta, como se mencionó anteriormente, el costo energético que implica llevar a cabo el proceso de explosión con vapor debido a las temperaturas y presiones que se manejan, de igual manera es importante considerar que, la biomasa debe tener un contenido bajo de humedad para mantener las condiciones de la fermentación en solido que se desea llevar a cabo,

por lo que sería necesario remover gran parte del agua contenida en la biomasa previo a la fermentación.

#### ***3.2.4. Pretratamientos químicos***

El uso de compuestos químicos ha facilitado una inmensa cantidad de procesos debido a la innumerable variedad de compuestos que se pueden obtener para casi cualquier propósito en la industria. Su uso en pretratamientos de residuos lignocelulósicos brinda ventajas como: Solubilización efectiva de la hemicelulosa, remoción significativa de lignina, costos bajos de pretratamiento en comparación con otros métodos, reducción de la cristalinidad de la celulosa, la viabilidad de obtener lignina pura es mayor, entre otras. [40] Algunos de estos métodos son: hidrólisis alcalina, deslignificación con peróxidos alcalinos, proceso organosolv, pretratamiento de ozonólisis, hidrólisis acida, entre otros. [44] [45]

No obstante, el uso de dichos pretratamientos químicos no solo han generado la necesidad de someter la biomasa a procesos de purificación, que en muchos casos se hace uso de más compuestos químicos, sino además presentan la problemática de que en gran parte de los casos resulta difícil recuperar los compuestos utilizados, y de igual manera, es inevitable el desecho de residuos tóxicos y contaminantes.[40] Por estas razones, no se tendrán en cuenta dichos procesos para la fermentación en sólido presentada en este documento.

Finalmente, gracias a los parámetros de selección del pretratamiento y a los objetivos del desarrollo sostenible, se define que el pretratamiento al cual se someten los residuos lignocelulósicos es el pretratamiento físico por molienda, en donde se recomienda evaluar el método expuesto anteriormente, haciendo uso de los dos tipos de molinos mencionados. Por otro lado, los pretratamientos fisicoquímicos y químicos, aunque sean efectivos en el rompimiento de la lignina, celulosa y hemicelulosa, no se tienen en cuenta; ya que se debe hacer un balance económico y energético para observar la factibilidad del proceso, y son tratamientos que no resultan ser esenciales para la hidrólisis enzimática ya que su principal objetivo es romper los enlaces estructurales de la biomasa (objetivo fundamental de la fermentación en sólido). Es por estas

razones que se toma la decisión de implementar el pretratamiento físico previo a la fermentación en sólido.

### **3.3. Selección de los microorganismos degradadores de material lignocelulósico**

De acuerdo a la revisión sistemática para los microorganismos degradadores de material lignocelulósico, se destacan las características principales que estos deben poseer, como producir enzimas lignocelulolíticas extracelulares para romper las moléculas lignocelulósicas y así obtener azúcares reductores en la fermentación, se evalúan dos grupos de microorganismos: bacterias y hongos.

Para los microorganismos evaluados (bacterias y hongos), se estudia la producción de las enzimas ligninolíticas que se componen principalmente por: Lignino Peroxidasa (LiP) y Manganese Peroxidasa (MnP), las cuales hidrolizan la molécula de lignina, Lacasa (Lc) y Celulasa (C), las cuales hidrolizan las moléculas de celulosa y hemicelulosa, entre otras. Estas enzimas peroxidadas requieren de la molécula  $H_2O_2$  como oxidante para catalizar las reacciones. Si existe un exceso de  $H_2O_2$  la enzima no se regenera, ya que continúa oxidándose el compuesto generando otras moléculas, inhibiendo la capacidad enzimática. Para evitar esta inhibición se hace uso de mediadores redox, los cuales son buenos sustratos para la enzima, ya que actúan como mediador oxidando otros sustratos indirectamente. Un compuesto utilizado comúnmente es el veratril alcohol que estimula la oxidación y evita la inhibición de la enzima. [11]

Para caracterizar las poblaciones de microorganismos implicados en la fermentación en sólido es importante evaluar los principales grupos, como son: bacterias y hongos para la degradación de residuos lignocelulósicos.

#### ***3.3.1. Uso de bacterias para la producción de enzimas lignocelulolíticas***

Gracias a la metodología aplicada para este capítulo, se denota que, en los resultados obtenidos para la búsqueda de bacterias generadoras de enzimas lignocelulósicas, los estudios se han

enfocado en el uso de consorcios entre bacterias y hongos para la degradación de material lignocelulósico, en vez de la experimentación con únicamente cepas bacterianas.

Sin embargo, hay estudios que evalúan el uso de residuos lignocelulósicos para la producción de otro tipo de enzimas utilizando bacterias, como, por ejemplo, el artículo titulado “Utilización de residuos agroindustriales para la producción de enzimas por *Bacillus subtilis* E 44”, donde utilizan afrecho de trigo, bagazo de caña, cascarilla de arroz y rastrojo de maíz para la producción de enzimas como endocelulasas, mananasas y endoxilanasas por medio de una fermentación en sólido. [46]

Los autores del artículo mencionado anteriormente destacan que la cascarilla de arroz es un buen sustrato para la elaboración de enzimas endoxilanasas, ya que los xilanos ocupan aproximadamente el 14% de la materia. Por otro lado, se obtuvo un resultado bajo de las enzimas endocelulasas, que hidrolizan celulosa, debido a una posible inhibición de estas enzimas. Adicionalmente, las mananasas se consideran las segundas enzimas más importantes para la hidrólisis de la molécula de hemicelulosa en donde la cascarilla de arroz produjo cantidades similares a los demás sustratos. [46]

Gracias a esto se puede concluir que, la bacteria *Bacillus subtilis* evaluada en dicho artículo, aunque sea potencialmente generadora de enzimas endoxilinasas y mananasas utilizando cascarilla de arroz como sustrato, la actividad enzimática es menor a comparación a los demás sustratos evaluados. Por otro lado, aunque haya presencia de enzimas capaces de hidrolizar la molécula de hemicelulosa, este residuo tiene un alto porcentaje de lignina (15,80 %) lo que hace que la hidrólisis no sea efectiva para obtener azúcares de bajo peso molecular. Finalmente, la fermentación en sólido realizada en el artículo destaca el uso de otros métodos para mejorar la síntesis y propiedades catalíticas de las enzimas. [46]

### ***3.3.2. Uso de hongos para la producción de enzimas lignocelulolíticas***

Con la revisión sistemática realizada a los hongos productores de enzimas lignocelulolíticas, se encontró que los hongos de podredumbre blanca (HPB) son capaces de producir enzimas

ligninolíticas, además de producir enzimas como: aril alcohol oxidasa, glucosa oxidasa y la enzima glioxal oxidasa, las cuales producen moléculas de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), un cofactor importante para la hidrólisis de la lignina. [15]

En los resultados obtenidos, los rendimientos evaluados es la capacidad de producción enzimática, donde mayor producción significa mayor rendimiento, ya que entre mayor contenido de enzimas ligninolíticas, más rompimiento de lignina, celulosa y hemicelulosa existirá. Por otro lado, la actividad enzimática se reporta generalmente en Unidades Internacionales (U o UI), las cuales se definen como la cantidad de enzima requerida para producir 1  $\mu$ mol de producto/min. Adicional, las unidades se miden por volumen o por masa evaluada, siendo “U/L” o “U/g” según sea el caso. [47]

Según la tesis doctoral titulada “Evaluación de la degradación de residuos de floricultura para la obtención de azúcares con el uso de tres hongos lignocelulolíticos” utilizan el hongo *Pleurotus ostreatus* para degradar residuos de rosa y crisantemo con el fin de obtener azúcares reductores cambiando diferentes tipos de variables como la relación carbono/nitrógeno (C/N), el uso y la concentración de inductores como sulfato de cobre y manganeso y presencia de aire. La investigación tuvo como resultado que para la mayor actividad de la enzima Lacasa fue bajo condiciones de pH 5,6, concentración de inductores de 7,5 m y 2 vvm de aire (volumen de aire por volumen de medio por minuto), obteniendo 4693,4 U/L (Unidades enzimáticas por litro) de enzima utilizando crisantemo como sustrato y 2640 U/L utilizando rosa como sustrato. [11]

Por otro lado, al artículo titulado “Production of lignocellulolytic enzymes from three white-rot fungi by solid-state fermentation and mathematical modeling” reporta que el hongo *Pleurotus ostreatus* bajo condiciones de fermentación en estado sólido a 25°C, relación C/N de 114,6 y 0,16% de sulfato de cobre como inductor, se obtuvo una actividad enzimática de 90,42 U/g de Lacasa utilizando aserrín, cascara de coco y aceite de soya como sustrato. Ahí mismo, evaluaron la máxima concentración de Manganeso peroxidasa que se obtuvo en condiciones de fermentación en estado sólido a 25°C, relación C/N de 100,9 y 0,16% de sulfato de cobre como inductor, obteniéndose una actividad enzimática de 9,57 mg/g de enzima utilizando el mismo sustrato. Ambos resultados se obtuvieron a los 28 días de fermentación. [48]

Finalmente, en la tesis magistral titulada “Evaluación del proceso de degradación de un colorante sintético tipo azo mediante un sistema de fermentación en estado sólido” evalúan tres tipos de hongos: *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius* y *Trametes versicolor*. Se realizaron pruebas de fermentación en estado sólido utilizando cascara de banano como sustrato y variando la temperatura, la relación C/N y el porcentaje de humedad para cada hongo, observando el porcentaje de biodegradación en cada tratamiento para así realizar la cuantificación de la actividad enzimática con la mejor prueba. Los resultados fueron: Para el hongo *Pleurotus ostreatus* el mayor porcentaje de biodegradación fue de 72,88% bajo condiciones de 20°C, relación C/N de 12 y 90% de humedad, donde se obtuvo una actividad enzimática de 18,1 U/g de Lacasa, 9,44 U/g de Manganese peroxidasa y 1,15 U/g de Lignino peroxidasa, en un periodo de 30 días. Para el hongo *Pleurotus pulmonarius* el porcentaje de biodegradación mayor fue de 63,38% bajo condiciones de 20°C, relación C/N de 12 y 90% de humedad, donde se obtuvo una actividad enzimática de 15,6 U/g de Lacasa, 0,57 U/g de Manganese peroxidasa y 1,62 U/g de Lignino peroxidasa, en un periodo de 30 días. Por último, para el hongo *Trametes versicolor* el porcentaje de biodegradación mayor fue de 64,10% bajo condiciones de 28°C, relación C/N de 20 y 142% de humedad, sin embargo, la diferencia entre los demás tratamientos no fue significativa, por lo que la actividad enzimática se midió bajo condiciones de 20°C, relación C/N de 12 y 90% de humedad obteniendo un porcentaje de biodegradación de 60,98%, donde se obtuvo una actividad enzimática de 15,62 U/g de Lacasa, 6,42 U/g de Manganese peroxidasa y 1,83 de Lignino peroxidasa, en un periodo de 15 días. [47]

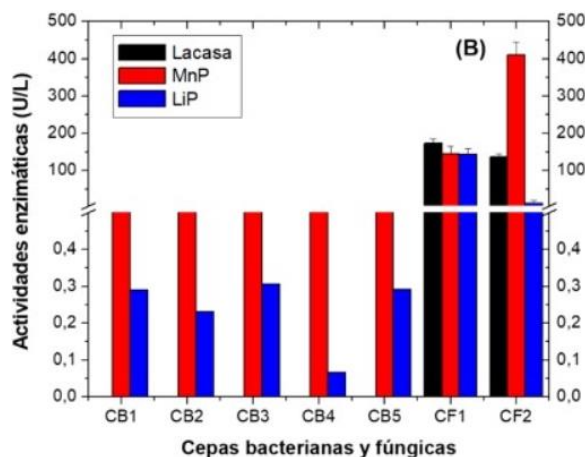
### ***3.3.3. Uso de consorcios entre bacterias y hongos para la producción de enzimas lignocelulolíticas***

Según el artículo de investigación titulado “Evaluación del consorcio entre *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor* y bacterias aeróbicas para remoción de colorantes sintéticos” de la Revista Colombiana de Biotecnología, resalta que la ventaja que se presentan en este tipo de consorcios es que los hongos inician la remoción de las moléculas resistentes del material, como la lignina, y las bacterias “producen enzimas diferentes, isoformas de una misma enzima y la biomasa fúngica forma pellets de diferente tamaño y forma”. [49]

En este artículo descrito en el párrafo anterior, para la degradación de compuestos como los pigmentos utilizan 5 diferentes tipos de bacterias como: *Enterobacter xiangfangensis*, *Pseudomonas azotoformans*, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens*; y 2 tipos de hongos: *P. ostreatus* y *T. versicolor*. Los autores resaltan que, aunque al emplear consorcios fúngicos y bacterianos puede existir inhibición fúngica por diferentes mecanismos bacterianos, en este artículo no se presentó ninguna inhibición de las cepas y por eso ninguna fué excluida en el estudio. Por otro lado, aunque la producción enzimática de las bacterias es baja en comparación con los hongos como se observa en la figura 16, y sin producir la enzima Lacasa, el consorcio fúngico y bacteriano tiene la capacidad de remover elevadas concentraciones de: DQO, DBO y color, bajo condiciones de laboratorio. [49]

**Figura 16.**

*Actividad enzimática de las cepas bacterianas y fúngicas.*



**Nota.** En la figura se observa la actividad enzimática de las cepas bacterianas y fúngicas donde, CB1: *Enterobacter xiangfangensis*, CB2: *Pseudomonas azotoformans*, CB3: *Pseudomonas sp.*, CB4: *Bacillus subtilis*, CB5: *Pseudomonas fluorescens*, CF1: *P. ostreatus* y CF2: *T. versicolor*. Tomado de: D. Hernández-Sáenz *et al.*, “Evaluación del consorcio entre *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor* y bacterias aeróbicas para remoción de colorantes sintéticos,” *Rev. Colomb. Biotecnol.*, vol. 22, no. 1, pp. 45–59, 2020.

La figura 16 resalta que, aunque existe actividad enzimática de las cepas bacterianas (CB1, CB2, CB3, CB4 y CB5), esta actividad es considerablemente menor en comparación con las cepas



fúngicas (CF1 y CF2), además de no producir la enzima lacasa, importante para la degradación de la molécula de lignina.

Gracias a estos resultados se observa que, a pesar de que el uso de bacterias puede ser útil para la degradación de material lignocelulósico, su eficiencia es más baja comparada con los hongos. Por otro lado, al utilizar consorcios bacterianos y fúngicos, existe el riesgo de la inhibición fúngica por acciones bacterianas, lo cual disminuye el rendimiento de la degradación de la lignocelulosa.

Finalmente, al evaluar las diferentes alternativas de los microorganismos aptos para la degradación de material lignocelulósico mediante una fermentación en sólido, se concluye que, tanto las bacterias como los hongos son aptos para producir enzimas ligninolíticas en una fermentación. Sin embargo, el uso de únicamente cepas bacterianas no es eficiente al momento de degradar los residuos lignocelulósicos, aunque si puede llevarse a cabo una FES en consorcio con cepas fúngicas. No obstante, las condiciones de operación de una fermentación en sólido pueden llegar a ser extremas para las cepas bacterianas, ya que hay ausencia de agua en exceso y fuentes de carbono y nitrógeno sólidos. Adicionalmente, en una fermentación de este estilo es difícil el control del pH, una característica importante para las cepas bacterianas.

Es por esto que los microorganismos que mejor se adaptan a las condiciones de una fermentación en sólido y que presentan altos rendimientos son los hongos de podredumbre blanca, los cuales se van a trabajar por sus grandes características. A continuación, se realiza la caracterización y la taxonomía de las cepas que mejor han tenido resultados en degradación de material lignocelulósico.

#### ***3.3.4. Caracterización y taxonomía de los hongos de la podredumbre blanca***

La caracterización y determinación de los microorganismos que son más recurrentes en el compilado de hongos de la podredumbre blanca es importante llevar a cabo para predecir de manera más concreta cómo será el funcionamiento de los mismos en el momento de llevar a cabo la fermentación.

De acuerdo con lo anterior, los microorganismos que serán descritos en la tabla 15 son: *Aspergillus niger*, *Trametes versicolor*, *Pleurotus pulmonarius* y *Pleurotus ostreatus*.

**Tabla 15.**

*Taxonomía de los hongos de podredumbre blanca.*

	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trametes versicolor</i>	<i>Pleurotus pulmonarius</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>
<b>Clasificación morfológica</b>	Filamentoso	Macromicetos	Macromicetos	Macromicetos
<b>Micelio reproductivo</b>	Ascosporas	Basidiosporas	Basidiosporas	Basidiosporas
<b>Reino</b>	Fungi	Fungi	Fungi	Fungi
<b>Phylum</b>	<i>Ascomycota</i>	<i>Basidiomycota</i>	<i>Basidiomycota</i>	<i>Basidiomycota</i>
<b>Clase</b>	<i>Eurotiomycetes</i>	<i>Agaricomycetes</i>	<i>Agaricomycetes</i>	<i>Agaricomycetes</i>
<b>Orden</b>	<i>Eurotiales</i>	<i>Polyporales</i>	<i>Agaricales</i>	<i>Agaricales</i>
<b>Familia</b>	<i>Aspergillaceae</i>	<i>Polyporaceae</i>	<i>Pleurotaceae</i>	<i>Pleurotaceae</i>
<b>Género</b>	<i>Aspergillus</i>	<i>Trametes</i>	<i>Pleurotus</i>	<i>Pleurotus</i>
<b>Especie</b>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trametes versicolor</i>	<i>Pleurotus pulmonarius</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>

**Nota.** En la tabla se presenta la clasificación de los microorganismos más recurrentes en la identificación de los hongos de la podredumbre blanca. Tomado de: A. Stchigel, “*Estudio taxonómico de los Ascomycetes del suelo,*” UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI FACULTAT DE MEDICINA I CIÈNCIES DE LA SALUT, 2000.

Gracias a la información recopilada y presentada sobre la morfología, reproducción y descripción taxonómica de los hongos de la podredumbre blanca, se reafirma que los HPB son aptos para la fermentación en sólido, debido a que la mayoría de los microorganismos involucrados en el consorcio se reproducen por división celular a partir de las esporas, siendo la reproducción por esporas un método que permite el crecimiento del cultivo de manera más rápida. [50] Finalmente, de acuerdo con lo mencionado, una de las condiciones de operación más recomendables sería que la biomasa se mantenga en constante agitación permitiendo que dichas esporas se distribuyan en la mayor cantidad de lignocelulosa accesible.

También es importante recalcar que la mayoría de los hongos presentes son Macromicetos, debido a que comparten características similares en cuanto a su reproducción y a su capacidad de producir enzimas lignocelulolíticas que permiten la hidrólisis enzimática de la mayor parte de la biomasa fermentada.

### **3.4.Fermentación en sólido**

Como se mencionó anteriormente, el objetivo de llevar a cabo la fermentación en sólido (FES) es obtener como producto una biomasa con un potencial energético, aprovechando las ventajas y características que este tipo de fermentaciones ofrece como son las siguientes: el bajo consumo de agua en el proceso, un suministro suficiente de oxígeno, menos aguas residuales orgánicas, bajos costos de operación, producción de productos de alto valor agregado, aprovechamiento de residuos industriales y agrícolas, entre otros. [18]

Gracias a la revisión sistemática de este capítulo, a continuación, se definen las condiciones óptimas para el desarrollo de la fermentación y los factores de crecimiento para el cultivo. Esto se realiza de igual manera con la ayuda de la información encontrada y expuesta en el ítem 3.3.2., donde se resalta el uso de un artículo, una tesis de maestría y una tesis de doctorado para comparar los diferentes resultados.

#### ***3.4.1. Condiciones de desarrollo de la fermentación***

Las condiciones de operación dependen en mayor parte de la clasificación de los hongos de podredumbre blanca para ciertos criterios, como: la temperatura, cantidad de humedad y actividad del agua, pH, tipo de sustrato, entre otros.

3.4.1.i. Cantidad de humedad y actividad del agua. Se debe mantener un control de la humedad en la fermentación en sólido, ya que “Un porcentaje de humedad muy bajo reduce la difusión de nutrientes, el crecimiento microbiano y la estabilidad de las enzimas. Mientras que uno alto origina la aglomeración de las partículas, limita la transferencia de gases y promueve la competencia de las especies fúngicas con bacterias”. [47] Adicionalmente, los requerimientos de agua deben ser

definidos en términos de la actividad del agua, conocido también como el “Aw”, refiriéndose a la disponibilidad del agua no enlazada químicamente, para que los hongos lo puedan utilizar metabólicamente.

En la tabla 16 se observan los diferentes valores de Aw para los microorganismos, donde se evidencia que los hongos tienen menor requerimiento de agua, por lo que una vez más se confirma que es más factible llevar a cabo la fermentación en sólido con hongos que con bacterias.

**Tabla 16.**

*Valores de actividad del agua para diferentes microorganismos.*

Microorganismo	Rango para el crecimiento	Valor mínimo
Bacterias	0.92-0.99	0.85
Levaduras	0.85-0.93	0.79
Hongos	0.80-0.90	0.62

**Nota.** La actividad del agua y la humedad relativa (HR) se relacionan mediante la expresión:  $A_w = HR/100 = P/P_0$ , donde “P” es la presión de vapor del agua en el sustrato y “P<sub>0</sub>” es la presión de vapor del agua pura. Tomado de: A. Zuleta Correa, “*Evaluación del proceso de degradación de un colorante sintético tipo azo mediante un sistema de fermentación en estado sólido*,” Univ. Nac. Colomb., p. 89, 2014.

En la tabla 17 se observan diferentes valores de Aw que se han reportado en la literatura, con su respectiva actividad enzimática. La connotación “(1)” hace referencia a la información reportada en la tesis doctoral, el número “(2)” es la información obtenida del artículo científico y la connotación “(3)” hace referencia a la información reportada en la tesis magistral. Adicionalmente, en la tabla se observa que en ambas fermentaciones en sólido (referencias 2 y 3) la actividad enzimática aumenta a un valor de Aw menor.

**Tabla 17.***Valores de Aw reportados en la literatura.*

REFERENCIA / M.O.	<i>P. Ostreatus</i>	CONDICIONES	
(1) Evaluación de la degradación de residuos de floricultura para la obtención de azúcares con el uso de tres hongos lignocelulolíticos	ENZIMA	SUSTRATO	Aw
	<i>Lacasa</i>		
	4693,4 U/L	Crisantemo	-
	2640 U/L	Rosa	
REFERENCIA / M.O.	<i>P. Ostreatus</i>	CONDICIONES	
(2) Producción de enzimas lignocelulolíticas a partir de tres hongos de pudrición blanca mediante fermentación en estado sólido y modelado matemático *	ENZIMA	SUSTRATO	Aw
	<i>Lacasa</i>		
	90,42 U/g	Aserrín, cascara de coco y aceite de soya	0,6
	<i>Manganeso peroxidasa</i>		
9,57 mg/g			
REFERENCIA / M.O.	<i>P. Ostreatus</i>	CONDICIONES	
(3) Evaluación del proceso de degradación de un colorante sintético tipo azo mediante un sistema de fermentación en estado sólido *	ENZIMA	SUSTRATO	Aw
	<i>Lacasa</i>		
	18,1 U/g	Cascara de banano	0,9
	<i>Manganeso peroxidasa</i>		
	9,44 U/g		
<i>Lignino peroxidasa</i>			
1,15 U/g			

**Nota.** En la tabla se observan los diferentes valores de Aw que toman las tres referencias bibliográficas evaluadas para las condiciones de fermentación en sólido.

3.4.1.ii. pH. Este parámetro es importante ya que cada microorganismo tiene un rango de crecimiento y un valor óptimo que incrementa su actividad metabólica. Normalmente los hongos tienen rangos amplios de pH con inclinación hacia valores ácidos, lo cual permite minimizar la contaminación de bacterias en la fermentación.

Sin embargo, en la fermentación en sólido el control de pH es prácticamente imposible, debido a que es un sistema heterogéneo y la falta de instrumentos capaces de medir el pH en sólidos. Para contrarrestar este problema, en muchas ocasiones cuando ocurren cambios de pH durante la FES, se utilizan soluciones buffer que no afecten la actividad biológica. [47]

Como en la FES no puede controlarse el pH durante el proceso, lo más recomendado es caracterizar el pH del sustrato para asegurarse de no llegar a inhibir el microorganismo. Para la cascarrilla de arroz el pH está en 5,74 aproximadamente, y para la fibra de los racimos de fruto vacíos de la

palma el pH se encuentra en 5,90 aproximadamente.[51], [52] Estos valores indican que no es necesario realizar ajustes previos a la fermentación en solido ya que no existe una posible inhibición de los hongos con estos residuos como sustrato.

Por otro lado, el hongo *Pleurotus ostreatus* tiene un pH optimo entre 5,00 y 6,50, el hongo *Pleurotus pulmonarius* entre 6,50 a 7,00 y el *Trametes versicolor* entre 3,50 y 5,50.[53] Aunque el *P. pulmonarius* trabaja en rangos alcalinos, este puede crecer en medios ácidos, sin embargo, su actividad enzimática es menor en comparación con los demás hongos. Esto se puede observar en la tabla 18, donde en la tesis magistral titulada “Evaluación del proceso de degradación de un colorante sintético tipo azo mediante un sistema de fermentación en estado sólido” (referencia 3), las mismas condiciones, la actividad enzimática de la enzima Lacasa es menor que con los demás hongos, adicionalmente que la actividad de la enzima Manganese peroxidasa es casi nula y la enzima Lignino peroxidasa es la más baja en comparación con las demás cepas. [47]

**Tabla 18.**

*Actividad enzimática para el P. Ostreatus, P. Pulmonarius y T. Versicolor.*

REFERENCIA / M.O.	<i>P. Ostreatus</i>	<i>P. Pulmonarius</i>	<i>T. Versicolor</i>
(3) Evaluación del proceso de degradación de un colorante sintético tipo azo mediante un sistema de fermentación en estado sólido *	ENZIMA	ENZIMA	ENZIMA
	<i>Lacasa</i>	<i>Lacasa</i>	<i>Lacasa</i>
	18,1 U/g	15,6 U/g	15,62 U/g
	<i>Manganese peroxidasa</i>	<i>Manganese peroxidasa</i>	<i>Manganese peroxidasa</i>
	9,44 U/g	0,57 U/g	6,42 U/g
	<i>Lignino peroxidasa</i>	<i>Lignino peroxidasa</i>	<i>Lignino peroxidasa</i>
	1,15 U/g	1,62 U/g	1,83 U/g

**Nota.** En la tabla se puede observar los distintos valores para las enzimas lacasa, manganese peroxidasa y lignino peroxidasa para los tres hongos, a las mismas condiciones de fermentación.

3.4.1.iii. Temperatura. Esta es la variable que mayor control necesita ya que se involucra directamente con el crecimiento y la producción de enzimas, que son sensibles a la temperatura. Al igual que el pH, cada microorganismo tiene una temperatura optima, donde los hongos tienen un rango de 20°C – 35°C generalmente. Sin embargo, los hongos con temperaturas optimas de 35°C son poco comunes.

Por otro lado, por la naturaleza exotérmica de las reacciones biológicas se incrementa constantemente la temperatura en el medio, por lo cual es necesario un sistema de remoción de

calor para así, evitar la pérdida de humedad y la baja actividad fúngica. Esto puede hacerse con la constante aireación en la FES donde las corrientes de aire convectivo permiten esa remoción de calor del medio, manteniendo un sistema en equilibrio y sin contratiempos. [47]

En la tabla 19 se observan las temperaturas de crecimiento para los hongos para las tres referencias utilizadas. Cabe resaltar que, gracias a las temperaturas fáciles de llegar y mantener en la fermentación, existe ahorro energético y gastos de operación para la FES.

**Tabla 19.**

*Valores de temperatura reportados en la literatura.*

REFERENCIA / M.O.	<i>P. Ostreatus</i>	CONDICIONES	
(1) Evaluación de la degradación de residuos de floricultura para la obtención de azúcares con el uso de tres hongos lignocelulolíticos	ENZIMA	SUSTRATO	TEMPERATURA
	<i>Lacasa</i>		
	4693,4 U/L	Crisantemo	30 °C
	2640 U/L	Rosa	
REFERENCIA / M.O.	<i>P. Ostreatus</i>	CONDICIONES	
(2) Producción de enzimas lignocelulolíticas a partir de tres hongos de pudrición blanca mediante fermentación en estado sólido y modelado matemático *	ENZIMA	SUSTRATO	TEMPERATURA
	<i>Lacasa</i>		
	90,42 U/g	Aserrín, cascara de coco y aceite de soya	25 °C
	<i>Manganeso peroxidasa</i>		
9,57 mg/g			
REFERENCIA / M.O.	<i>P. Ostreatus</i>	CONDICIONES	
(3) Evaluación del proceso de degradación de un colorante sintético tipo azo mediante un sistema de fermentación en estado sólido *	ENZIMA	SUSTRATO	TEMPERATURA
	<i>Lacasa</i>		
	18,1 U/g	Cascara de banano	20 °C
	<i>Manganeso peroxidasa</i>		
	9,44 U/g		
<i>Lignino peroxidasa</i>			
1,15 U/g			

**Nota.** En la tabla se observan los diferentes valores de temperatura que toman las tres referencias bibliográficas evaluadas para las condiciones de fermentación en sólido.

3.4.1.iv. Tipo de sustrato. Aunque el sustrato para la fermentación en sólido son las cascarillas de arroz y los racimos de fruto vacíos de la palma, se adicionan otros compuestos como aminoácidos, peptonas, nitratos, entre otros, como fuentes de nitrógeno. Otros elementos son fósforo, azufre o metales para mejorar el crecimiento del microorganismo. Algunos elementos importantes para adicionar son el manganeso, que es indispensable como cofactor en las rutas enzimáticas de la enzima manganeso peroxidasa, y el fosforo que es cofactor de la enzima lacasa.

En la tabla 20 se presentan los inductores que se tuvieron en cuenta en las referencias bibliográficas para el estudio.

**Tabla 20.**

*Inductores utilizados en la literatura.*

REFERENCIA / M.O.	<i>P. Ostreatus</i>	CONDICIONES	
(1) Evaluación de la degradación de residuos de floricultura para la obtención de azúcares con el uso de tres hongos lignocelulolíticos	ENZIMA	SUSTRATO	INDUCTORES
	<i>Lacasa</i>		
	4693,4 U/L	Crisantemo	
	2640 U/L	Rosa	
7,5 m -> Sulfato de Cobre y Manganeseo			
REFERENCIA / M.O.	<i>P. Ostreatus</i>	CONDICIONES	
(2) Producción de enzimas lignocelulolíticas a partir de tres hongos de pudrición blanca mediante fermentación en estado sólido y modelado matemático *	ENZIMA	SUSTRATO	INDUCTORES
	<i>Lacasa</i>		
	90,42 U/g	Aserrín, cascara de coco y aceite de soya	
	<i>Manganeseo peroxidasa</i>		
9,57 mg/g	0,16% -> Sulfato de Cobre		
REFERENCIA / M.O.	<i>P. Ostreatus</i>	CONDICIONES	
(3) Evaluación del proceso de degradación de un colorante sintético tipo azo mediante un sistema de fermentación en estado sólido *	ENZIMA	SUSTRATO	INDUCTORES
	<i>Lacasa</i>		
	18,1 U/g	Cascara de banano	
	<i>Manganeseo peroxidasa</i>		
	9,44 U/g		
<i>Lignino peroxidasa</i>			
1,15 U/g	-		

**Nota.** En la tabla se observan los diferentes valores y tipos de inductores que toman las tres referencias bibliográficas evaluadas para las condiciones de fermentación en sólido.

3.4.1.v. Proporción carbono/nitrógeno. La proporción carbono/nitrógeno (C/N) es un parámetro que varios autores reportan como importante para obtener mejores producciones de enzimas ligninolíticas. [47]

El carbono es la fuente de energía de los microorganismos, por lo cual es un compuesto de suma importancia para la fermentación. Por otro lado, el nitrógeno es indispensable para la síntesis enzimática de los hongos, como fuente de proteína.

En la tabla 21 se presentan los diferentes valores obtenidos en la literatura. Cabe resaltar que, comparando las fermentaciones 2 y 3, hay mayor actividad enzimática a mayor proporción C/N. Por otro lado, para la mayor actividad enzimática de la enzima lacasa, la relación C/N es mayor a



la que se necesita para la mayor actividad de la enzima manganeso peroxidasa, manteniendo las demás condiciones de fermentación iguales.

**Tabla 21.**

*Valores de relación C/N reportados en la literatura.*

REFERENCIA / M.O.	<i>P. Ostreatus</i>	CONDICIONES	
(1) Evaluación de la degradación de residuos de floricultura para la obtención de azúcares con el uso de tres hongos lignocelulolíticos	ENZIMA	SUSTRATO	RELACION C/N
	<i>Lacasa</i>		
	4693,4 U/L	Crisantemo	-
	2640 U/L	Rosa	
REFERENCIA / M.O.	<i>P. Ostreatus</i>	CONDICIONES	
(2) Producción de enzimas lignocelulolíticas a partir de tres hongos de pudrición blanca mediante fermentación en estado sólido y modelado matemático *	ENZIMA	SUSTRATO	RELACION C/N
	<i>Lacasa</i>		
	90,42 U/g	Aserrín, cascara de coco y aceite de soya	114,6
	<i>Manganeso peroxidasa</i>		100,9
	9,57 mg/g		
REFERENCIA / M.O.	<i>P. Ostreatus</i>	CONDICIONES	
(3) Evaluación del proceso de degradación de un colorante sintético tipo azo mediante un sistema de fermentación en estado sólido *	ENZIMA	SUSTRATO	RELACION C/N
	<i>Lacasa</i>		
	18,1 U/g	Cascara de banano	12
	<i>Manganeso peroxidasa</i>		
	9,44 U/g		
<i>Lignino peroxidasa</i>			
	1,15 U/g		

**Nota.** En la tabla se observan los diferentes valores para la relación C/N que toman las tres referencias bibliográficas evaluadas para las condiciones de fermentación en sólido.

3.4.1.vi. Aireación y agitación. La aireación y agitación cumplen un factor importante en la fermentación ya que, por un lado, la aireación provee oxígeno, remueve compuestos volátiles y lo más importante, remueve el calor del medio. Mientras que la agitación garantiza la homogeneidad en el sistema. Sin embargo, en una fermentación en sólido la agitación puede disminuir la porosidad del sustrato y causar daños en el micelio.[47]

El uso de tambores rotatorios para el FES es óptimo ya que, al mover el medio donde se encuentra el sustrato y los microorganismos, provee oxígeno sin necesidad de adicionar una corriente de aire externa, además de proveer movimiento en el sistema sin necesidad de adicionar agitación mecánica. Cumpliendo así con ambas condiciones ahorrando en gastos energéticos y herramientas extras.

Gracias a las condiciones mencionadas anteriormente, en la tabla 22 se pueden observar los valores que se recomiendan que pueden tomar las condiciones principales de fermentación con los residuos de racimos de fruto vacíos de la palma y cascarillas de arroz como sustratos.

**Tabla 22.**

*Valores que pueden tomar las condiciones de fermentación utilizando racimos de fruto vacíos y cascarillas de arroz como sustratos.*

MICROORGANISMO	CONDICIONES				
	SUSTRATO	TEMPERATURA	RELACION C/N	Aw	INDUCTORES
<i>Pleurotus Ostreatus</i> <i>Pleurotus</i> <i>Pulmonarius</i> <i>Trametes Versicolor</i>	Racimo de frutos vacíos de palma y cascarilla de arroz	20 °C - 25 °C	> 100	0,6 - 0,7	Sulfato de cobre y de manganeso

**Nota.** Valores proporcionados para diferentes condiciones de fermentación teniendo en cuenta la información evaluada en las referencias bibliográficas.

### 3.4.2. Factores de crecimiento del cultivo

Para los factores de crecimiento en esta revisión sistemática, se tiene en cuenta la velocidad de degradación del material lignocelulósico, la cual esta expresada en el tiempo que tarda en expresarse la máxima actividad enzimática de cada hongo. Adicionalmente, es importante resaltar aquellos factores que pueden inhibir la actividad enzimática.

3.4.2.i. Velocidad de degradación del material lignocelulósico. Según las fuentes bibliográficas expuestas en la tabla 17, 18, 19, 20 y 21, la velocidad de degradación esta cuantificada en términos de la mayor actividad enzimática presentada en el tiempo de fermentación que cada estudio realizo.

Según la referencia (1) la fermentación realizada fue fermentación sumergida (FS). Los autores reportan que a las 48 horas de la fermentación se obtuvo la mayor cantidad de enzima Lacasa ya que después de este tiempo hubo disminución considerable. Por otro lado, la referencia (2) y (3) son estudios realizadas utilizando fermentación en estado sólido, lo cual evidencia que los tiempos de fermentación son mayores que con la fermentación sumergida. El estudio (2) reporto la máxima actividad enzimática a los 28 días de fermentación mientras que el estudio (3) lo reporto a los 30 días. [11], [48]

Cabe resaltar que el hongo *Trametes versicolor* del estudio (3) presentó la máxima actividad enzimática a los 15 días de fermentación, ya que en el tiempo después la disminución de las enzimas fue considerablemente menor. Esto resalta la rapidez enzimática de este hongo en comparación con los demás. [47]

3.4.2.ii. Factores de inhibición de crecimiento de los hongos. Varios autores han reportado que una concentración alta de metales como cobre o zinc pueden llegar a inhibir la actividad enzimática de las enzimas lignocelulolíticas. El uso de inductores como sulfato de cobre y manganeso les aportan los metales necesarios a las enzimas para realizar su ciclo enzimático, sin embargo, una alta concentración de estos metales produce que las enzimas no se regeneren y produzcan otros tipos de compuestos. Adicionalmente, gracias a la hidrólisis realizada a la lignina, se generan compuestos fenólicos en el medio, lo cual también pueden generar inhibición en las enzimas a concentraciones altas.

Gracias a la revisión para la fermentación en sólido, se observa que las condiciones para la FES son relativamente fáciles de obtener y controlar, ya que, al operar a una temperatura baja, se hace ahorro de gastos energéticos además de ahorrar en servicios por la baja cantidad de agua con la que se opera. Por otro lado, las variables como la agitación y la aireación son importantes para el crecimiento microbiano, por lo que el uso de tambores rotatorios es la mejor idea para la FES, ya que aporta en ambos criterios teniendo en cuenta el mínimo daño y gasto energético en la fermentación. Finalmente, el parámetro del pH es difícil de controlar durante la fermentación, es por esto que el control se lleva a cabo caracterizando la materia prima y controlando la relación carbono/nitrógeno en la FES.

### **3.5. Análisis de la biomasa degradada**

Posteriormente a la fermentación en sólido, es de suma importancia realizar un análisis del producto obtenido, donde se espera que los microorganismos hayan logrado degradar la mayor parte del material lignocelulósico introducido al biorreactor. Siguiendo la metodología planteada para la revisión sistemática del cuarto objetivo específico del proyecto planteado, se evaluó de manera específica el valor estimado del porcentaje de biomasa hidrolizada, permitiendo así

determinar la eficacia de los hongos de podredumbre blanca para la degradación del material lignocelulósico en una fermentación en sólido; finalmente, después de caracterizar la biomasa obtenida, su composición y productos de interés, se propone llevar a cabo el proceso de pirólisis de la biomasa tratada para generar los productos sólidos, líquidos y gaseosos que son susceptibles para su aprovechamiento energético. Las temperaturas de operación del proceso de pirólisis pueden variar entre 300°C y 600°C para determinar la influencia de la fermentación en sólido sobre los productos finales del proceso de pirólisis.

A continuación, se presentan los resultados obtenidos para cada punto del análisis de la biomasa degradada, y su respectiva discusión.

### ***3.5.1. Composición y propiedades de la biomasa***

Gracias a la información recopilada, es posible estimar la composición de la biomasa obtenida después de la fermentación realizada en dos aspectos, las posibles moléculas obtenidas después de la hidrólisis de la lignocelulosa (como los son monosacáridos y polisacáridos), de la misma manera se puede estimar los compuestos resultantes dependiendo los microorganismos estudiados y las enzimas que producen. La finalidad de dicha planificación es entender que compuestos se pueden obtener en un proceso posterior que logre separar los biocombustibles contenidos en la biomasa. A pesar de que los tratamientos de degradación de lignocelulosa por vía microbiana presentan la posibilidad de obtener enzimas, como la lignina peroxidasa (LiP) o manganeso peroxidasa (MnP), [54] en este proyecto no se evalúa la posibilidad de separarlas para su comercialización, debido a que el producto de interés son los compuestos de alto potencial energético como se ha mencionado anteriormente.

3.5.1.i. Identificación compuestos de interés. Para el análisis completo de la biomasa degradada, es importante aclarar la importancia de caracterizarla siguiendo las condiciones de operación planteadas para la fermentación en sólido, de manera que, experimentalmente se evalúen los siguientes aspectos: Análisis próximo (contenido de humedad, cantidad de cenizas y materia volátil), cantidad de celulosa, hemicelulosa y lignina, el poder calorífico de la biomasa resultante, y por último, un análisis elemental de C, H, N, O, contenidos en el producto de la fermentación.

[55] Zhang, et al., presentan información sobre la caracterización de diferentes tipos de residuos lignocelulósicos, en donde la biomasa residual del arroz en menor cantidad de humedad contenida aumenta su contenido en Oxígeno, (teniendo una composición de C=42.0, H=5.40, O=39.3, N=0.40 y H<sub>2</sub>O=1.1), e incrementando de la misma manera el potencial energético de los combustibles obtenidos por pirolisis (un mayor poder calorífico, “HHV” por sus siglas en inglés, de 16.8 MJ/Kg de combustible seco). [55] Sin embargo, los resultados obtenidos por la revisión sistemática solo permiten estimar la composición de la misma de manera teórica, es por esto que es importante caracterizar la biomasa de manera experimental comparando los resultados obtenidos de las propiedades mencionadas, antes y después de la fermentación planteada.

Debido a la complejidad de las cadenas de lignocelulosa, y a la capacidad de los HPB de producir distintos tipos de enzimas que hidrolizan dichas moléculas, a la salida del biorreactor existe una variedad de productos que se pueden obtener después pues de la fermentación. Zhiang, et al., quienes estudiaron la degradación de residuos lignocelulósicos por medio de hongos como el anteriormente mencionado *P. ostreatus*, como pretratamiento para la obtención de productos con potencial energético por un sistema de poligeneración pirolítica, obtuvieron un incremento en el rendimiento de la obtención de sus productos, el rendimiento de biocombustibles aumentó en un 51.09% y los rendimientos de algunos productos de valor agregado, como la isosorbida, aumentaron considerablemente. Además, el bio-carbón (biochar) obtenido por pirolisis a partir de la paja de trigo tratada previamente por hongos presentaba características óptimas para la adsorción de tintes y contaminantes.[54] De misma manera, en el mismo estudio definen los productos que componen la biomasa resultante en tres grupos: gases, bio-aceites y biochar, esto reafirma la información presentada sobre pirolisis en el marco teórico, en donde se planteaba la conversión de compuestos por pirolisis, al ser un método termoquímico, se obtienen productos sólidos, líquidos y gaseosos. [54]

Para definir finalmente los compuestos que se encuentran en la biomasa degradada, es importante entender las reacciones que suceden dentro de la fermentación y los compuestos resultantes después de hidrolizar el material lignocelulósico. Quevedo, presenta detalladamente las enzimas involucradas en la degradación de la lignocelulosa y una parte considerable de los compuestos obtenidos por hidrolisis enzimática de la lignocelulosa, dentro de los resultados obtenidos se

encuentra recurrentemente productos como: dímeros de glucosa obtenidos gracias a la hidrólisis de la celulosa por la  $\beta$ -glucosidasa, en algunos casos la misma enzima hidroliza celooligosacáridos a glucosa.[11] A pesar de que el objetivo principal de la hidrólisis de la biodegradación de la celulosa es obtener una conversión completa de ella a glucosa, existe un efecto de inhibición por producto en enzimas  $\beta$ -glucanasas y  $\beta$ -glucosidasas. Por lo que se espera que a partir de la celulosa se obtengan polisacáridos que no se lograron hidrolizar completamente. [11]

Para el caso de la hemicelulosa, las enzimas involucradas en su degradación son hemicelulosas de tipo hidrolasas o esterases, para su degradación se espera que enzimas como la  $\beta$ -xilosidasa y la  $\beta$ -1,4-xilanasas degraden totalmente el xilano contenido en la biomasa para obtener compuestos con cadenas más pequeñas como xilosa hidrolizando los xilooligosacáridos contenidos en ella. Quevedo afirma que un impedimento en la biodegradación de la lignocelulosa está asociado con los compuestos fenólicos. A pesar de que “la estructura del xilano es más compleja que la celulosa y requiere muchas enzimas con diferentes especificidades para su hidrólisis completa, los polisacáridos no forman estructuras cristalinas como en el caso de la celulosa, de tal forma que hay mayor accesibilidad a este compuesto en la hidrólisis enzimática”. [11]

Finalmente, diversos estudios [11] [56] demuestran que a partir de la degradación de la lignina se pueden obtener monolignoles (alcoholes p-hidroxicinamílicos), compuestos como el alcohol sinapílico (S), alcohol coniferílico (C) y alcohol p-cumarílico (p-C)son unidades constitutivas de todas las ligninas.

Por otra parte, Dörsam Stefan, et al., realizaron la evaluación de obtención de biocombustibles por pirolisis a partir de la fermentación de residuos lignocelulósicos, en este caso, la fermentación realizada y su conversión térmica se realizaron con el fin de obtener productos ácidos de valor agregado como ácido Málico, furfural, ácido fumárico, entre otros.

En este estudio se evaluó la eficiencia de hongos de diferentes phylum como *Ascomycota*, *Basidiomycota* y *Zygomycota*, encontrándose entre ellos los evaluados en este documento (*P. ostreatus*, *Aspergillus niger* y *Trametes versicolor*), obteniendo como resultado en la mayoría de

los casos los mismos compuestos mencionados anteriormente, sin embargo, para la obtención de los biocombustibles y productos ácidos los microorganismos que mayor eficiencia obtuvieron fueron aquellos que lograron degradar en mayor porcentaje la lignina compuesta en la biomasa inicial, siendo *T. versicolor* el que presentó un mayor rendimiento. [57]

En la tabla 23 se presenta una recopilación concisa de la información obtenida y de los porcentajes de composición elemental estimados en la biomasa y los compuestos resultantes de las reacciones de biodegradación de los residuos lignocelulósicos.

**Tabla 23.**

*Caracterización y compuestos de interés en la biomasa resultante de la fermentación en sólido.*

	ELEMENTO					HHV (MJ/Kg)
	C	H	O	N	H2O	
<b>% MASICO</b>	42.0	5.40	39.30	0.40	1.10	16.8
<b>COMPUESTOS A PARTIR DE CELULOSA</b>	Glucosa	Oligosacáridos		Polisacáridos		
<b>COMPUESTOS A PARTIR DE HEMICELULOSA</b>	Xilosa	Xilooligosacáridos		Xilano		
<b>COMPUESTOS A PARTIR DE LIGNINA</b>	Alcohol sinapílico	Alcohol coniferílico		Otros monolignoles		

*Nota.* Se presenta un resumen de la composición elemental de la biomasa obtenida en porcentaje másico y su poder calorífico “HHV”, y los posibles compuestos que se pueden obtener a partir de las reacciones de biodegradación de la lignocelulosa.

Las cantidades de cada uno de los posibles productos obtenidos en la fermentación en sólido planteada en este proyecto no se pueden definir de manera acertada, debido a que la biomasa debe ser analizada a partir de las condiciones planteadas, con los pretratamientos propuestos, los residuos agroindustriales escogidos, y los microorganismos seleccionados. Sin embargo, la definición de los compuestos contenidos en la biomasa residual, brinda la posibilidad de determinar el valor y potencial energético de los productos obtenidos.

### **3.5.2. Porcentaje de biomasa hidrolizada**

Con el fin de pronosticar la cantidad de compuestos convertidos en el posterior proceso de pirólisis es importante estimar la cantidad de biomasa que logro ser degradada para así mismo entender la eficiencia de la fermentación en sólido planteada en este documento.

Sharma RK, et al., quienes estudiaron la biodegradación de distintos tipos de residuos lignocelulósicos por medio de hongos, presentan valores cuantitativos y cualitativos de la efectividad de la degradación enzimática de dichos microorganismos. Los valores obtenidos para una digestibilidad inicial varían en un rango de (185 a 671 g/kg) donde el género de los *Pleurotus* coincide en tener los valores más altos dentro de los evaluados (423 a 671 g/kg). Por otra parte, se obtienen datos de digestibilidad después de la degradación de la biomasa, teniendo un aumento en el rango (240 a 801 g/kg) donde el género de los *Pleurotus* nuevamente hace parte de los microorganismos con resultados más elevados dentro de los evaluados (327 a 801 g/kg).[56] Es importante recalcar que, en el caso del estudio de la degradación de residuos de arroz, para el caso de *P. ostreatus* y *P. pulmonarius* se obtuvieron resultados de 787 g/kg y 491 g/kg respectivamente, y un aumento en el porcentaje de digestibilidad de cada uno de 17% para *P. ostreatus* y de 16% para *P. pulmonarius*. En el caso de *Trametes versicolor*, su digestibilidad fue evaluada únicamente para residuos de trigo, obteniendo resultados de 317 g/kg y una mejora en la digestibilidad después de la degradación del material lignocelulósico de 6%. [56]

A partir de la información anteriormente presentada y de la revisión sistemática realizada se puede plantear unos posibles rendimientos de la fermentación en sólido planteada. A pesar de no tener los valores exactos a las condiciones planteadas en este documento, la coincidencia en los resultados obtenidos en las investigaciones evaluadas permite predecir que valores deben esperarse para la degradación de la biomasa inicial. De la misma manera se debe realizar un análisis de la degradación de los residuos de arroz y palma de aceite utilizando hongos como *T. versicolor* y *A. niger*, debido a que no se tiene la información necesaria para predecir su capacidad degradativa sometidos a las condiciones mencionadas anteriormente. Por otra parte, siguiendo un caso ideal en el que se obtienen rendimientos similares por parte del género *Pleurotus* en la degradación de los residuos de palma de aceite, se podría estimar que el porcentaje de biomasa hidrolizada en este caso estaría en un rango del 44.1% y 83.7% (aumentando el rango en 5 puntos por debajo de



la digestibilidad presentada, y 5 puntos por encima del valor máximo presentado por Sharma, et al.). [56]

### ***3.5.3. Aprovechamiento del potencial energético***

Finalmente, siguiendo los resultados obtenidos gracias a la información recopilada en el desarrollo de la revisión sistemática planteada para la realización de este proyecto, se debe analizar el potencial energético de los compuestos contenidos en la biomasa resultante de la fermentación en sólido, esto con el fin de definir los procesos de separación y aprovechamiento de los mismos. En este caso, se estudió únicamente la pirolisis, esto es debido a que, como se ha mencionado durante el desarrollo del documento, la implementación de la pirolisis brinda la posibilidad de tener productos en tres diferentes estados de la materia (bio-gases bio-aceites y bio-carbones), de la misma manera, se ha demostrado que una degradación previa del material lignocelulósico aumenta en un 51.09% el rendimiento de los biocombustibles obtenidos, al igual que los rendimientos de otros productos de valor agregados obtenidos en la pirolisis. [54]

3.5.3.i. Pirólisis para la producción de biocombustibles. Para escoger el tipo de pirolisis que incremente el aprovechamiento de los productos de valor energético en la biomasa es importante analizar detalladamente la composición de la misma, esto con el fin de entender cuál producto se debe favorecer para su conversión, ya que dependiendo el rendimiento y los resultados de la fermentación se obtendrán productos que tendrán mayor facilidad de separarse en distintos estados de la materia (líquido, sólido o gas). En la tabla 24 presentada por Meier, et al., se demuestran los tipos de pirolisis convencionales y las condiciones a las que se somete la biomasa. [58]

La información presentada en la tabla 24 brinda, de la misma manera, los resultados en porcentaje en peso “wt%” de las cantidades contenidas como producto de la pirolisis desarrollada, asimismo permite tomar decisiones en sobre qué tipo de fermentación realizar. Sin embargo, la decisión debe ser tomada evaluando el rendimiento de los biocombustibles, se ha demostrado que, en residuos lignocelulósicos, la calidad de los bio-aceites no es favorable, esto es debido a que las reacciones de crakeo se ven favorecidas, obteniendo como resultado la formación de líquidos en dos fases diferentes, compuestas por fracciones acuosas y alquitranadas.[55] Descartando de esa manera una

pirolisis rápida la cual favorece directamente la formación de productos líquidos. El estudio realizado por Yan, et al., donde evalúan el rendimiento del proceso de pirolisis para la producción de bio-char para biomasa lignocelulósica con y sin tratamiento previo por parte de hongos a diferentes temperaturas, demuestra que dicha biodegradación inicial aumenta el % de Biocarbón obtenido, y de la misma manera, el aumento de temperatura disminuye la cantidad de producto obtenido, siendo 33.04% de bio-char obtenido, el mayor rendimiento presentado en el estudio; sometiendo la biomasa a pirolisis en dos etapas (T=535 K en la primera y T=616 K en la segunda etapa). [59]

**Tabla 24.**

*Condiciones de operación de los tipos de pirólisis convencionales.*

Process	Conditions	Liquid	Solid	Gas
Fast (Flash)	~500°C, short hot gas residence time 1–3 s	60–70	10–20	10–20
Intermediate	~500°C, hot gas residence time 10–30 s	45–55	~20–30	20–30
Slow (carbonization)	~400°C, long hot gas residence time hours – days	25–35	25–35	25–35
Slow (torrefaction)	~250–290°C, solid residence time 10–60 min	5–15, when condensed	75–85	15–25

**Nota.** Se presentan condiciones de temperatura y tiempo de residencia del proceso, las últimas tres columnas corresponden al porcentaje de biocombustibles líquidos, sólidos y gaseosos obtenidos. Tomado de: D. Meier, “*Pyrolysis oil biorefinery,*” Adv. Biochem. Eng. Biotechnol., vol. 166, pp. 301–337, 2019.

De acuerdo con los resultados presentados anteriormente se demuestra que el uso de residuos lignocelulósicos como cascarilla de arroz y residuos de palma de aceite, tienen el potencial energético suficiente para ser aprovechados, separándolos a partir de la pirolisis, de la misma manera se reafirma que la fermentación en sólido aumenta el rendimiento de dicho proceso térmico, así como la calidad de los biocombustibles obtenidos. Sin embargo, sigue existiendo la posibilidad de que los valores estimados varíen considerablemente, debido a que es de gran relevancia evaluar los resultados obtenidos con las condiciones de operación planteadas en el presente documento, de manera estricta y precisa, de esta manera se facilita la toma de decisiones sobre el proceso de producción de biocombustibles a partir de dichos residuos, siguiendo los resultados reales de la fermentación en sólido planteada.

#### 4. CONCLUSIONES

La molienda es tenido en cuenta como un paso esencial previo a la fermentación en sólido, debido a la diferencia de tamaños de los residuos de palma de aceite y la cascarilla de arroz, de la misma manera la composición estructural de los materiales lignocelulósicos varía según el tipo de residuo agroindustrial utilizado, los pretratamientos que disminuyan la cantidad de lignina contenida en la biomasa a hidrolizar incrementan el rendimiento de los microorganismos degradadores de material lignocelulósico.

Por otro lado, los microorganismos más aptos dentro de los evaluados en la revisión sistemática desarrollada, para la fermentación en sólido planteada son los hongos de la podredumbre blanca, demostrando tener una actividad enzimática más alta en la degradación de material lignocelulósico en comparación con las bacterias estudiadas, adicionalmente sobresalen con respecto a los demás hongos evaluados, debido a que tienen la capacidad de degradar con mayor eficiencia la lignina de la biomasa.

De igual manera, la fermentación en sólido puede realizarse bajo condiciones fáciles de operación, como una baja temperatura, lo cual permite ahorrar en términos energéticos al momento de llevar a cabo la fermentación. Por otro lado, el bajo contenido de agua permite ahorrar costos en servicios y posteriormente en la temperatura y tiempo de retención en el proceso de pirólisis. Otros parámetros como el pH, que no se miden directamente en la fermentación, son valores que pueden ser controlables caracterizando la materia prima y con la relación carbono/nitrógeno que se lleve a cabo durante la FES.

Posteriormente, la biodegradación del material lignocelulósico por métodos microbiológicos tienen como producto azúcares como glucosa, xilosa, xilooligosacáridos, polisacáridos y compuestos fenólicos, además de la lignocelulosa que no logra hidrolizarse; asimismo, la fermentación desarrollada por los HPB aumentan considerablemente la eficiencia del proceso de pirólisis planteado con el fin de aprovechar el potencial energético de la biomasa resultante de la fermentación en sólido, permitiendo convertir los compuestos de valor agregado provenientes de las reacciones de hidrólisis enzimática en biocombustibles definidos en tres diferentes estados (bio- gases, bio-aceites y bio-carbón).

Finalmente, gracias a la revisión sistemática realizada para este proyecto se concluye que, la posibilidad de obtener una biomasa con potencial energético a partir de residuos lignocelulósicos, aumenta llevando a cabo una fermentación en sólido con hongos de podredumbre blanca. Adicionalmente, se evidencia que al realizar un pretratamiento a los residuos antes de la FES permite que los resultados en la fermentación incrementen, obteniendo mejores resultados en la pirolisis para la obtención de energía.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] K. Cury R, Y. Aguas M, A. Martinez M, R. Olivero V, and L. Chams Ch, “Residuos agroindustriales su impacto, manejo y aprovechamiento,” *Rev. Colomb. Cienc. Anim. - RECIA*, vol. 9, no. S, p. 122, 2017, doi: 10.24188/recia.v9.ns.2017.530.
- [2] L. V. Peñaranda, S. P. Montenegro, and P. A. Giraldo, “Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales en Colombia,” *Rev. Investig. Agrar. y Ambient.*, vol. 8, no. 2, pp. 141–150, 2017.
- [3] DANE, “Boletín Técnico, Encuesta Nacional Agropecuaria,” pp. 1–31, 2019.
- [4] F. Herrera, “ODS en Colombia: Los retos para el 2030,” Pnud, p. 74, 2018, [Online]. Available:  
[https://www.undp.org/content/dam/colombia/docs/ODS/undp\\_co\\_PUBL\\_julio\\_ODS\\_en\\_Colombia\\_los\\_retos\\_para\\_2030\\_ONU.pdf](https://www.undp.org/content/dam/colombia/docs/ODS/undp_co_PUBL_julio_ODS_en_Colombia_los_retos_para_2030_ONU.pdf).
- [5] I. Duque Márquez and D. Mesa Puyo, *Transición energética : Un legado para el presente y el futuro de Colombia*. Bogotá D.C., Colombia, 2021.
- [6] G. Beltrán and A. Óscar, “Revisiones sistémicas de la literatura,” *Rev. Colomb. Gastroenterol.*, vol. 20, no. 1, pp. 60–69, 2005, [Online]. Available:  
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=337729264009>.
- [7] S. Saval, “Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales : Pasado , Presente y Futuro,” *BioTecnología*, vol. 16, no. 2, pp. 14–46, 2012.
- [8] M. D. O. Humberto Escalante Hernández, Janneth Orduz Prada, Henry Josué Zapata Lesmes, María Cecilia Cardona Ruiz, *Atlas del Potencial Energético de la Biomasa Residual en Colombia - Generalidades*. Colombia.
- [9] M. Vigueras, Gabriel; Figueroa Montero, Arturo; Hernandez Guerrero, *Valorización de Residuos Lignocelulósicos : Materiales , Biomoléculas , Azúcares Fermentables y Enzimas*, Primera Ed., no. October. Universidad autonoma Metropolitana, Ciudad de Mexico, 2019.
- [10] M. Chávez-Sifontes and M. E. Domine, “Lignina, Estructura y Aplicaciones: Métodos de Despolimerización para la Obtención de Derivados Aromáticos de Interés Industrial,” *Av.*

- cien. ing, vol. 4, no. 4, pp. 15–46, 2013, [Online]. Available: [http://www.excedu.com/publishing.cl/av\\_cienc\\_ing/15](http://www.excedu.com/publishing.cl/av_cienc_ing/15).
- [11] B. Quevedo Hidalgo, “Evaluación de la Degradación de Residuos de Floricultura Para la Obtención de Azúcares con el Uso de Tres Hongos Lignocelulolíticos,” Universidad Nacional de Colombia, 2011.
- [12] C. F. Montes, A. Felipe, and R. González, “Aprovechamiento Potencial de Residuos de la Agroindustria Caldense Según su Composición Estructural,” *Rev. Fac. Ciencias Básicas*, vol. 14, no. 2, pp. 143–151, 2018.
- [13] A. Urien, “Obtención de biocarbones y biocombustibles mediante pirólisis de biomasa residual,” Tesis De Máster, p. 83, 2013, [Online]. Available: [http://digital.csic.es/handle/10261/80225%0Ahttp://digital.csic.es/bitstream/10261/80225/1/BIOCARBONES\\_CENIM\\_CSIC.pdf](http://digital.csic.es/handle/10261/80225%0Ahttp://digital.csic.es/bitstream/10261/80225/1/BIOCARBONES_CENIM_CSIC.pdf).
- [14] J. A. Rojas Barreto and A. Hormaza Anaguano, “Evaluación del Crecimiento y Compatibilidad de Hongos de la Podredumbre Blanca,” *Cienc. En Desarro.*, vol. 5, no. 2, pp. 197–205, 2015, doi: 10.19053/01217488.3690.
- [15] R. L. Camacho-Morales, J. L. Gerardo-Gerardo, K. Guillén Navarro, and J. E. Sánchez, “Producción de Enzimas Ligninolíticas Durante la Degradación del Herbicida Paraquat por Hongos de la Pudrición Blanca,” *Rev. Argent. Microbiol.*, vol. 49, no. 2, pp. 189–196, 2017, doi: 10.1016/j.ram.2016.11.004.
- [16] C. D. Calderón-tenorio, L. Porras-reyes, F. Mena, and K. Solano-díaz, “Producción de Enzimas Ligninolíticas y Biodegradación del Herbicida Diuron por Hongos de la Pudrición Blanca Colectados en Costa Rica, Cultivados Sobre Rastrojo de Piña,” *Inst. Reg. Estud. en Sust. Tóxicas la Univ. Nac. Hered. Costa Rica*, pp. 1–23.
- [17] Enrique Battaner Arias, “Introducción a la Bioquímica: Enzimología,” vol. 2 edición, p. 270, 2005.
- [18] H. Chen, *Modern Solid State Fermentation (Theory and Practice)*, no. July. Beijing, China: Institute of Process Engineering. CAS, 2013.
- [19] H. Z. Chen and Z. H. Liu, “Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass from low to

- high solids loading,” *Eng. Life Sci.*, vol. 17, no. 5, pp. 489–499, 2017, doi: 10.1002/elsc.201600102.
- [20] M. Gavrilescu, “Biomass power for energy and sustainable development,” *Environ. Eng. Manag. J.*, vol. 7, no. 5, pp. 617–640, 2008, doi: 10.30638/eemj.2008.086.
- [21] O. Zedadra et al., “Estado del Arte de la Economía Circular en Colombia,” Universidad Cooperativa de Colombia, 2019.
- [22] D. R. Rodríguez Muñoz, D. A. R. Socorro Castro, and D. C. X. Espinoza Cordero, “Análisis de Scimago Journal & Country Rank, utilidad para el desarrollo bibliométrico en la Universidad Metropolitana del Ecuador,” *Rev. Publicando*, pp. 58–68, 2019, Accessed: Feb. 22, 2021. [Online]. Available: chrome-extension://dagcmkpagjlhakfdhnbomgmjdpkdklff/enhanced-reader.html?openApp&pdf=https%3A%2F%2Fdialnet.unirioja.es%2Fdescarga%2Farticulo%2F7054915.pdf.
- [23] R. Lucas Domínguez, A. Sixto Costoya, L. Castelló Cogollos, J. González de Dios, and R. Alexandre Benavent, “Bibliometría e indicadores de actividad científica (X). Indicadores cuantitativos en Scimago Journal and Country Rank. Análisis de la categoría temática «Pediatrics, Perinatology and Child Health»,” *Acta pediátrica española*, vol. 76, no. 7, pp. 103–108, 2018.
- [24] “Research Platforms | Scopus | ScienceDirect | Mendeley.” <https://www.elsevier.com/es-es/research-platforms> (accessed Jul. 26, 2021).
- [25] M. J. Taherzadeh and K. Karimi, Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review, vol. 9, no. 9. 2008.
- [26] A. Iriondo-dehond and M. Iriondo-dehond, “Biomolecules Applications of Compounds from Coffee Processing By-Products,” *Biomolecules*, no. Figure 1, 2020.
- [27] Sagarpa and Conadesuca, “Aprovechamiento de residuos de cosecha de la caña de azúcar,” 2016, [Online]. Available: [www.conadesuca.gob.mx](http://www.conadesuca.gob.mx).
- [28] J. Van Dam, “Subproductos de la palma de aceite como materias primas de biomasa,” *Rev. Palmas Espec. Fedepalma*, vol. 37, Tomo I, no. Especial, pp. 149–156, 2016.

- [29] J. Sierra Aguilar, “Alternativas de Aprovechamiento de la Cascarilla de Arroz en Colombia,” Universidad de sucre, 2009.
- [30] J. R. Castro-ladino, A. B. Vacca-casanova, and C. A. Cuy-hoyos, “Pyrolysis system to obtain carbonaceous material from rice husk used as a precursor,” vol. 44, no. 172, pp. 805–813, 2020.
- [31] L. T. Fan, Y. Lee, and H. David, “Mechanism of the Enzymatic Hydrolysis of Cellulose : Effects of Major Structural Features of Cellulose on Enzymatic Hydrolysis,” vol. XXII, no. 1980.
- [32] S. Kim and M. T. Holtzaple, “Effect of structural features on enzyme digestibility of corn stover,” vol. 97, no. June 2005, pp. 583–591, 2006, doi: 10.1016/j.biortech.2005.03.040.
- [33] Y. Sun and J. Cheng, “Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production : a review q,” vol. 83, pp. 1–11, 2002.
- [34] A. Berlin et al., “Inhibition of cellulase , xylanase and  $\beta$ -glucosidase activities by softwood lignin preparations,” vol. 125, pp. 198–209, 2006, doi: 10.1016/j.jbiotec.2006.02.021.
- [35] C. K. Nitsos, P. A. Lazaridis, A. Mach-Aigner, K. A. Matis, and K. S. Triantafyllidis, “Increasing the efficiency of lignocellulosic biomass enzymatic hydrolysis: Hydrothermal pretreatment, extraction of surface lignin, wet milling and production of cellulolytic enzymes,” *ChemSusChem*, vol. 12, no. 6, pp. 1179–1195, 2019, doi: 10.1002/cssc.201802597.
- [36] S. Li et al., “The milling–milling machining method and its realization,” *Int. J. Adv. Manuf. Technol.*, vol. 76, no. 5–8, pp. 1151–1161, 2015, doi: 10.1007/s00170-014-6345-y.
- [37] A. Herguedas, C. Taranco, E. Rodríguez, and P. Paniagua, *Biomasa, Biocombustibles Y Sostenibilidad*, vol. 13, no. 2. 2012.
- [38] I. Lomovskiy, A. Bychkov, O. Lomovsky, and T. Skripkina, “Mechanochemical and Size Reduction Machines for Biorefining,” *Molecules*, vol. 25, no. 22, 2020, doi: 10.3390/molecules25225345.
- [39] A. Aguilar-Reynosa, A. Romaní, R. Ma. Rodríguez-Jasso, C. N. Aguilar, G. Garrote, and



- H. A. Ruiz, "Microwave heating processing as alternative of pretreatment in second-generation biorefinery: An overview," *Energy Convers. Manag.*, vol. 136, pp. 50–65, 2017, doi: 10.1016/j.enconman.2017.01.004.
- [40] D. Haldar and M. K. Purkait, "A review on the environment-friendly emerging techniques for pretreatment of lignocellulosic biomass: Mechanistic insight and advancements," *Chemosphere*, vol. 264, p. 128523, 2021, doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.128523.
- [41] R. Yin et al., "Light based anti-infectives: Ultraviolet C irradiation, photodynamic therapy, blue light, and beyond," *Curr. Opin. Pharmacol.*, vol. 13, no. 5, pp. 731–762, 2013, doi: 10.1016/j.coph.2013.08.009.
- [42] P. A. Jorge Montalvo, L. Flores del Pino, L. Visitación Figueroa, and R. A. Naveda Rengifo, "Remoción De Lignina En El Pretratamiento De Cascarilla De Arroz Por Explosión Con Vapor," *Rev. la Soc. Química del Perú*, vol. 85, no. 3, pp. 352–361, 2019, doi: 10.37761/rsqp.v85i3.245.
- [43] M. Ballesteros, J. M. Oliva, M. J. Negro, P. Manzanares, and I. Ballesteros, "Ethanol from lignocellulosic materials by a simultaneous saccharification and fermentation process (SFS) with *Kluyveromyces marxianus* CECT 10875," *Process Biochem.*, vol. 39, no. 12, pp. 1843–1848, 2004, doi: 10.1016/j.procbio.2003.09.011.
- [44] M. J. Taherzadeh and K. Karimi, "Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review," vol. 2, no. 4, 2007.
- [45] R. A. Silverstein, Y. Chen, R. R. Sharma-Shivappa, M. D. Boyette, and J. Osborne, "A comparison of chemical pretreatment methods for improving saccharification of cotton stalks," *Bioresour. Technol.*, vol. 98, no. 16, pp. 3000–3011, 2007, doi: 10.1016/j.biortech.2006.10.022.
- [46] M. M. Trujillo, Y. P. Hernández, A. V. Avila, and M. J. Ranilla, "Utilización de residuos agroindustriales para la producción de enzimas por *Bacillus subtilis* E 44," *Cuba. J. Agric. Sci.*, vol. 54, no. 1, pp. 35–44, 2020.
- [47] A. Zuleta Correa, "Evaluación del proceso de degradación de un colorante sintético tipo azo mediante un sistema de fermentación en estado sólido," *Univ. Nac. Colomb.*, p. 89, 2014,

- [Online]. Available: <http://www.bdigital.unal.edu.co/11615/>.
- [48] M. Sandra and L. Laura, "Production of lignocellulolytic enzymes from three white-rot fungi by solid-state fermentation and mathematical modeling," *African J. Biotechnol.*, vol. 14, no. 15, pp. 1304–1317, 2015, doi: 10.5897/ajb2014.14331.
- [49] D. Hernández-Sáenz et al., "Evaluación del consorcio entre *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor* y bacterias aeróbicas para remoción de colorantes sintéticos," *Rev. Colomb. Biotecnol.*, vol. 22, no. 1, pp. 45–59, 2020, doi: 10.15446/rev.colomb.biote.v22n1.82735.
- [50] A. Fairs, A. J. Wardlaw, J. R. Thompson, and C. H. Pashley, "Guidelines on ambient intramural airborne fungal spores," *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, vol. 20, no. 6, pp. 490–498, 2010.
- [51] R. A. A. Ortiz and J. D. M. Cruz, "Caracterización físico-química de residuos agroindustriales (cascarilla de arroz y cascarilla de café), como materia prima potencial para la obtención de bioetanol," *Univ. Autónoma Nicar. Manag.*, p. 122, 2016, [Online]. Available: <http://repositorio.unan.edu.ni/3793/1/53860.pdf>.
- [52] Á. Madrigal-Valverde and G. Garbanzo-León, "Uso de residuos agroindustriales en previveros de palma aceitera (*Elaeis guineensis*, *Arecaceae*): crecimiento y absorción de nutrimentos," *UNED Res. J.*, vol. 10, no. 2, pp. 257–266, 2018, doi: 10.22458/urj.v10i2.2157.
- [53] M. Rios, J. Hoyos Concha, and S. Mosquera Sánchez, "Evaluación de los parámetros productivos de la semilla de *pleurotus ostreatus* propagada en diferentes medios de cultivo," *Biotecnol. en el Sect. Agropecu. y Agroindustrial*, vol. 8, no. 2, pp. 86–94, 2010.
- [54] J. Zhang et al., "Selective fungal pretreatment favored pyrolysis products of wheat straw based on pyrolytic polygeneration system," *Fuel Process. Technol.*, vol. 215, no. October 2020, 2021, doi: 10.1016/j.fuproc.2021.106749.
- [55] C. Zhang and Z. C. Zhang, "Essential Quality Attributes of Tangible Bio-Oils from Catalytic Pyrolysis of Lignocellulosic Biomass," *Chem. Rec.*, vol. 19, no. 9, pp. 2044–2057, 2019, doi: 10.1002/tcr.201900001.
- [56] R. K. Sharma and D. S. Arora, "Fungal degradation of lignocellulosic residues: An aspect

- of improved nutritive quality,” *Crit. Rev. Microbiol.*, vol. 41, no. 1, pp. 52–60, 2015, doi: 10.3109/1040841X.2013.791247.
- [57] S. Dörsam, J. Kirchhoff, M. Bigalke, N. Dahmen, C. Syldatk, and K. Ochsenreither, “Evaluation of pyrolysis oil as carbon source for fungal fermentation,” *Front. Microbiol.*, vol. 7, no. DEC, pp. 1–11, 2016, doi: 10.3389/fmicb.2016.02059.
- [58] D. Meier, “Pyrolysis oil biorefinery,” *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, vol. 166, pp. 301–337, 2019, doi: 10.1007/10\_2016\_68.
- [59] K. Yan et al., “Pyrolysis characteristics and kinetics of lignin derived from enzymatic hydrolysis residue of bamboo pretreated with white-rot fungus,” *Biotechnol. Biofuels*, vol. 9, no. 1, pp. 1–12, 2016, doi: 10.1186/s13068-016-0489-y.
- [60] *Manual Estructuración del Trabajo de Grado*. Fundación Universidad de América, 2021. [PDF]

## **ANEXO 1. RECOMENDACIONES**

Debido a que el desarrollo de este proyecto de grado es de carácter teórico, los resultados obtenidos en la revisión sistemática sirven como una estimación y pronóstico de la implementación del mismo, sin embargo, se recomienda realizarlo y analizarlo de manera experimental, para que, de la misma manera, se corrijan los resultados obtenidos, y se ajusten, si es necesario, las condiciones óptimas de operación de la fermentación en sólido planteada.

De la misma forma, se recomienda realizar un análisis de la viabilidad económica del proyecto a escala industrial, ya que se demostró la facilidad en la accesibilidad de la materia prima, que al ser residuos agroindustriales, se estima que no requieren una inversión muy elevada para obtenerlos, asimismo, se demostró la capacidad calorífica y los compuestos de valor energético que ésta biomasa contiene, por lo que el mayor costo involucrado en este caso sería el montaje del biorreactor y los costos de la implementación de la pirolisis.

Adicionalmente, se recomienda realizar un análisis y caracterización fisicoquímica de los residuos de palma de aceite y cascarilla de arroz, antes y después de los pretratamientos planteados, con el fin de evaluar la eficiencia de aquellos que no son esenciales para la fermentación en sólido. Igualmente, se recomienda realizar dicha caracterización antes y después de la fermentación en sólido y de la pirolisis, permitiendo evaluar de manera más acertada los rendimientos de dichos procesos.

Con el fin de obtener un mayor aprovechamiento (económicamente hablando), del potencial energético de la biomasa obtenida después de la fermentación, se recomienda evaluar de forma más específica el proceso de pirólisis propuesto, de esta manera, poder plantear un proceso de pirolisis que favorezca la obtención de biocombustibles con mayor valor en el mercado.