

Alcohol de biomasa. II. Hidrólisis de las pentosanas de tallos y zuros de maíz, tallos de sorgo dulce, paja de arroz y sarmientos

F. J. García Breijo y E. Primo Yúfera

Departamento de Biotecnología. ETSIA. Universidad Politécnica. Camino de Vera, 14. 46022 Valencia. España

Original recibido 25-02-1987

RESUMEN

Se determinan los productos de la hidrólisis ácida suave en distintas condiciones, de los siguientes materiales: tallos y zuros de maíz Funk's, var. G-5050 y de maíz sacarino, var. E-41, tallos de sorgo dulce, var. Wray, paja de arroz, var. Bahía y sarmientos de vid, var. Bobal. En todas las experiencias se han mantenido constantes el tamaño de partícula (25 mallas), la relación sólido/líquido (1/10) y la temperatura (ebullición a reflujo), mientras que la concentración de ácido sulfúrico se ha variado del 2 al 9 % y el tiempo de 1 a 4 horas. Los resultados obtenidos permiten seleccionar las condiciones más adecuadas para conseguir una elevada hidrólisis de pentosanas con mínima degradación a furfural. Entre los materiales estudiados destacan los zuros de maíz de ambas variedades, con rendimientos en la hidrólisis cercanos al 80 % de sus pentosanas (aprox. 200 kg/ton en los de maíz sacarino y 230 kg/ton en los de maíz Funk's) y con degradaciones a furfural no muy elevadas (inferiores al 25 % de las pentosanas hidrolizadas).

Alcohol from biomass. II. Hydrolysis of pentosanes in stalks and cobs of corn, stalks of sweet sorghum, rice straw and vine shoots

ABSTRACT

Conditions and products of slight acid hydrolysis with diluted sulfuric acid have been studied on different agricultural materials (stalks and cobs of Funk's corn, var. G-5050; stalks and cobs of sacarine corn, var. E-41; stalks of sweet sorghum, var. Wray; rice straw, var. Bahía; and vine shoots, var. Bobal). Different conditions of hydrolysis (keeping temperature at boiling; solid to liquid ratio, 1/10; and particular size, 25 mesh, and varying time between 1 and 4 hours and acid concentration between 2 and 9 %) have been tested. Results allow the selection of the most adequate conditions for each raw material, according to the highest pentoses extraction, and the lowest degradation. Best results were obtained with both varieties of corn cobs with hydrolysis yields toward the 80 % of their pentosanes (about 200 kg/ton in sacarine corn and about 230 kg/ton in Funk's corn) and with not very high degradation to furfural (lower than 25 % of hydrolyzed pentoses).

1. INTRODUCCION

Como ya se indicó en la primera comunicación de esta serie (García y Primo, 1986), se está desarrollando en este Departamento un estudio sobre el aprovechamiento integral del potencial hidrocarbonado de algunos residuos agrícolas y del sorgo dulce (cosecha agroenergética). Los materiales incluidos en este estudio se clasifican en dos grupos: el *azucarado*, constituido por tallos de distintas variedades de maíz y de sorgo dulce, y el grupo *pentosánico-celulósico*, formado por zuros de dos variedades de maíz, paja de arroz Bahía y sarmientos de vid Bobal. El estudio se desarrolla en tres etapas: a) extracción acuosa de los azúcares de los materiales del grupo *azucarado*, b) prehidrólisis de las hemicelulosas de los materiales de los dos grupos, y c) hidrólisis del residuo lignocelulósico. Los resultados obtenidos en la primera etapa del estudio se expusieron en la comunicación ya citada. En esta se da cuenta de los resultados obtenidos en la segunda etapa del estudio, correspondiente a la prehidrólisis de las hemicelulosas.

Las hemicelulosas son polisacáridos de las paredes celulares que están asociados a la celulosa en los tejidos lignificados. Están formadas, fundamentalmente, por pentosas y, en menor grado, por hexosas, ácidos urónicos, y otros azúcares menos abundantes. Son cadenas cortas y ramificadas, fácilmente hidrolizables.

Algunas hemicelulosas son fácilmente extraíbles con agua caliente y todas ellas se disuelven en soluciones alcalinas. Su solubilidad y susceptibilidad a la hidró-

lisis ácida (Cahela *et al.*, 1983; Fanta *et al.*, 1984; Gong *et al.*, 1981 a; Harwath *et al.*, 1982; Saddler *et al.*, 1983) es consecuencia de su estructura amorfa y de su bajo peso molecular, y varía según su grado de polimerización y su asociación a la celulosa.

La hidrólisis suave previa de las hemicelulosas (pentosanas, fundamentalmente) es doblemente interesante, puesto que, además de suministrar productos aprovechables (xilosa, furfural y sus derivados, etc.), el residuo lignocelulósico queda en mejores condiciones que la materia original para los tratamientos posteriores. En efecto, si se pretende obtener celulosa, la cantidad de reactivos necesaria es menor y la producción unitaria de los reactores aumenta, al ser la carga introducida más rica en aquella; y si el paso siguiente es una sacarificación total, que sigue procesos a base de sulfúrico concentrado, es conveniente el tratamiento inicial de hidrólisis suave.

La xilosa, principal producto procedente de la hidrólisis suave de las pentosanas, puede dar una gran variedad de derivados. La fermentación por bacterias *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus polymyxa* y *Aerobacter indologenes*, produce etanol, 2,3-butanodiol y una mezcla de ácidos. Las levaduras *Candida*, y en particular la cepa XF 217, producen etanol a partir de xilosa (Gong *et al.*, 1981 b). Asimismo, la *Pachysolen tannophilus*, está suscitando un gran interés (Detroy *et al.*, 1982; Fanta *et al.*, 1984; Maleszka *et al.*, 1981; Maleszka y Schneider, 1982; Neirinck *et al.*, 1982; Schneider *et al.*, 1981; Schneider *et al.*, 1983; Slininger, 1982; Slininger *et al.*, 1982). Maleszka *et al.* (1981) han conse-

guido producciones del 78 % del etanol teórico a partir de xilosa con esta levadura. También pueden obtenerse, por fermentación de la xilosa, acetona, ácido acético y butanol, todos ellos susceptibles de transformación en un gran número de otros productos químicos.

La xilosa puede reducirse a xilitol, un atractivo pero todavía poco estudiado agente edulcorante, humectante e intermediario para síntesis. Puede oxidarse y dar ácidos trioxiglutarico y xilónico, que son útiles como secuestradores y acidulantes para alimentos. Su deshidratación por calentamiento en solución ácida produce furfural. Este compuesto también se obtiene como subproducto en los procesos de hidrólisis de los materiales hemicelulósicos y, a partir del mismo, se obtienen gran número de sustancias, como plásticos, disolventes, etc.

En este trabajo se ha realizado la hidrólisis con diversas concentraciones de ácido sulfúrico (hasta el 9 %), operando a presión atmosférica (ebullición a reflujo), con tiempos de tratamiento diferentes, de hasta cuatro horas. Se sigue el proceso de extracción de las pentosas por determinación analítica, tanto de las pentosas residuales como de las existentes en el hidrolizado, con lo que se tiene una doble inspección de los resultados. Se analiza, además, la cantidad de furfural presente en el líquido de hidrólisis y los reductores totales; esta última valoración da, por comparación con las pentosas extraídas, un valor indicativo de las hexosas originadas en el tratamiento. Se estudia también el efecto del tratamiento sobre la celulosa, analizando los azúcares potenciales fermentables en el residuo lignocelulósico. Por último, se determinan los ren-

dimientos de la fermentación alcohólica de los caldos obtenidos.

Se obtiene así amplia información que puede utilizarse como base para la elección de las condiciones del proceso de prehidrólisis más adecuadas para cada una de las distintas aplicaciones que pueden darse a dicho proceso, especialmente la máxima hidrólisis de pentosas con mínima degradación de las mismas a furfural.

2. MATERIAL Y METODOS

2.1. Materiales

El estudio del proceso de prehidrólisis se ha llevado a cabo con tallos de maíz sacarino var. E-41, maíz Funk's var. G-5050 y sorgo dulce var. Wray (materiales clasificados en el grupo que hemos denominado *azucarado*), así como con zuros de dichas variedades de maíz, paja de arroz Bahía y sarmientos de vid Bobal (estos otros del grupo *pentosánico-celulósico*). Las características y procedencias de las variedades de maíz y sorgo dulce empleadas se especificaron en el primer trabajo de esta serie (García y Primo, 1986).

Estos materiales se secaron al aire durante un mes, extendidos sobre piso de cemento, y antes de someterlos al proceso de prehidrólisis se molieron a 25 mallas (EE.UU. Standar, ASTM-E-II-61) y se determinó en ellos el contenido de humedad para referir los resultados respecto a materia seca inicial (r.m.s.i.).

2.2. Métodos de análisis

Para la determinación de los azúcares reductores, reductores totales, azúcares fermentables, pentosas y pentosas, se han empleado los mismos métodos de análisis que se utilizaron en la primera etapa del trabajo (García y Primo, 1986).

La determinación del hidroximetilfurfural (HMF) se realizó por el método 12 de la IFFJP Analyzers (International Federation of Fruit Juice Producers, 1972), basado en la reacción del HMF con el ácido barbitúrico y la p-toluidina. El furfural se determinó según el método 43.021 de la AOAC (AOAC, 1965). Para la determinación de los azúcares potenciales fermentables en residuos lignocelulósicos hemos seleccionado el método de Dunning y Dallas (1949).

2.3. Proceso de prehidrólisis

Se introducen porciones de 500 g de muestra molida a 25 mallas (EE.UU.-Standar, ASTM-E-II-61), en matraces esféricos de 10 litros. Se adiciona ácido sulfúrico, a concentraciones seriadas (2, 4, 6 y 9 %), en una relación 1/10 (peso de muestra/volumen de ácido diluido), y se calienta a reflujo, durante el tiempo prefijado. Transcurrido el tiempo de prehidrólisis se enfrían los caldos, se filtran a vacío suave y se lava el residuo con poca agua; el filtrado se neutraliza con cal, se filtra, se afora y se guarda en frío hasta su análisis. El residuo se seca, se pesa y en él se determina el contenido en pentosanas residuales y los reductores potenciales.

Otra serie de ensayos se realizan con concentraciones fijas de ácido y variando el tiempo de prehidrólisis (1, 2, 3 ó 4 horas).

2.4. Determinaciones efectuadas en los caldos y residuos de la prehidrólisis

a) *Determinaciones en los caldos.*—Por el método de destilación se determinan, conjuntamente, las pentosas y el furfural libre procedente de la transformación parcial de aquéllas, por los ácidos en caliente. La determinación de *furfural libre* permite conocer, por diferencia, las *pentosas reales en el extracto*.

Como *reductores totales* se valoran todas

las sustancias reductoras presentes que, fundamentalmente son: pentosas, hexosas, furfural e HMF. La fermentación selectiva por *S. cerevisiae* de los caldos permite conocer la cantidad de *reductores no fermentables en el extracto* y, por diferencia entre los totales y los no fermentables, se obtiene el valor de los *azúcares fermentables en el extracto*, que equivale a la cantidad de hexosas hidrolizadas, bien de las hemicelulosas o procedentes de una hidrólisis parcial de la celulosa.

La determinación del *HMF libre en el extracto* es un índice de la cantidad de hexosas destruidas durante el proceso.

Por diferencia entre los valores de reductores totales en el extracto y la suma del furfural libre y del HMF en el extracto, se obtiene la cantidad de *azúcares totales en el extracto*. Restando de los reductores no fermentables en el extracto da la cantidad de *azúcares no fermentables en el extracto*.

b) *Determinaciones en los residuos de la prehidrólisis.*—Las *pentosanas en el residuo de la prehidrólisis* representan las pentosanas sin hidrolizar y las pentosas íntimamente unidas a la lignocelulosa. La diferencia entre las *pentosanas en el residuo de la extracción acuosa* (García y Primo, 1986) y este valor, proporciona la cantidad de *pentosas hidrolizadas*, valor siempre superior al encontrado de *pentosas reales en el extracto* como consecuencia de la transformación a furfural producida por los ácidos en caliente. La diferencia entre pentosas hidrolizadas y pentosas reales en el extracto indica el valor del *furfural total producido*. Este valor es casi siempre superior al de furfural libre en el extracto, lo que se debe al furfural evaporado que podría recuperarse en un proceso industrial. La suma de éste y el presente en los caldos es igual al total de pentosanas hidrolizadas transformadas (diferencia entre las pentosanas hidrolizadas y las pentosas reales obtenidas) cuando todos los valores se dan en xilosa.

En los residuos también se determinan los *reductores potenciales* por sacarificación total con ácido sulfúrico al 72 % (Dunning y Dallas, 1949); estos son un índice de la cantidad de celulosa presente en el residuo y de las pentosanas residuales y comprenden, tanto las hexosas potenciales, como las pentosas que aún quedan en el residuo.

Los *sólidos totales extraídos* se calculan por diferencia entre el residuo seco de la extracción acuosa y el residuo seco de la prehidrólisis. La diferencia entre éstos y los "reductores totales" da los *compuestos no reductores extraídos*.

2.5. Criterios de selección

Al objeto de encontrar las mejores condiciones de tratamiento para cada material estudiado, se establecen cuatro criterios de selección: a) la relación entre las pentosas reales en el extracto y las pentosas hidrolizadas; b) la relación entre los azúcares no fermentables y los azúcares totales; c) la relación entre los azúcares fermentables (hexosas) y éstas más el HMF; y d) el porcentaje de pentosas hidrolizadas. Para los tres primeros criterios, la relación óptima es el valor 1, mientras que para el cuarto, el óptimo es el 100 %. Se elegirán como mejores condiciones para cada residuo aquellas que hidrolicen mayor número de pentosas y a la vez degraden menos pentosas a furfural.

2.6. Rendimiento en la fermentación de los caldos

La determinación de los rendimientos en la fermentación alcohólica de los caldos de prehidrólisis se realiza utilizando las cepas y procedimientos expuestos en el trabajo anterior (García y Primo, 1986).

3. RESULTADOS

A continuación se exponen los resul-

tados obtenidos en los tratamientos de prehidrólisis de los dos grupos de materiales considerados en este trabajo. Primero, los correspondientes al grupo que hemos denominado *azucarado* (tallos de maíz Sacarino, maíz Funk's y sorgo dulce) y después los del grupo *pentosánico-celulósico* (zuros de maíz Sacarino y de maíz Funk's, paja de arroz y sarmiento de vid). Todos los resultados se expresan en % respecto a materia seca inicial (r.m.s.i.).

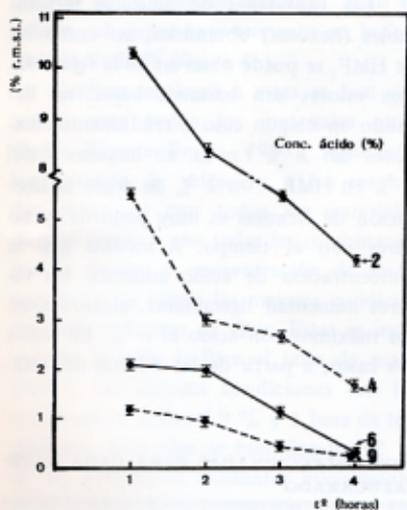
3.1. Grupo "azucarado"

Dentro de este grupo, destacan por sus rendimientos en pentosas hidrolizadas los tallos de maíz Funk's. En las figuras 1 a 4 se representan los resultados obtenidos con este residuo en todas las condiciones de prehidrólisis ensayadas.

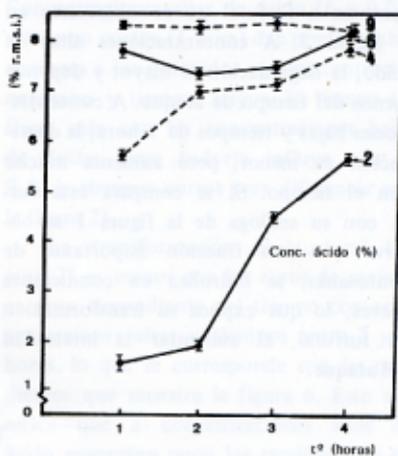
Las cantidades de pentosas que permanecen en el residuo tras la prehidrólisis dependen mucho de la concentración de ácido; el tiempo influye más con las concentraciones bajas (figura 1). Con el 9 % de ácido y 4 horas de tratamiento sólo un 0.3 % de las pentosas iniciales permanece sin hidrolizar.

Los datos de pentosas reales en el caldo se representan en la figura 2. A la concentración más alta de ácido, no aumentan con el tiempo de ataque, debido a la producción de furfural y el mayor rendimiento se obtiene a concentración alta y tiempo corto. Puede observarse que, con concentraciones altas de ácido, el aumento de la extracción (figura 1) no se traduce en aumento del rendimiento en pentosas (figura 2).

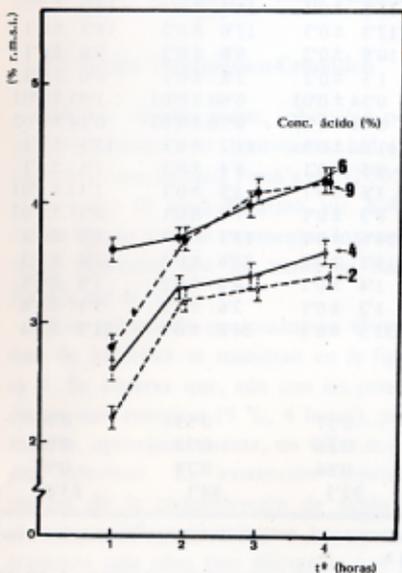
La progresiva degradación de las



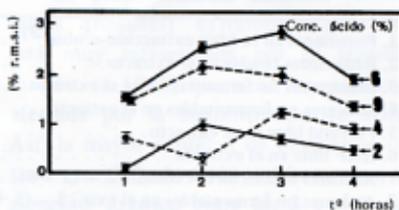
1. Pentosanas en el residuo de la prehidrólisis.



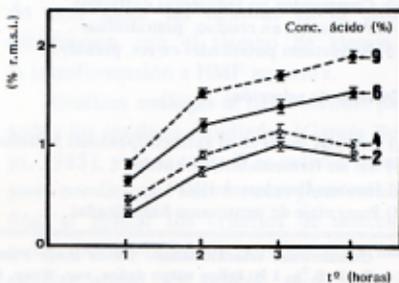
2. Pentosas reales en el extracto.



3. Furfural total producido.



4a. Azúcares fermentables en el extracto.



4b. Hidroximetilfurfural libre en el extracto.

Figs. 1 a 4.-Resultados de la prehidrólisis de tallos de maíz Funk's, var. G-5050, en las distintas condiciones de concentración de ácido (2, 4, 6 y 9 %) y tiempo (1 a 4 horas) ensayadas.

pentosas a furfural puede observarse en la figura 3. A concentraciones altas de ácido, la degradación es mayor y depende menos del tiempo de ataque. A concentraciones bajas y tiempos de 1 hora, la degradación es menor, pero aumenta mucho con el tiempo. Si se compara esta curva con su análoga de la figura 1 se observa que una fracción importante de pentosanas, se hidroliza en condiciones suaves, lo que explica su transformación en furfural, al aumentar la intensidad del ataque.

Las cantidades de azúcares fermentables (hexosas) obtenibles, así como las de HMF, se puede observar en la figura 4a. Los valores son bastante bajos, no llegando en ningún caso a rendimientos mayores del 3 % r.m.s.i. en hexosas y del 2 % en HMF. Con 2 % de ácido la liberación de hexosas es muy pequeña, y no varía con el tiempo. A medida que la concentración de ácido aumenta, los valores aumentan ligeramente, alcanzándose los máximos con ácido al 6 %. En todos los casos, a partir de las 3 horas de trata-

Tabla I

RESULTADOS OBTENIDOS CON LAS CONDICIONES SELECCIONADAS PARA CADA MATERIAL DEL GRUPO "AZUCARADO"

Análisis(2)	Tallos de maíz Funk's(1)	Tallos de maíz sacarino(1)	Tallos de sorgo dulce(1)
1. Pentosanas en residuo extracción acuosa(3)	15'8 ± 0'1	16'1 ± 0'1	14'0 ± 0'7
2. Reductores totales en el extracto	12'3 ± 0'3	12'6 ± 0'2	15'5 ± 0'1
3. Reductores no fermentables en el extracto	10'8 ± 0'2	9'8 ± 0'2	9'6 ± 0'1
4. Azúcares no fermentables en el extracto	1'5 ± 0'2	2'8 ± 0'1	6'0 ± 0'2
5. Furfural libre en el extracto	0'54 ± 0'03	0'60 ± 0'03	1'93 ± 0'03
6. HMF libre en el extracto	0'78 ± 0'03	0'79 ± 0'03	0'14 ± 0'02
7. Azúcares totales en el extracto, 2 - (5 + 6)	11'0 ± 0'3	11'2 ± 0'2	13'5 ± 0'1
8. Azúcares no fermentables en el extr., 3 - (5 + 6)	9'5 ± 0'1	8'4 ± 0'1	7'5 ± 0'1
9. Furfural total producido	3'6 ± 0'1	3'5 ± 0'1	1'33 ± 0'01
10. Pentosas reales en el extracto	8'3 ± 0'1	7'4 ± 0'1	6'57 ± 0'02
11. Pentosas hidrolizadas, (1-14)	14'6 ± 0'1	13'5 ± 0'1	8'9 ± 0'4
12. Sólidos totales extraídos	19'5 ± 0'2	22'6 ± 0'1	17'4 ± 0'3
13. Compuestos no reductores extraídos	1'4 ± 0'2	4'4 ± 0'2	1'5 ± 0'5
14. Pentosanas en residuo prehidrólisis	1'2 ± 0'1	2'6 ± 0'1	5'1 ± 0'4
15. Reductores potenciales en res. prehidr.	32'5 ± 0'3	24'8 ± 0'4	21'3 ± 0'4

Criterios de selección:

a) Pentosas reales en el extracto/pentosas hidroliz	0'57	0'55	0'74
b) Az. no fermentables/az. totales	0'86	0'75	0'56
c) Hexosas(hexosas + HMF)	0'66	0'78	0'98
d) Porcentaje de pentosanas hidrolizadas	92'3	84'1	63'6

(1) Condiciones seleccionadas: Tallos maíz Funk's, var. G-5050, 9 °b, 1 h; tallos maíz Sacarino, var. E-41, 9 °b, 1 h; tallos sorgo dulce, var. Wray, 6 °b, 4 h.

(2) Ver apartado 2.4. Los análisis núms. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 15 se dan como glucosa; los núms. 1, 10, 11 y 14 como xilosa; el 9 como furfural, y el 12 y 13, como sólidos respecto a materia seca inicial. Los valores son media de 6 análisis y se acompañan del intervalo de confianza (a un nivel de significación del 5 %). Se efectúan 2 operaciones de prehidrólisis y 3 determinaciones en cada una.

(3) Ver García y Primo (1986).

miento se produce un descenso. Esto es debido al importante aumento en la formación de HMF (figura 4b).

Gráficas análogas a estas se han obtenido para todos los materiales estudiados (García Breijo, 1985). Aplicando los criterios de selección a los resultados obtenidos con todos los materiales de este grupo y con todas las combinaciones de tiempo y concentración de ácido ensayados, se eligen las mejores condiciones para cada uno de ellos. Estas se indican en la tabla I. Para el tallo de maíz Funk's, las mejores condiciones son las que emplean ácido al 9 % y 1 hora de tratamiento. Con ellas se hidroliza un 92 % de las pentosanas existentes inicialmente en el residuo de la extracción acuosa. Un 40 %, aproximadamente, de las pentosanas iniciales, se obtienen como furfural.

3.2. Grupo "Pentosánico-Celulósico"

Dentro de este grupo, sobresalen por sus rendimientos en pentosanas hidrolizadas los zuros de maíz Funk's, var. G-5050 y los zuros de maíz Sacarino, var. E-41. En las figuras 5 a 8 se representan los resultados obtenidos con los zuros de maíz Funk's, var. G-5050.

Los valores de pentosanas en el residuo de hidrólisis se muestran en la figura 5. Se observa que, aún con las condiciones más enérgicas (9 %, 4 horas), permanece, aproximadamente, un 4 % r.m.s.i. sin hidrolizar. La extracción depende mucho de la concentración de ácido y el tiempo influye también en las concentraciones más altas (ver diferencia con la figura 1).

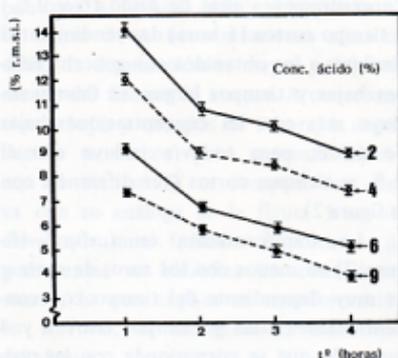
Los resultados de pentosanas reales en el extracto se representan en la figura 6.

Concentraciones altas de ácido (6 y 9 %) y tiempo cortos (1 hora) dan rendimientos similares a los obtenidos con concentraciones bajas y tiempos largos. El tiempo influye más con las concentraciones bajas de ácido, pero todavía influye con el 9 % y tiempos cortos (ver diferencia con la figura 2).

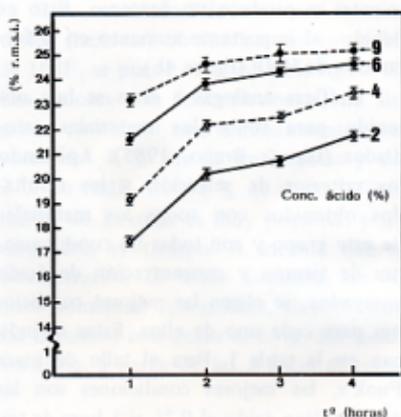
La transformación en furfural (figura 7) es menor con los zuros de maíz y es muy dependiente del tiempo con concentraciones altas y tiempos entre 2 y 4 horas, lo que se corresponde con las pendientes que muestra la figura 6. Esto significa que a concentraciones altas de ácido aumentan poco los rendimientos en xilosa, a partir de las 2 horas, por el aumento en la producción de furfural.

La proporción de azúcares fermentables (hexosas) extraídos (figura 8a) está muy influenciada por su transformación en HMF, que a su vez, está muy afectada por la concentración de ácido. Así, la mayor cantidad de hexosas se obtiene con 2 % de ácido y 4 horas, con un aumento drástico entre las 3 y 4 horas, lo que se corresponde con la horizontalidad de la línea del 2 % en la gráfica 8b. En cambio, con las concentraciones de ácido más altas, las hexosas en el caldo, disminuyen con el tiempo de ataque y la transformación a HMF aumenta.

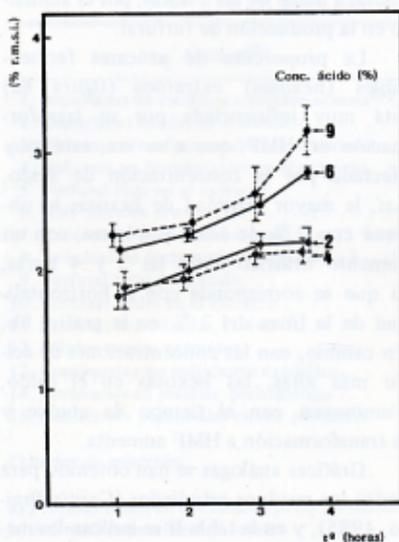
Gráficas análogas se han obtenido para todos los residuos estudiados (García Breijo, 1985), y en la tabla II se indican las mejores condiciones encontradas y sus resultados, al aplicar los criterios de selección a los datos obtenidos con los materiales de este grupo. En general, estos materiales contienen una mayor cantidad de pentosanas en residuo que los del grupo "azucarado".



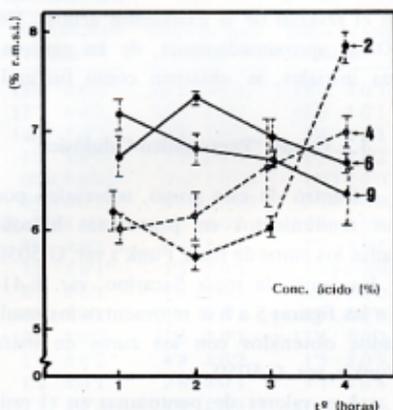
5. Pentosanas en el residuo de prehidrólisis.



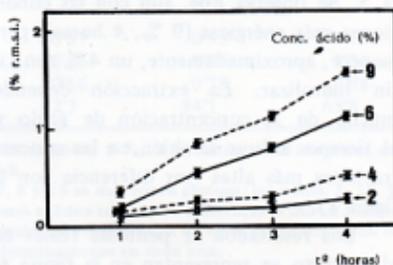
6. Pentosas reales en el extracto.



7. Furfural total producido.



8a. Azúcares fermentables en el extracto.



8b. Hidroximetilfurfural libre en el extracto.

Figs. 5 a 8.—Resultados de la prehidrólisis de zuros de maíz Funk's, var. G-5050 en las distintas condiciones de concentración de ácido (2, 4, 6 y 9 %) y tiempo (1 a 4 horas) ensayadas.

Tabla II

RESULTADOS OBTENIDOS CON LAS CONDICIONES SELECCIONADAS PARA CADA MATERIAL DEL GRUPO "PENTOSÁNICO-CELULÓSICO"

Análisis (2)	Zuros de maíz sacarino (1)	Zuros de maíz Funk's (1)	Paja de arroz var. Bahía (1)	Sarmiento var. Bobal (1)
1. Pentosanas en resid. extr. acuosa (3)	33'3 ± 1'1	34'6 ± 1'6	17'6 ± 0'7	22'9 ± 2'5
2. Reductores totales en el extracto	30'3 ± 0'1	33'2 ± 0'1	19'2 ± 0'5	17'1 ± 1'8
3. Reductores no ferment. en el extracto	22'5 ± 0'1	26'0 ± 0'2	15'5 ± 0'4	10'0 ± 1'0
4. Azúcares fermentables en el extracto	7'8 ± 0'1	7'2 ± 0'2	3'6 ± 0'3	7'1 ± 0'9
5. Furfural libre en el extracto	1'8 ± 0'1	1'93 ± 0'03	1'0 ± 0'1	0'85 ± 0'03
6. HMF libre en el extracto	0'4 ± 0'1	0'36 ± 0'01	1'6 ± 0'4	0'95 ± 0'04
7. Azúcares totales en el ext., 2 - (5 + 6)	28'0 ± 0'2	30'9 ± 0'1	16'6 ± 0'2	15'3 ± 1'0
8. Azúc. no ferm. en el ext., 3 - (5 + 6)	20'0 ± 0'2	23'7 ± 0'2	12'9 ± 0'2	8'2 ± 0'5
9. Furfural total producido	3'8 ± 0'1	2'3 ± 0'1	0'83 ± 0'04	4'1 ± 0'3
10. Pentosas reales en el extracto	19'9 ± 0'1	23'2 ± 0'1	10'4 ± 0'2	7'2 ± 0'5
11. Pentosas hidrolizadas (1-14)	26'6 ± 0'1	27'2 ± 0'1	11'8 ± 0'2	14'5 ± 1'5
12. Sólidos totales extraídos	35'1 ± 0'2	35'3 ± 0'3	27'2 ± 0'6	24'1 ± 1'1
13. Compuestos no reductores extraídos	-	-	7'6 ± 0'2	0'51 ± 0'03
14. Pentosanas en residuo prehidrólisis	6'7 ± 0'1	7'4 ± 0'1	5'8 ± 0'2	8'4 ± 0'5
15. Reductores potenciales en res. prehidr.	43'8 ± 0'1	45'0 ± 0'2	37'0 ± 0'3	35'9 ± 3'6

Criterios de selección:

a) Pentosas reales en el extr./pentosas hidr.	0'75	0'85	0'88	0'50
b) Az. no fermentables/az. totales	0'72	0'77	0'78	0'54
c) Hexosas/(hexosas + HMF)	0'95	0'95	0'69	0'88
d) Porcentaje de pentosanas hidrolizadas	79'8	78'5	67'0	63'3

(1) Condiciones seleccionadas: zuros de maíz Sacarino, var. E-41 y Funk's, var. G-5050, 9 °b, 1 h; paja de arroz, var. Bahía, 9 °b, 3 h; sarmiento var. Bobal, 9 °b, 2 h.

(2) Ver apartado 2.4. Los análisis núms. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 15 se dan como glucosa; los núms. 1, 10, 11 y 14 como xilosa; el 9, como furfural, y el 12 y 13 como sólidos respecto m.s.i. Los valores son media de 6 análisis y se acompañan del intervalo de confianza (a un nivel de significación del 5 %). Se efectuaron 2 operaciones de prehidrólisis y 3 determinaciones en cada una.

(3) Ver García y Primo (1986).

Con los zuros de maíz Funk's y de maíz sacarino, las mejores condiciones encontradas son las que emplean ácido al 9 % y 1 hora de tratamiento. En estas condiciones se hidroliza un 80 % de las pentosanas existentes inicialmente en el residuo de la extracción acuosa. Un 15-25 %, aproximadamente de las pentosanas extraídas se transforma en furfural.

3.3. Fermentación de los caldos de prehidrólisis

En las pruebas de fermentación reali-

zadas sobre los caldos de la prehidrólisis, los rendimientos han sido mucho menores que los obtenidos con los caldos de la extracción acuosa (García y Primo, 1986), debido a la gran abundancia de pentosas y furfural libres en los mismos. Los rendimientos oscilan entre un 40-45 % (sobre hexosas en el caldo) a las 24 horas y apenas superan el 50-55 % a las 48 horas (García Breijó, 1985).

DISCUSION'

El tratamiento de prehidrólisis es muy

interesante en los materiales ricos en pentosanas, ya que, además de permitir la obtención de pentosas y furfural, facilita el posterior ataque a la celulosa. Con ello se producen caldos ricos en xilosa, cuya utilización por vías químicas para la obtención de intermediarios químicos, puede ser más rentable que la fermentación alcohólica.

Los materiales estudiados que más pentosanas contienen son los zuros de maíz (por encima del 30 % r.m.s.i.); los demás contienen entre un 14 % (sorgo dulce) y un 23 % (sarmiento). Las pentosanas presentan diferente resistencia a la hidrólisis en los distintos materiales, y las pentosanas residuales en las condiciones más energéticas ensayadas son un índice de la resistencia de las mismas. En los tallos de maíz de ambas variedades este valor no supera el 4 % de las iniciales. En los zuros son más resistentes y aún permanecen en el residuo cerca del 12 % de las iniciales. En el sorgo dulce y la paja de arroz, las pentosanas son muy resistentes existiendo, aproximadamente, un 30 % de las mismas que resisten las condiciones más energéticas.

Con las condiciones seleccionadas para cada material (ver tablas I y II), los valores de pentosanas que aún permanecen en el residuo son algo mayores. En los tallos de maíz de ambas variedades este valor oscila entre el 8 % (Funk's) y el 16 % (Sarcario) de las iniciales. En los zuros, permanecen aún un 20 % de las iniciales. En el sorgo dulce y la paja de arroz todavía permanecen sin hidrolizar un 33-36 % de las iniciales. Las pentosanas más resistentes se encuentran en el sarmiento, donde con las condiciones seleccionadas aún quedan en el residuo un 40 % de las iniciales sin hidrolizar.

Las condiciones más adecuadas se elegirán, en cada caso, en función de la finalidad del proceso y de la aplicación prevista de los hidrolizados.

Hay una relación entre la heterogeneidad de las fracciones pentosánicas y la transformación a furfural de una parte de las pentosanas hidrolizadas. Comparando las figuras 1, 2, 5 y 6 se observa que en algunos materiales, una parte de las pentosanas se hidroliza con las condiciones más suaves, mientras que el resto necesita de tratamientos más energéticos y con ellos se produce una importante transformación a furfural de las pentosanas ya extraídas; este es el caso de los tallos de maíz y del sarmiento. Las pentosanas de otros residuos se hidrolizan conjuntamente cuando se alcanzan las condiciones necesarias, por lo que la transformación a furfural no es muy elevada. Tal es el caso del sorgo dulce y de la paja de arroz. En estos casos hay una fracción muy resistente que permanece en el residuo tras la prehidrólisis (por encima del 30 % de las iniciales). En los zuros de maíz, una parte de las pentosanas son poco resistentes, extrayéndose fácilmente cerca del 60 % de las mismas con las condiciones suaves. El resto se hidroliza gradualmente, siendo la transformación a furfural del orden del 25 % en las condiciones más drásticas empleadas.

Parte del furfural producido se evapora durante el proceso de prehidrólisis y se puede recuperar condensando los vapores; otra parte queda disuelta en el líquido de prehidrólisis.

Los zuros de maíz, el sarmiento y el sorgo dulce son relativamente ricos en hexosanas fácilmente hidrolizables (por encima del 6 % r.m.s.i.), cuyos azúcares aparecen, junto a las pentosanas, en los

caldos de prehidrólisis. Por esta razón, el aprovechamiento de estas fracciones debería hacerse por una fermentación mixta con *Pachysolen* y levaduras o mediante una fase fermentativa de hexosas y otra de recuperación química de las pentosas. En general, estas hexosas se extraen fácilmente en condiciones suaves, por lo que su mayor o menor transformación en HMF dependerá de las condiciones empleadas para hidrolizar las pentosanas.

A partir de los datos obtenidos sobre los residuos más interesantes, se deduce que, con las mejores condiciones ensayadas, una tonelada de zuros de maíz Funk's, var. G-5050, rendiría unos 230 kg de xilosa, y una tonelada de zuros de maíz Sacarino, var. E-41, permitiría obtener unos 200 kg de xilosa. Esto equivale a decir que la producción por hectárea sería de 1.930 toneladas y de 1.990 toneladas de xilosa, respectivamente, además de obtener cantidades importantes de furfural en ambos casos (190 Tm/Ha y 380 Tm/Ha, respectivamente).

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a los doctores J. L. Blanco, C. López y D. Gómez de Barrera su colaboración en este trabajo al habernos suministrado las materias primas estudiadas en el mismo. Asimismo, agradecemos a la CAICYT y a la Caja de Ahorros de Valencia el haber subvencionado esta investigación.

BIBLIOGRAFIA

AOAC (Association of Official Agricultural Chemists). *Official Methods of Analysis*, W. Herwitz, ed., 10 ed. (1965).

- CAHELA, D. R., LEE, Y. Y. y CHAMBERS, R. P. "Modeling of percolation process in hemicellulose hydrolysis." *Biotechnol. Bioeng.*, 23 (1983), 3-17.
- DETROY, R. W., CUMINGHAN, R. L. y HERMAN, A. J. "Fermentation of wheat straw hemicelluloses to ethanol by *Pachysolen tannophilus*." *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, 12 (1982), 81-90.
- DUNNING, J. W. y DALLAS, D. E. "Analytical procedures for control of saccharification operations." *Anal. Chem.*, 21/6 (1949), 727-729.
- FANTA, G. F., ABBOT, T. P., HERMAN, A. I., BURR, R. C. y DOANE, W. N. "Hydrolysis of wheat straw hemicellulose with trifluoroacetic acid fermentation of xylose with *Pachysolen tannophilus*." *Biotechnol. Bioeng.*, 26/9 (1984), 1.122-1.125.
- GARCÍA BREIJO, F. J. *Obtención de etanol carburante a partir de residuos agrícolas*. Tesis doctoral. Universidad de Valencia (1985).
- GARCÍA BREIJO, F. J. y PRIMO YÚFERA, E. "Alcohol de biomasa. I. Azúcares solubles fermentables en tallos de variedades de maíz y sorgo dulce." *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.*, 26/4 (1986), 571-580.
- GONG, C. S., CHEN, L. F., FLICKINGER, M. C. y TSAO, G. T. "Conversion of hemicellulose carbohydrates." En: *Advances in Biochemical Engineering*. Vol. 20: Biotechnology (Ed. A. Fiechter), cap. 3, págs. 93-118 Springer-Verlag, Berlín, Heidelberg, New York (1981 a).
- GONG, C. S., MCCRACKEN, L. D. y TSAO, G. T. "Direct fermentation of D-xylose to ethanol by a xylose fermenting yeast mutant, *Candida sp* XF 217." *Biotechnol. Lett.*, 3 (1981 b), 245-250.
- HARWATH, J. A., MUTHERASAW, R. y GROSSMANN, E. D. "Pentoses hydrolysis in a concentrated slurry system." *Biotechnol. Bioeng.*, 25 (1982), 19-32.
- I.F.F.P. (International Federation of Fruit Juice Producers). Núm. 12: "Determination of hydroxymethylfurfural (HMF)." (1972).
- MALESZKA, R. y SCHNEIDER, H. "Concurrent production and consumption of ethanol by cultures of *Pachysolen tannophilus* growing on D-xylose." *App. Environ. Microbiol.*, 44/4 (1982), 909-912.

- MALESZKA, R., VELIKY, I. A. y SCHNEIDER, H. "Enhanced rate of ethanol production from D-xylose using recycled or immobilized cells of *Pachysolen tannophilus*." *Biotechnol. Lett.*, 3/8 (1981), 415-420.
- NEIRINCK, L., MALESZKA, R. y SCHNEIDER, H. "Alcohol production from sugar mixtures by *Pachysolen tannophilus*." *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, 12 (1982), 161-170.
- SADDLER, J. N., YU, E.K.C., MES-HARTREE, M., LEVITIN, N. y BRUWELL, H. "Utilization of enzymatically hydrolyzed wood hemicellulose by microorganism for production of liquid fuels." *App. Environ. Microbiol.*, 45/1 (1983), 153-160.
- SCHNEIDER, H., MALESZKA, R., NEIRINCK, L., VELIKY, I. D., WANG, P. Y. y CHAN, Y. K. "Ethanol production from D-xylose and several other carbohydrate by *Pachysolen tannophilus* and other yeast." *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, 27 (1983), 57-71.
- SCHNEIDER, H., WANG, P. Y., CHAN, Y. K. Y MALESZKA, R. "Conversion of D-xylose into ethanol by the yeast *Pachysolen tannophilus*." *Biotechnol. Lett.*, 3 (1981), 89-92.
- SLININGER, P. J. "Continuous conversion of D-xylose to ethanol by immobilized *Pachysolen tannophilus*." *Biotechnol. Bioeng.*, 24 (1982), 2.241-2.252.
- SLININGER, P. J., BOTHAST, R. J., VON CAWENBERGE, J. E. y KURTZMAN, C. P. "Conversion of D-xylose to ethanol by the yeast *Pachysolen tannophilus*." *Biotechnol. Bioeng.*, 24 (1982), 371-384.