

Trabajo de revisión

Alternativas para la utilización de sustratos ligno-celulósicos: Hidrólisis ácida o enzimática de la celulosa

M. PAQUOT y PH. THONART

Departamento de Tecnología, Facultad de Ciencias Agronómicas
5800, Gembloux, Bélgica

Recibido el 25 de mayo de 1985

INTRODUCCION

La explotación óptima de los recursos naturales se ha convertido en una necesidad primordial de nuestra época. Igual que a los recursos llamados primarios (productos de la silvicultura, de la agricultura, etcétera), hay una enorme cantidad de desechos a los que podría dárseles una mejor utilización.

Para definir las principales vías de utilización racional de estos desechos, resulta necesario conocer la disponibilidad que hay de ellos, cuestión esta nada fácil. Es evidente, sin embargo, que anualmente se producen enormes cantidades de materias ligno-celulósicas.

A escala mundial, teniendo en cuenta las cantidades de paja, bagazo, bambú, residuos domésticos, papeles viejos, residuos forestales, residuos de las industrias alimentaria y forestal que se producen, nos damos cuenta de la importancia de esta reserva de productos básicos. Cada país, cada región que posea estos desechos, reducirá su volumen de importación si los convierte en materias primas secundarias. Por otra parte, ello repercutirá en una mejoría del medio ambiente, y probablemente, elevará el nivel de empleo.

Aunque los sustratos ligno-celulósicos estén disponibles normalmente a bajos precios, su explotación se enfrenta con frecuencia a los problemas de recogida, transportación y almacenaje.

Por el contrario, las tecnologías de procesamiento existen o pueden desarrollarse sin demasiada dificultad. La combustión, la carbonización, la gasificación, y la metanización son algunas de las técnicas que permiten valorizar con una eficacia variable los sustratos ligno-celulósicos.

La sacarificación de la celulosa se conoce desde hace mucho tiempo, puesto que en 1819 Braconnot descubrió que el tratamiento de la celulosa con ácido sulfúrico concentrado daba como resultado la producción de azúcares. En ello se basó el procedimiento Scholler, muchas veces llamado "Scholler-Tornesch", que trataba la madera por extracción sistemática bajo presión y percolación. Los trabajos sobre este campo en la literatura son numerosos. En Alemania, se instalaron varias unidades industriales durante la Primera Guerra Mundial. En Estados Unidos se realizó igualmente un esfuerzo importante en este sentido. El laboratorio de productos forestales de Madison llevó a cabo un procedimiento basado en la circulación de una solución diluida de ácido sulfúrico en la materia prima a una temperatura de 180°C.

En los primeros años de la posguerra, se realizaron estudios orientados hacia la utilización de hidrolizantes como medio de fermentación (Mottet *et al.*, 1979).

Con la utilización de *Torula utilis* como levadura y enriqueciendo el medio en nitrógeno, se podía lograr la producción de proteínas alimentarias.

Hay que señalar que paralelamente al procedimiento con ácido sulfúrico se han desarrollado otros procedimientos, especialmente los que emplean ácido clorhídrico:

Sin embargo, y a pesar de todas estas investigaciones efectuadas entre las dos últimas guerras, no se ha producido ningún desarrollo industrial importante. De hecho, estas técnicas terminaron incluso por caer en el olvido en estas últimas décadas, probablemente a causa de las dificultades vinculadas a los propios procedimientos, pero sobre todo debido a los precios tan bajos de la energía.

La situación se modificó en los últimos años por la crisis energética y de materias primas. Las investigaciones se desarrollaron nuevamente, permitiendo así obtener una producción de azúcares por vía ácida a alta temperatura y durante un corto tiempo.

Además, apareció una tecnología diferente, basada en la utilización de enzimas, y caracterizada por una especificidad de acción notable en medios heterogéneos.

Se realizaron diversos proyectos actualizados de desarrollo de la sacarificación de la celulosa y se crearon diversas instalaciones piloto a la vez para los procedimientos ácidos y enzimáticos.

ESTRUCTURA Y COMPOSICION DE LOS SUSTRATOS LIGNO-CELULOSICOS

La celulosa, organizada en fibras, es el constituyente principal de las plantas superiores. Las fibras de algodón contienen más de un 90 por ciento de ella. Sucede casi lo mismo con las fibras corticales del lino, del ramio, etcétera.

Los contenidos de celulosa son de 25 a 50 por ciento para las maderas obtenidas de los árboles frondosos o resinosos, las pajas, el bagazo, los tallos del maíz, y otros.

La celulosa es una macromolécula muy estable, químicamente formada con largas cadenas de unidades de glucosa unidas entre sí como en la celobiosa. Presenta una organización espacial (figura 1) que tiene como resultado la formación de zonas llamadas cristalinas (dispuestas muy regularmente) y de zonas amorfas (dispuestas irregularmente). Esta propiedad desempeña un papel importante para prever el comportamiento físico, mecánico y químico de la celulosa. Pero existen otras propiedades (grado de polimerización, accesibilidad al agua y a los agentes químicos, etcétera), pues la celulosa es una sustancia muy compleja en cuanto a su estructura física (Paquot, 1980).

La celulosa está asociada a otras macromoléculas: las hemicelulosas y la lignina, así como a las sales minerales, resinas, taninos, en cantidad mucho menor.

Las hemicelulosas son moléculas químicamente cercanas a la celulosa, pero mucho menos estables. Contienen diferentes unidades de monosacáridos tales como la glucosa, la manosa y la xilosa. Como la celulosa, las hemicelulosas son una fuente potencial de azúcares simples.

La lignina es un polímero muy abundante y prácticamente no explotado, aun cuando abarca gran número de núcleos benzénicos y puede abrir las puertas de la química de los fenoles (figura 2).

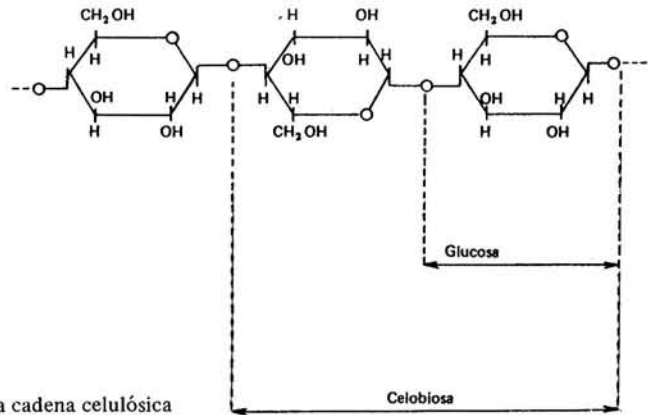


FIG. 1. Esquema de una cadena celulósica

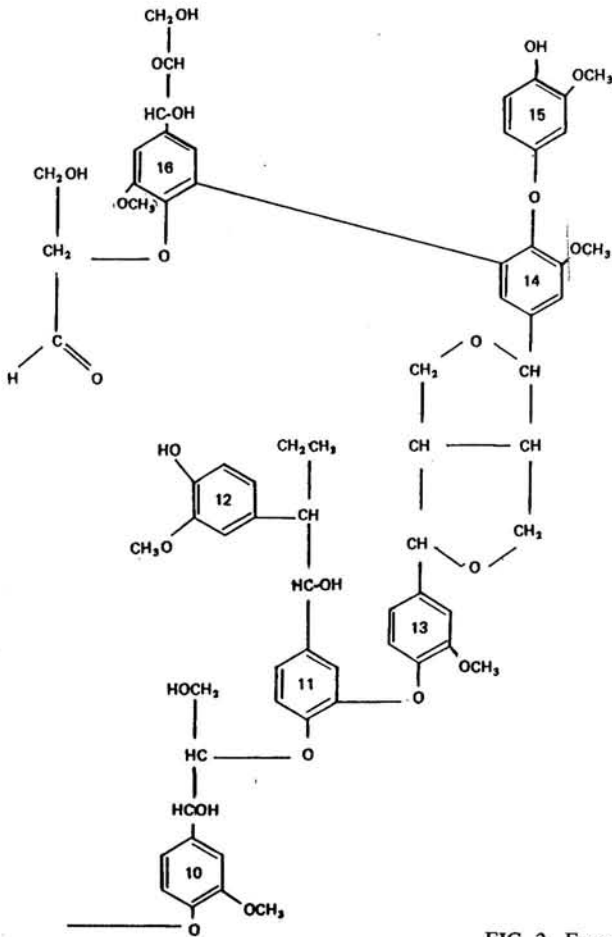


FIG. 2. Fragmento de una molécula de lignina

HIDROLISIS ACIDA DE LA CELULOSA

Las técnicas de sacarificación de la celulosa por vía ácida pueden agruparse en dos grandes familias (tabla 1):

1. Ataque con ácido concentrado a baja temperatura (20 a 25°C).
2. Ataque con ácido diluido en caliente (170°C y más).

Estas dos familias de técnicas tienen no sólo ventajas e inconvenientes propios, sino también óptimos campos de aplicación (Regnault, 1981).

Los procedimientos con ácido diluido se aplican a los materiales verdes sin secado previo, pero acarrear importantes problemas de corrosión a alta temperatura. Se aplican principalmente a vegetales de escaso contenido de pentosanos (fracción de hemicelulosas constituidas por los azúcares en C₅). El ácido es generalmente ácido sulfúrico.

Los procedimientos con ácido concentrado se aplican mejor a los vegetales ricos en pentosanos y no implican problemas de corrosión tan importantes, teniendo en cuenta la temperatura de trabajo. Por el contrario, requieren un material de poca humedad así como un reciclaje y una reconcentración del ácido (generalmente del ácido clorhídrico).

La celulosa amorfa y las hemicelulosas se hidrolizan con bastante rapidez. Durante la hidrólisis, el grado de cristalinidad de la celulosa aumenta y la rapidez de la hidrólisis disminuye: la estructura compacta y organizada de la red aminora el ataque del ácido, que ya sólo tiene lugar superficialmente. Por consiguiente podemos distinguir tres fases (figura 3):

1. Hidrólisis de las hemicelulosas que liberan diversos azúcares, principalmente xilosa.
2. Hidrólisis de la celulosa amorfa con liberación de glucosa.
3. Hidrólisis de la celulosa cristalina con liberación de glucosa.

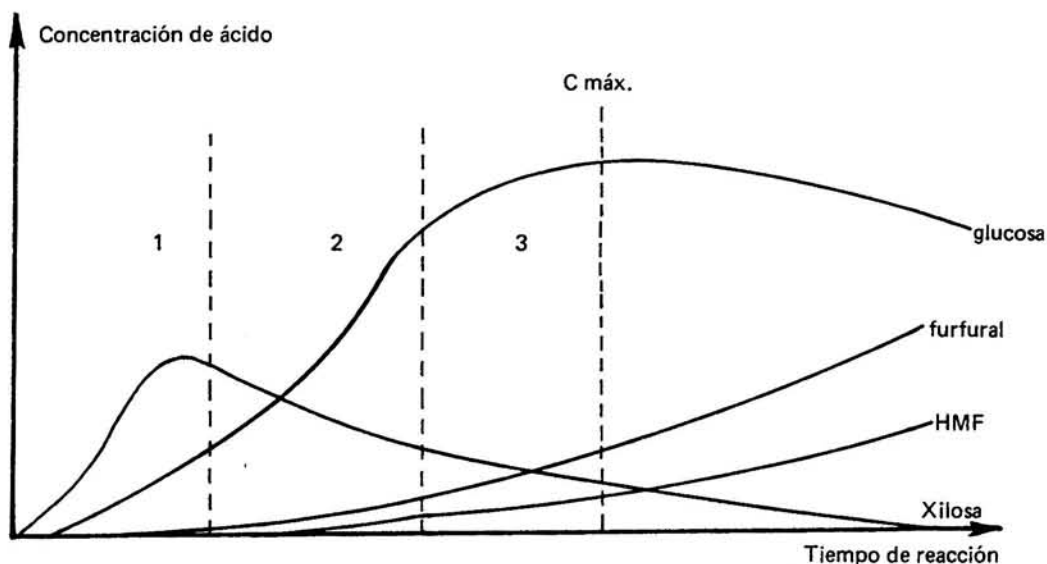


FIG. 3. Evolución de una hidrólisis ácida de lignocelulosa

Tabla 1
EJEMPLOS DE PROCEDIMIENTOS PARA LA HIDROLISIS ACIDA DE LOS SUSTRATOS LIGNO CELULOSICOS

<i>Procedimiento</i>	<i>Sustrato</i>	<i>Agente de Hidrólisis</i>	<i>Producto</i>	<i>Rendimiento</i>
HOKKAIDO	madera	H ₂ SO ₄ conc. temperatura ambiente 30''	glucosa	280-290 kg/t madera seca
RHEINAU-BERGIUS (1931)	madera	HCl conc.	glucosa-alcohol	340 l/t madera seca
SCHOLLER-TORNESCH (1913)	madera	H ₂ SO ₄ 0,4% 170 ⁰ C	azúcares-alcohol	240 l/t madera seca
MADISON (1940-1945)	madera	H ₂ SO ₄ diluido 180 ⁰ C	azúcares	
NATTA (1954)	paja	HCl diluido	furfural	
GRETHLEIN (1978)	periódicos	ácido 1% 230 ⁰ C	azúcares-furfural	60%
BRENNER (1979)	papeles viejos, aserrín	H ₂ SO ₄ 0,5% 230 ⁰ C 25''	azúcares (piloto)	60%
BATTELLE (1977)	papeles viejos, aserrín, pajas. . .	HCl temperatura ambiente, presión	pentosas, hexosas (piloto)	
PORTEUS (1975)	papeles (desechos domésticos)	H ₂ SO ₄ 0,4% 230 ⁰ C	etanol	
CHURCH (1981)	aserrín	H ₂ SO ₄ 1,5% 90'' 200-225 ⁰ C	glucosa-furfural	40%

Por ello, para recuperar la xilosa es posible efectuar un primer ataque del sustrato en condiciones no severas (procedimiento de HOKKAIDO, por ejemplo).

La hidrólisis ácida presenta una importante característica: los azúcares producidos pueden degradarse.

La xilosa puede degradarse con bastante rapidez en furfural. Este último puede polimerizar y formar alquitrán, pero esta evolución es limitada. Como el furfural es volátil, se encuentra en la fase de vapor del reactor en su mayor parte, por lo tanto, es posible destilarlo.

La glucosa evoluciona hacia la formación de gentobiosa por reversión (ataque por ácido concentrado), o bien hacia el hidroximetilfurfural. La cinética de su aparición es más lenta que para el furfural, pero polimeriza con mayor facilidad. Por ello, los nuevos métodos están dirigidos a obtener la máxima eficacia en la hidrólisis en tiempos de reacción muy cortos. Por ejemplo, el profesor Walter Brenner de la Universidad de Westburg, de New York (anónimo, 1979) trató de utilizar un extractor como reactor químico, donde la celulosa se trata a altas temperaturas ($\pm 240^{\circ}\text{C}$) y con ácido sulfúrico diluido durante un breve período de tiempo (10 a 20 segundos).

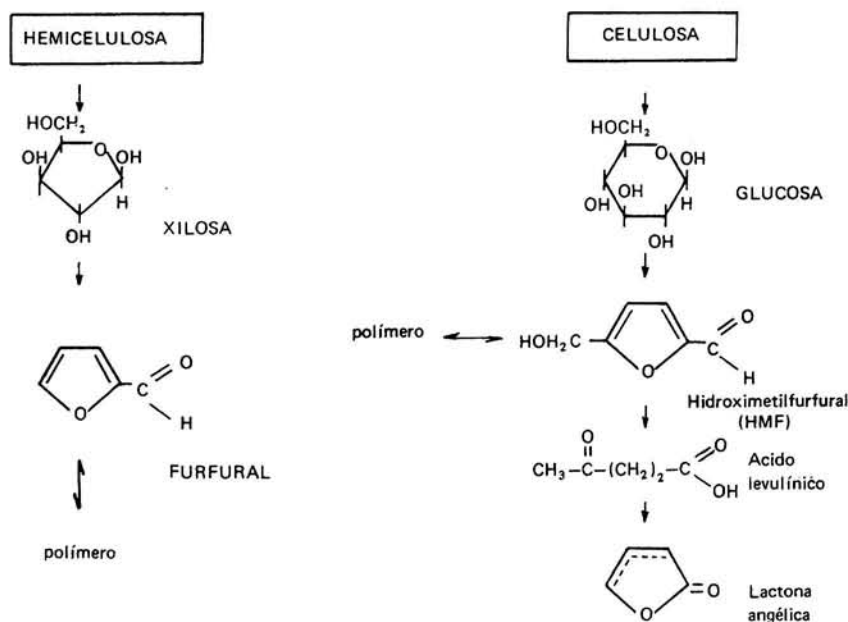


FIG. 4. Transformación de la xilosa y la glucosa en condiciones de pH y temperatura de la hidrólisis.

HIDROLISIS ENZIMATICA DE LA CELULOSA

La hidrólisis de la celulosa puede realizarse gracias a enzimas llamadas celulasas. Las enzimas son catalizadores de naturaleza proteica que se caracterizan por una gran especificidad de acción y por el hecho de que las encontramos no modificadas después de su acción. La especificidad de las enzimas permite obtener productos de alta pureza y concebir su utilización sin recurrir a procedimientos de separación y de purificación complejos.

La vía enzimática no requiere mucha energía pues la producción de enzimas puede realizarse a 25°C y la temperatura óptima del proceso de sacarificación es cercana a 50°C. Sin embargo, el proceso es lento, puede durar desde dos a tres horas hasta uno o dos días.

Se ha establecido que existen por lo menos tres tipos de actividades celulolíticas (figura 5):

- la extremidad no reductora de la cadena celulolítica recibe el ataque de exo β -1,4 glucanasa, que se lleva las unidades de celobiosas;
- las endo β -1,4 glucanasas hidrolizan aleatoriamente los β -1,4 glucanos para suministrar celobiosa y glucosa;
- las β -glucosidasas hidrolizan la celobiosa para suministrar glucosa.

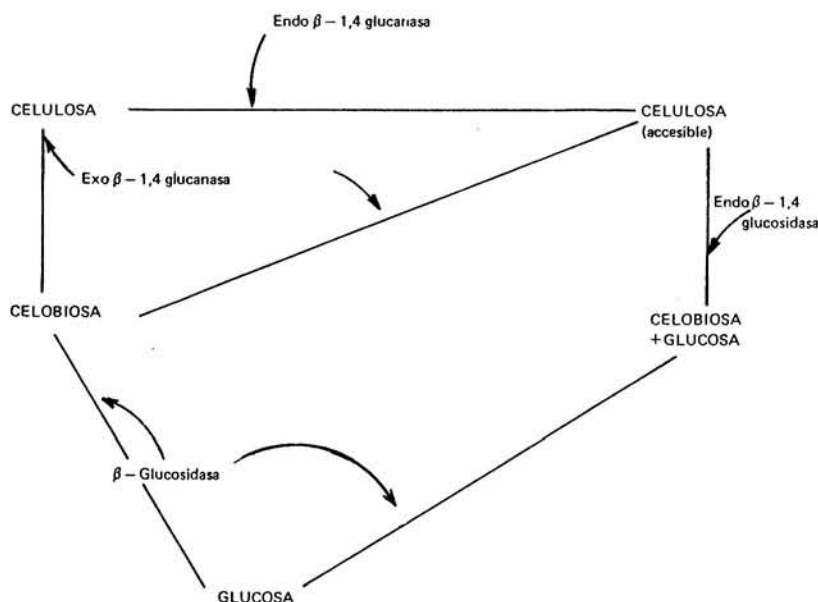


FIG. 5. Modo de acción de la celulasa sobre la celulosa (Ryu y Mandels, 1980).

Al estar aisladas, estas enzimas ejercen muy poca actividad sobre la celulosa pura. Sólo la asociación de las diferentes actividades hace posible la hidrólisis, debido particularmente a un sinergismo muy marcado entre las endo y exo celulasas.

La composición del complejo enzimático en estas diferentes actividades es primordial para la eficacia del sistema. Si alguna de las actividades no es significativa, todo el sistema sufrirá por ello una fuerte disminución (Desmons *et al.*, 1984).

Por consiguiente, la composición del complejo enzimático varía según el origen, es decir, según el microorganismo del cual proviene (*Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger*, ...). Actualmente se están haciendo esfuerzos en esta esfera, sobre todo a nivel de la selección de las cepas más importantes, ya que la producción de la celulasa representa una parte importante del precio de costo del procedimiento.

Nuestro laboratorio ha perfeccionado las diferentes técnicas que permiten separar y estudiar los constituyentes de las actividades enzimáticas. Estas técnicas constituyen un arma muy valiosa para la investigación de un complejo enzimático óptimo.

Otro elemento importante del proceso de hidrólisis enzimática es la inhibición de las enzimas celulolíticas por los productos de su reacción. Esto es válido, particularmente para la celobiosas que, cuando se acumula, bloquea la actividad de las glucanasas. La concentración de glucosa en el medio es también limitante.

PRETRATAMIENTOS DE LOS SUSTRATOS LIGNO CELULOSICOS

Ya sea en el caso de la hidrólisis ácida, o de la hidrólisis enzimática de la celulosa, la estructura y la composición de los sustratos celulósicos influyen sobre la eficacia óptima de los procedimientos. El contenido de lignina y la cristalinidad de la celulosa son, entre otros, los obstáculos más frecuentes.

El contenido de lignina es un factor importante para numerosos sustratos: madera, periódicos viejos, paja, etcétera. La lignina, por su asociación estrecha con los hidratos de carbono, disminuye la accesibilidad de los agentes hidrolíticos de la celulosa. Desde este punto de vista, el problema es más importante para el ataque enzimático que para el ataque ácido. Las enzimas son moléculas grandes de peso molecular superior a 10 000, y por tanto poseen un gran volumen molecular.

En el caso de la hidrólisis ácida, el agente responsable de la hidrólisis es un ion muy pequeño, que puede difundirse con mayor facilidad en la estructura fibrosa.

Tecnológicamente, el obstáculo "lignina" no es insuperable, por dos razones al menos:

1. Los tratamientos de deslignificación se conocen hace mucho tiempo, sobre todo en la industria papelera.
2. El tratamiento puede reducirse al máximo, pues la disociación de la estructura lignina-hidrato de carbono es más importante que el contenido de lignina en sí. Resulta entonces posible hidrolizar los sustratos ligno-celulósicos sin degradar mucho la lignina.

El tratamiento con vapor (temperatura inicial superior a 180°C durante 5-20 minutos) basta para facilitar el ataque de la celulosa para las materias ligno-celulósicas que no tienen un contenido muy elevado de lignina.

Un tratamiento con cal permite disociar también el conjunto de celulosa-lignina (ver ejemplos). En el marco de un programa de la Comunidad Económica Europea, se elaboró un proceso de tratamiento con cal en nuestro laboratorio que permite alcanzar 60 por ciento de hidrólisis enzimática.

La cristalinidad de la celulosa es otro factor que limita la rapidez de la hidrólisis. Este problema lo tratamos para la hidrólisis ácida en el epígrafe referente a la *Hidrólisis ácida de la celulosa*. Las cinéticas de la hidrólisis ácida dependen en mucho de ello.

Para vencer el obstáculo que se presenta por la cristalinidad del sustrato, es necesario recurrir a temperaturas y concentraciones de ácidos importantes.

Para una hidrólisis de papel kraft, por ejemplo, la cantidad máxima de glucosa que se puede obtener a 210°C con 0,5 por ciento de ácido sulfúrico es de 30 por ciento. A 300°C y 2 por ciento de ácido, esta cantidad se eleva a 88 por ciento, pero ya aquí estamos en presencia de condiciones muy severas. Los estudios cinéticos de la hidrólisis ácida demuestran que no es posible hidrolizar la celulosa cristalina por debajo de 130°C con bajos porcentajes de ácido, sin degradar la glucosa que se obtiene de la celulosa amorfa.

La cristalinidad es un obstáculo para la hidrólisis enzimática en ciertas condiciones. Sin embargo, con un compuesto enzimático relativamente bien equilibrado, pero no optimizado, hemos demostrado que era posible hidrolizar la totalidad de la celulosa de una pasta Kraft.

En nuestra opinión, los pretratamientos con vista a reducir la cristalinidad de la celulosa no son siempre primordiales en el caso de un proceso de hidrólisis enzimática. Es posible, por lo tanto, evitar pre-tratamientos costosos por la mucha energía que requieren, como por ejemplo, la trituration en seco.

Además de los pretratamientos que tienden a modificar la cristalinidad de la celulosa y las relaciones celulosa-lignina, pueden aplicarse otras técnicas para aumentar la accesibilidad del sustrato para el agente de la hidrólisis. Estas técnicas se refieren más bien a la hidrólisis enzimática (a causa de la dimensión de las enzimas).

La refinación, tratamiento mecánico en papelería por la vía húmeda (Thonart *et al.*, 1979) y la trituration húmeda con diversos elementos abrasivos (Kelsey y Shafizadek, 1980) tales como las bolas de vidrio, de arena o de acero, permiten obtener resultados muy convincentes en breves lapsos de acción. La utilización de agentes para el aumento de volumen de la celulosa (NH_4OH , etilenediamina) o de solubilización (etilenediamina, cadoxeno) y de reprecipitación conducen igualmente a efectos espectaculares.

El procedimiento Organosolv permite, por el contrario, disolver a temperaturas elevadas las hemicelulosas y la lignina, gracias a solventes orgánicos o mezclas de solventes y agua. La lignina se obtiene en forma de polvo prácticamente desprovista de hidratos de carbono después de la precipitación y evaporación del solvente (Agustin y Puls, 1982).

Otros pretratamientos del sustrato de lignocelulosa tienen por objetivo eliminar ciertas impurezas o cargas que pueden entorpecer el proceso de hidrólisis o la utilización posterior del hidrolizado.

La utilización de un tamiz vibratorio húmedo nos permitió eliminar una parte importante de las cargas minerales contenidas en los desechos de papeles (ejemplo que se expone más adelante).

Los desechos domésticos clasificados por el método Flakt pudieron purificarse y enriquecerse en fibras mediante el desfibrado húmedo y el paso por las rejillas.

ASPECTOS ECONOMICOS Y MERCADOS

Resulta difícil hacer actualmente un balance económico preciso de la sacarificación de la celulosa, en la medida en que no existe ninguna unidad industrial, y sobre todo en la medida en que el mercado del azúcar es un mercado particular. Además, se esperan grandes progresos en un futuro próximo, sobre todo en cuanto al precio de producción del complejo enzimático y a la valoración química de la lignina, principal residuo de la hidrólisis.

Sin embargo, las posibilidades de una nueva explotación de los desechos de celulosa no son remotas, pues hay grandes compañías petroleras que se interesan en ello y en sus miras no está por supuesto el querer hacer la competencia al petróleo para la producción de productos químicos básicos, sino con vista a ciertos productos químicos especiales. Destaquemos entre estos productos ciertos ácidos orgánicos, aminoácidos, enzimas, aditivos alimentarios, butanol, acetona, xilitol, etcétera. En Estados Unidos se ha establecido un procedimiento para la producción de vainillina a partir de residuos de la fabricación de pastas de papel. Esta experiencia debería extenderse a otros desechos de lignina o celulosa.

La mayoría de los estudios económicos que se han realizado, han evaluado la producción de etanol, que no es, en modo alguno, el producto más rentable. Los resultados económicos son contradictorios.

Por ejemplo, algunos autores (Cysewski y Wilke, 1976), están en contra de la hidrólisis enzimática de la celulosa para producir etanol, mientras que otros (Emert y Katzen, 1980) son mucho más optimistas (método de Gulf).

En cuanto a la comparación de los métodos por ácidos y enzimas, ésta sólo puede realizarse por el tipo de sustratos y tipo de productos, lo que todavía no se ha realizado.

EJEMPLOS

Nuestro Departamento se ha interesado en los problemas de la hidrólisis de la celulosa desde hace varios años. Para este fin, ha recibido la colaboración de la Región Valona de la Comunidad Europea, y de firmas privadas principalmente. Esta ayuda nos ha permitido estudiar numerosos sustratos, a continuación presentamos los siguientes ejemplos.

Hidrólisis enzimática de la paja (Paquot *et al.*, 1983)

La paja en bruto es un sustrato prácticamente inatacable por vía enzimática. Se han aplicado y comparado numerosos pretratamientos.

Un tratamiento mediante cal y soda nos permitió alcanzar rendimientos de hidrólisis de un orden del 40 por ciento con respecto a la materia bruta inicial. Cuando se tritura o refina esta pasta (con ayuda del equipo Sprot Waldron), los rendimientos de la hidrólisis se elevan al 60 por ciento.

Se obtuvieron resultados análogos con tallos de maíz.

Hidrólisis enzimática de papel viejo (Thonart *et al.*, 1979)

Sin efectuar ningún pretratamiento es posible hidrolizar, por vía enzimática, el 37 por ciento de los recortes de periódicos y el 45 por ciento de papeles viejos mezclados a los que no se les ha quitado la tinta.

Hidrólisis enzimática de pastas químicas (Thonart *et al.*, 1979; Tshiamala *et al.*, 1980; Paquot *et al.*, 1981)

Mediante un tratamiento de refinado muy breve, se pudo hidrolizar 80 por ciento de una pasta química de resinas en presencia de celulasa de *Trichoderma reesei*. La hidrólisis se completó con la pasta de hojas. Cuando el complejo enzimático se enriqueció en β -glucosidasa (*Aspergillus niger*), la pasta de resinas se hidrolizó también en su totalidad.

Hidrólisis enzimática de la celulosa regenerada (Paquot y Thonart, 1982)

La hidrólisis enzimática se efectúa totalmente en la celulosa después de haber realizado la disolución y la reprecipitación. La cinética de hidrólisis es mucho más rápida que en el caso de la celulosa nativa.

Hidrólisis ácida y enzimática de las pastas de papel (Paquot y Herman, 1983)

Las pastas de papel estudiadas (Wiggins Teape S.A., Bélgica) presentan un alto contenido de cargas minerales. Alrededor de un 50 por ciento de las pastas está constituido por cargas minerales y el 50 por ciento restante por fibras de celulosa. En el transcurso de una hidrólisis ácida, aparecen numerosos problemas vinculados a este alto contenido de cargas minerales: consumo de ácido a través de las cargas y alto contenido en metales pesados durante el hidrolizado.

Estos problemas tienen repercusiones sobre los rendimientos de la hidrólisis, así como sobre los rendimientos de la fermentación.

Después de haber pasado las pastas a través de un tamiz vibrante de tipo Sweco (por vía húmeda, tamiz de 200 mesh), el contenido de fibras puede elevarse al 92 por ciento. Los rendimientos de la hidrólisis (en comparación con la celulosa) se duplican prácticamente, mientras que el rendimiento etanólico se triplica. Sin embargo, este rendimiento sólo alcanza el 44 por ciento del rendimiento teórico.

En lo que se refiere a la hidrólisis enzimática, el problema de las cargas es menor, aun cuando el problema subsiste. La dificultad esencial está vinculada a la contaminación de la pasta por la acción de diferentes microorganismos, se hace necesaria la esterilización por calentamiento. Por el contrario, los rendimientos de la hidrólisis son muy altos (84 por ciento) al igual que los rendimientos etanólicos (86 por ciento) en comparación con el rendimiento máximo calculado según el contenido en glucosa.

Hidrólisis enzimática de la pulpa de bambú (Tshiamala, T. *et al.*, 1984a; Tshiamala, T. *et al.*, 1984b).

Diferentes pulpas de bambú (pulpa con cal, con sulfato, con sulfito neutro y termomecánico), se hidrolizan con ayuda de las celulasas de *Trichoderma reesei*, se complementan con la celobiasa de *Aspergillus niger* (0,2 U.I./ml de celulasa y 6 U.I./ml de celobiasa). Se han estudiado la influencia del refinado del papel y el modo de cocción sobre los rendimientos de la hidrólisis enzimática. El refinado, por su acción de fibrilación y de hidratación, provoca un aumento del rendimiento de la hidrólisis, sobre todo en tiempos cortos de tratamiento. La cocción con sulfato y con sulfito neutro engendran un sustrato muy deslignificado, rico en α -celulosa y manifiestan una gran accesibilidad a la enzima. Las pulpas que se derivan de procedimientos con cal y termomecánicos no se prestan al ataque enzimático por su estructura y composición.

Después de 72 horas de incubación, la pulpa con sulfato da rendimiento de azúcar de 82 por ciento contra 56 por ciento de la pulpa con sulfito neutro. La pulpa con cal y la termomecánica se hidrolizan a 18 por ciento y a 24 por ciento respectivamente.

El procedimiento que utilizó sulfito neutro para la producción de azúcares resultó ser el más rentable si se tienen en cuenta los rendimientos de la cocción.

HIDROLISIS ACIDA E HIDROLISIS ENZIMATICA: TECNOLOGIAS COMPLEMENTARIAS (Paquot *et al.*, 1984a; Paquot *et al.*, 1984b)

La hidrólisis ácida y la hidrólisis enzimática de la celulosa ofrecen ventajas e inconvenientes propios.

Las dificultades relacionadas con la hidrólisis ácida provienen principalmente:

- de la cristalinidad de la celulosa, que disminuye la cinética de la hidrólisis de gran manera;
- del porcentaje de la hidrólisis que es posible alcanzar (porcentaje que se limita frecuentemente al 50 o al 60 por ciento);
- de la formación rápida de furfural a partir de pentosas;
- de la formación de hidroximetil furfural, que dificulta la fermentación posterior;
- de la presencia de impurezas, que implican igualmente la aparición de compuestos tóxicos para la fermentación.

Las dificultades relacionadas con la hidrólisis enzimática provienen, sobre todo, de:

- la producción de enzimas;
- la concentración en sustrato;
- las relaciones lignina-carbohidratos;
- la cinética de la hidrólisis;
- los riesgos de contaminación microbiana;
- la inhibición del complejo enzimático por los productos de la hidrólisis.

Por consiguiente, no hablaremos de competitividad entre las dos técnicas. La selección del sustrato y del o de los compuestos que se quieren producir, determinará la tecnología más apropiada. Por el contrario, creemos que en numerosos casos se complementan.

Nuestros argumentos principales tienen como base el hecho de que hemos demostrado que:

1. La hidrólisis ácida podía constituir un pretratamiento relacionado con la hidrólisis enzimática (figura 6).

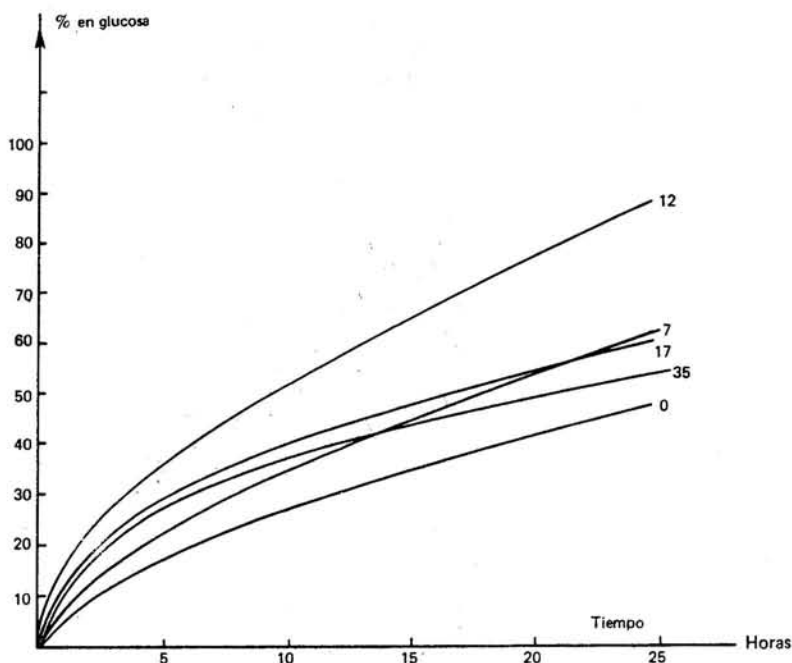


Fig. 6. Hidrólisis enzimática de una pasta química de hojas, que sufrió un pretratamiento con ácido.

0 = Indicador

7 = Hidrólisis enzimática después del 7 por ciento de hidrólisis por vía ácida

12 = Hidrólisis enzimática después del 12 por ciento de hidrólisis por vía ácida

17 = Hidrólisis enzimática después del 17 por ciento de hidrólisis por vía ácida

35 = Hidrólisis enzimática después del 35 por ciento de hidrólisis por vía ácida

2. El residuo de la hidrólisis enzimática era muy sensible al ataque ácido (Thonart *et al.*, 1983) (figura 7).

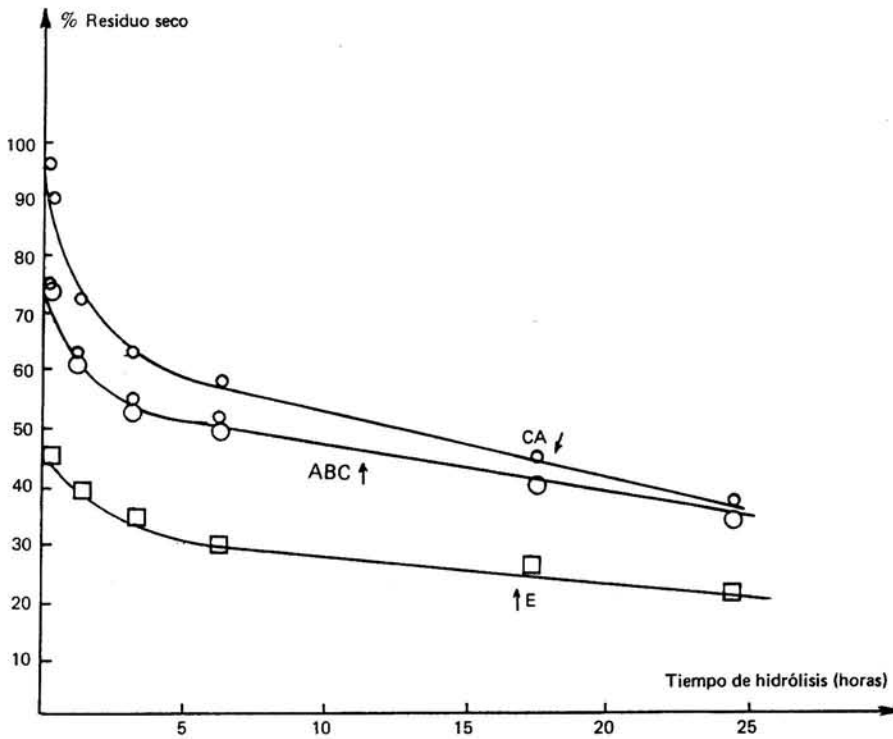


FIG. 7. Comportamiento durante la hidrólisis ácida de los residuos de la hidrólisis enzimática de la celulosa.
 CA=Pasta desfibrada (indicador)
 A =Residuo después del 18,1 por ciento de hidrólisis.
 B =Residuo después del 38,2 por ciento de hidrólisis.
 C =Residuo después del 56,3 por ciento de hidrólisis.
 E =Residuo después del 94,4 por ciento de hidrólisis.

Por consiguiente, entre los diferentes métodos de valoración química de los sustratos de celulosa por ácidos o enzimas, nos podemos proponer un modelo que combine estas dos tecnologías (figura 8).

El medio azucarado obtenido puede fermentarse a través de las células de levaduras inmovilizadas en un reactor continuo (Thonart *et al.*, 1982). Al utilizar la técnica de medida del potencial zeta hemos demostrado que es posible utilizar numerosos tipos de soportes y optimizar la tasa de fijación de las células (Patente belga 206.301, 1981).

Un reactor de células inmovilizadas funcionó (Michaux *et al.*, 1983) ininterrumpidamente durante 30 días, produciendo 1,0 a 2,0 g de etanol/hora/gramo de soporte (a partir de una solución de glucosa al 10 por ciento).

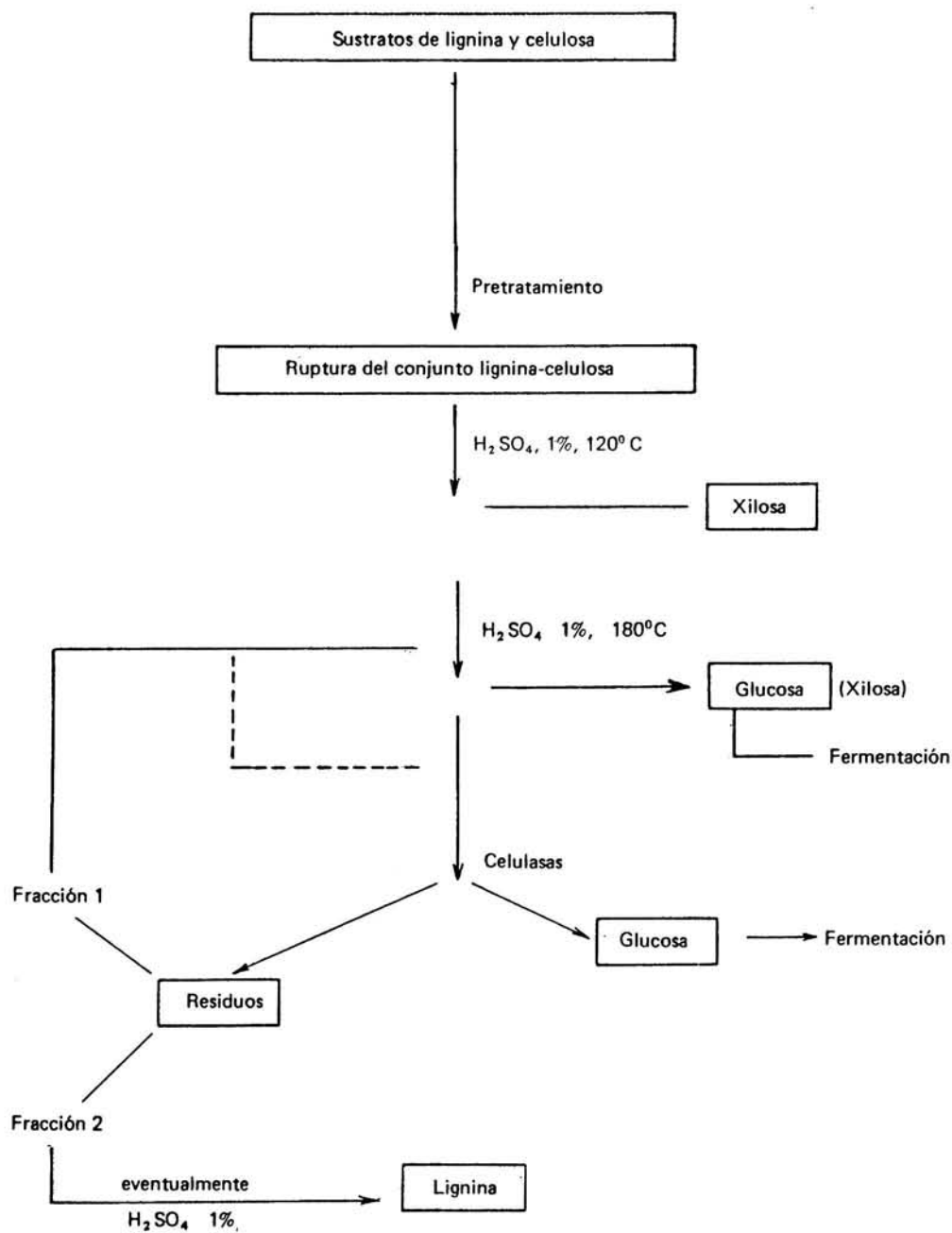


FIG. 8. Esquema de utilización de la hidrólisis ácida y la enzimática como complemento.

Nota: Los residuos de la hidrólisis se dividen en dos partes. La fracción 1 es reciclada. Su proporción respecto a la fracción 2 depende del tipo de sustrato de lignina-celulosa y del complejo enzimático.

CONCLUSION

La biomasa puede suministrar una fuente potencial de productos químicos y principalmente una fuente de azúcares fermentables para las industrias biotecnológicas.

Además, el desarrollo de la biotecnología permitirá la bioconversión de las moléculas químicas extraídas de la biomasa en productos de un valor adicional elevado. Primeramente analizamos las ventajas y las desventajas de la hidrólisis ácida y enzimática de la celulosa, y proponemos un proceso que integre estas dos técnicas mucho más complementarias que competitivas.

REFERENCIAS

- ANONIMO (1979). CI & EN, 19-20.
- AUGUSTIN, H. y J. PULS (1982). *Les perspectives de la production de produits chimiques tirés du bois*. Dans Transformation chimique du bois, supplément 13 au volume XXXIV du "Bulletin du bois pour l'Europe", FAO, avril.
- CYSEWSKI, R. G. y C. R. WILKE (1976). *Utilization of cellulosic materials through enzymatic hydrolysis i. fermentation of hydrolysate to ethanol and single-cell protein*. Biotechnol. Bioeng. 18: 12.
- EMERT, G. H. y R. KATZEN (1980). Chemtech., 610-614, october.
- KELSEY, R. G. y F. SHAFIZADEH (1980). *Enhancement of cellulose accessibility and enzymatic hydrolysis by simultaneous wet milling*. Biotechnol. Bioeng., 22: 1025-1036.
- MOTTET, A.; Ph. THONART y M. PAQUOT (1979). *Hydrolyse enzymatique de la cellulose, une voie de développement possible*. Commercialisation, Technologie et Utilisation du Bois de Peuplier. Centre de Populiculture du Hainaut, comptes rendus du Colloque du 27 avril, 29-38.
- PAQUOT, M.; M. FOUCART; P. DESMONS y Ph. THONART (1983). *Conversion des déchets agricoles et industriels pour l'hydrolyse de la cellulose*. COST - workshop 83/84, Zurich, avril.
- PAQUOT, M.; Ph. THONART; Ph. JACQUEMIN y A. RASSEL (1981). *Evolution de la retention d'eau et de la morphologie de la fibre au cours de l'hydrolyse enzymatique de la cellulose*. Holzforschung, 35: 87-93.
- PAQUOT, M. y Ph. THONART (1982). *Hydrolyse enzymatique de la cellulose régénérée*. Holzforschung, 36: 177-181.
- PAQUOT, M. y L. HERMAN (1983). *Alternatives possibles à la mise en décharge des boues de papeteries. Un exemple: wiggins teape (Belgium) s.a*. Tribune du CEBEDEAU, M. 473, 36: 147-155.
- PAQUOT, M. (1980). *Possibilités de développement de l'utilisation de la cellulose*. Thèse de doctorat, Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux.
- PAQUOT, M.; Ph. THONART; M. FOUCART; P. DESMONS y A. MOTETS (1984a). *Improvement of pretreatments and technologies for enzymatic hydrolysis of cellulose from industrial and agricultural refuse and comparaison with acidic hydrolysis*. Anaerobic digestion and carbohydrate hydrolysis of waste edited by G. L. Ferrero; M. P. Ferranti y H. Naveau. Elsevier Applied Science publishers, 112-124.
- PAQUOT, M.; M. FOUCART; P. DESMONS y Ph. THONART (1984b). *Etude comparative de l'hydrolyse enzymatique et de l'hydrolyse par voie acide de la cellulose. Partie II: morphologie au cours de l'hydrolyse acide*. Holzforschung, 38: 185-190.
- REGNAULT, A. (1981). *L'hydrolyse totale du bois*. Le bois, Matière Première pour l'Industrie Chimique. Comptes rendus du colloque de la Société de Chimie Industrielle Grenoble, 3 - 5 juin (France).
- RYU, D. D. Y. y M. MANDELS (1980). *Celluloses: Biosynthesis and Applications*. Enzyme Microb. Technol. 2: 91-102.
- THONART, Ph.; J. M. MARCOEN; P. DESMONS; M. FOUCART y M. PAQUOT (1983). *Etude comparative de l'hydrolyse enzymatique et de l'hydrolyse par voie acide de la cellulose. Partie I: morphologie du substrat en cours de l'hydrolyse enzymatique*. Holzforschung, 37: 173-178.
- THONART, Ph.; M. PAQUOT y A. MOTTET (1979). *Hydrolyse enzymatique de pâte de papeterie: Influence des traitements mécaniques*. Holzforschung, 33: 197-202.
- THONART, Ph.; M. CUSTINNE y M. PAQUOT (1982). *Zeta potential of yeast cells: application in cell immobilization*. Enzyme Microb. Technol., 4: 191-194.

- THONART, Ph.; M. PAQUOT; M. MICHAUX; B. BAIJOT y C. DEROANNE (1981). *Procédé d'immobilisation de cellules sur un support solide*. Brevet belge déposé le 21.10, n° 206.301.
- TSHIAMALA, T.; Ph. THONART; M. PAQUOT; L. FRAIPONT y A. MOTTET (1984a). *Etude comparative des pâtes de bambou*. *Holzforschung*, 38: 281-288.
- TSHIAMALA, T.; Ph. THONART; M. PAQUOT; L. FRAIPONT y A. MOTTET (1984b). *Hydrolyse enzymatique des pâtes de bambou: Influence des modes de cuisson et des traitements mécaniques*. *Holzforschung*, 38: 343-351.