

ICIDCA

sobre los derivados de la caña de azúcar

Volumen 47 No. 1 enero - abril 2013

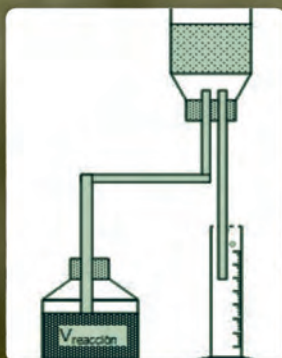
ISSN - 0138-6204



Aptitud de la industria azucarera cubana
para la asimilación de una nueva norma
de calidad de azúcar crudo



Líquidos iónicos para la transformación
de biomasa lignocelulósica



Estudio de la digestión
anaerobia mediante el
ensayo de actividad
metanogénica empleando
vinazas con diferentes
contenidos de sulfatos

Gestión ambiental y producciones más limpias en la producción de bioactivos y vitrofural. Environmental management and cleaner production in the production of bioactive and vitrofural

María Isabel Díaz-Molina, Iván L. Rodríguez-Rico,
Zenaida Rodríguez-Negrín, Mirta E. Cuellar-de la Cruz

3

Aptitud de la industria azucarera cubana para la asimilación de una nueva norma de calidad de azúcar crudo. Attitude of Cuban sugarcane industry for the assimilation of a new quality standard for raw sugar

Marlen C. Alfonso-Lorenzo, Teresa Mesa-González,
Jesús C. Mesa-Oramas, Ramón Consuegra-del Rey,
Carlos Peña-Velázquez, Eduardo Casanova-Cabezas

9

Microencapsulación: una vía de protección para microorganismos probióticos. Micro-encapsulation: a mean for the protection of probiotic microorganisms

Heidy Pérez-Leonard, Gloria Bueno-García, María Antonieta
Brizuela-Herrada, Keyla Tortoló-Cabañas, Cristina Gastón-Peña

14

Líquidos iónicos para la transformación de biomasa lignocelulósica. Ionic liquids for lignocellulosic biomass transformation

Daisy Dopico-Ramírez, Yelenys Hernández-Corvo,
Vivian León-Fernández, Eduardo Bordallo-López

26

Evaluación fármaco-toxicológica del jugo de caña deshidratado. Pharmaco-toxicological evaluation of dehydrated cane juice

Angela Ofelia Díaz-Llanes, Gastón García-Simón, Yamilka Herrera-
Ledesma, Dayamí Borges-Rodríguez, Arturo Valdivieso-García

38

Estudio de la digestión anaerobia mediante el ensayo de actividad metanogénica empleando vinazas con diferentes contenidos de sulfatos. Study of anaerobic digestion by methanogenic activity test using vinasse with different sulphate content

Yaniris Lorenzo-Acosta, Juana María Chanfón-Curbelo,
Ileana Pereda-Reyes

45

Obtención y caracterización de la celulosa hidrofóbicamente modificada. Preparation and characterization of hydrophobically modified cellulose

Vivian León-Fernández, Jacques Rieumont-Briones,
Eduardo Bordallo-López, Daisy Dopico-Ramírez,
Enma Peña-Sacerio, Isis Menéndez-Cuesta-Mirabal

51

Obtención de celulosa microcristalina a partir del bagazo de la caña de azúcar. Microcrystalline cellulose from sugarcane bagasse

Lucía García-García, Eduardo Bordallo-López,
Daisy Dopico-Ramírez, Dolores Cordero-Fernández

57



El Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA), se complace en invitarlos al Congreso DIVERSIFICACIÓN 2013, en el año en que esta institución cumple 50 años de fundada.

La sede del evento será el Hotel Nacional de Cuba situado a 15 minutos del casco histórico de la Habana Vieja, Patrimonio de la Humanidad, donde los participantes podrán acercarse a las tradiciones más puras de la cultura e historia de Cuba.

The Cuban Research Institute of Sugarcane Derivatives invites you to the XII International Congress on Sugar and Sugarcane Derivatives, in the 50th anniversary of the institution's foundation.

Hotel Nacional de Cuba, the venue of DIVERSIFICACIÓN 2013, is located in Havana downtown, 15 minutes far from the historical environment of Old Havana, Inheritance of Humanity, where the Congress attendants could come near to the purest traditions of Cuban history and culture.



**Del 14 al 18 de octubre,
Hotel Nacional, La Habana, Cuba**

**October, 14 - 18
Hotel Nacional, La Habana, Cuba**

diver2013@icidca.edu.cu
<http://www.icidca.cu/Diver2013/diver.htm>



Gestión ambiental y producciones más limpias en la producción de bioactivos y vitrofural

María Isabel Díaz-Molina¹, Iván L. Rodríguez-Rico², Zenaida Rodríguez-Negrín¹,
Mirta E. Cuellar-de la Cruz¹

1. Centro de Bioactivos Químicos. Universidad Central de Las Villas.
Carretera a Camajuaní, km 5½. Santa Clara. Villa Clara. Cuba
2. Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Química Farmacia.
Universidad Central de Las Villas. Carretera a Camajuaní, km 5½
Santa Clara. CP 54830, Villa Clara, Cuba.
email: midiaz@uclv.edu.cu

RESUMEN

Se demuestra que las Producciones Más Limpias y el Sistema de Gestión Ambiental redundan en el cumplimiento de las políticas y normas ambientales, reducen los costos operativos, agregan valor y aumentan la competitividad en la Planta de Producción del Centro de Bioactivos Químicos. Esta instalación cumple una función importante al producir ingredientes farmacéuticos activos y aditivos como medios de cultivo, para su uso en la producción de medicamentos y en la agricultura, respectivamente. Se realizó el análisis de los flujos de materiales a través de todo el proceso productivo. Para iniciar la implantación del Sistema de Gestión Ambiental se definió la política ambiental, los objetivos, las metas ambientales y el plan de acción del centro. Como resultado, se generaron opciones de Producción Más Limpia en los procesos de producción de bioactivos y vitrofural, que permitieron mejorar el desempeño ambiental de la entidad.

Palabras clave: Producción Más Limpia, análisis de proceso, Sistema de Gestión Ambiental, desempeño ambiental.

ABSTRACT

It is demonstrated that Cleaner Productions and Environmental Management System leads to the fulfillment of all environmental policies and standards, to reduce operation expenses, upgrade productions and improve competitiveness in the Production Plant of Chemical Bioactive Center. This installation plays an important role in the production of pharmaceutical ingredients and additives for culture media intended to produce medical and agricultural compounds. The analysis of material flow was analyzed through the whole process. To kick off the implementation of the Environmental Management System the environmental policy was settled down, as well as, the objectives, environmental goals and action program. As a result, different options of Cleaner Productions were generated for processes of bioactives and vitrofural production which allowed a better environmental performance of the center.

Keywords: Cleaner Production, process analysis, Environmental Management, environmental performance.

INTRODUCCIÓN

La industria farmacéutica comprende la fabricación de materias primas y de especialidades (medicamentos, preparados para uso terapéutico o profiláctico, etc.). Dentro de las materias primas se encuentran los principios activos terapéuticos, los productos intermedios y los excipientes o sustancias auxiliares (1).

La fabricación de Ingredientes Farmacéuticos Activos (IFAs) constituye un pequeño, pero importante fragmento en el sector de fabricación de medicamentos y, lógicamente, no escapa de la situación que presenta la generalidad de esta industria (2).

En la realización de estos procesos se presentan diversos problemas ambientales, por tanto, constituyen una fuente generadora de residuos líquidos, sólidos y emisiones a la atmósfera que contaminan el medio ambiente.

El Centro de Bioactivos Químicos investiga, desarrolla, produce y comercializa de forma mayorista productos con acción biológica, obtenidos por síntesis química usando el furfural como materia prima, para ser

utilizados en la salud humana, veterinaria y en la esfera agrícola.

Para resolver los problemas ambientales en la Planta de Producción es de significativa importancia realizar el análisis de los flujos de materiales, a través de todo el proceso productivo (3).

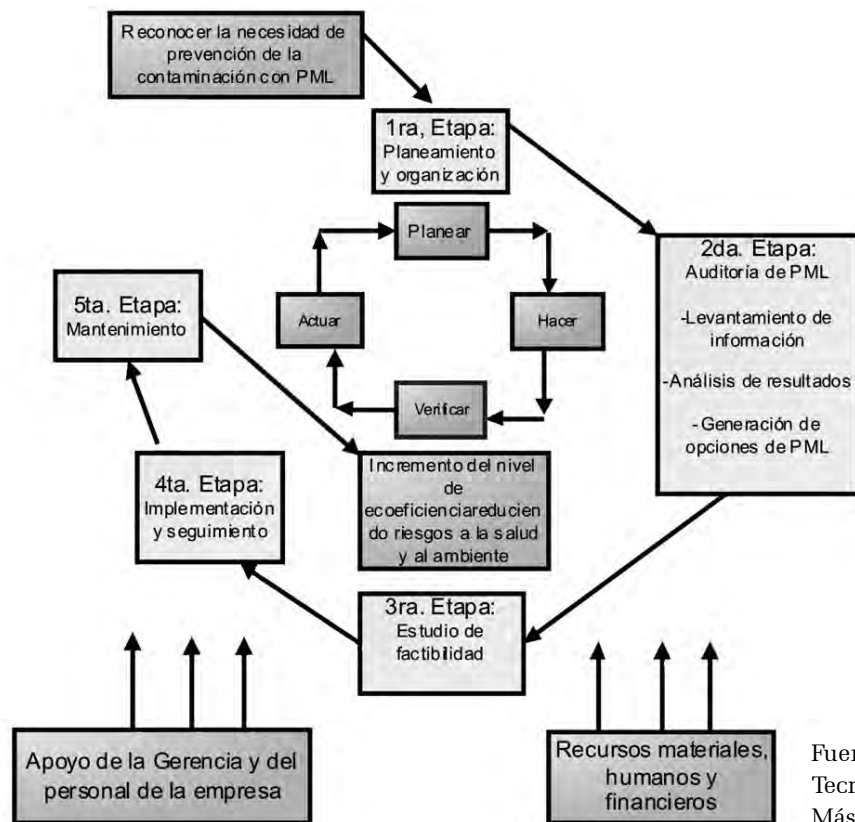
La implementación de un programa de Producción Más Limpia es un proceso compuesto de 5 etapas, como se observa en la figura 1 (4).

- Planeamiento y organización.
- Auditoria de Producción Más Limpia.
- Estudio de factibilidad.
- Implementación y seguimiento de las opciones de Producción Más Limpia.
- Mantenimiento.

Por su importancia se destaca la etapa de auditoría que es indispensable para desarrollar las bases técnicas y financieras del programa. En esta etapa se realizan las siguientes actividades:

1. Levantamiento de la información

- Recopilar información sobre los procesos.



Fuente: Centro de Eficiencia Tecnológica. Guía de Producción Más Limpia. Lima, 2005.

Figura 1. Etapas para la implementación de un Programa de Producción Más Limpia.

- Definir y evaluar las actividades de la empresa.
- Enfocar el trabajo del equipo auditor en las áreas prioritarias de la planta.
- Análisis de resultados.
- Elaboración de balances de materiales y de energía para las operaciones unitarias prioritarias.
- Definir las causas de los flujos de contaminantes y de las ineficiencias energéticas.

2. Generación de opciones de Producción Más Limpia

- Desarrollar opciones de Producción Más Limpia.
- Preseleccionar las opciones generadas.

Las herramientas de Producción Más Limpia como análisis de entradas/salidas, análisis de flujo de materiales y flujos de energía construyen las bases de un sistema de información que permite determinar la eficiencia de los flujos de materiales y energía y la efectividad de las mediciones. Esto los hace una herramienta valiosa en la mejora del desempeño ambiental y técnico.

Es evidente que la Producción Más Limpia y la norma ISO 14001 forman un conjunto acoplado y se apoyan mutuamente para que la organización disminuya su efecto al medio ambiente (5).

El Sistema de Gestión Ambiental (SGA), a su vez, proporciona orden y consistencia para que las organizaciones orienten las preocupaciones ambientales a través de la asignación de recursos, la precisión de responsabilidades, y la evaluación continua de las prácticas, procedimientos y procesos (6).

La gestión ambiental es una parte integral del sistema de gestión global de una organización, y su diseño es un proceso continuo e interactivo. La estructura, responsabilidades, prácticas, procedimientos, procesos y recursos para implementar políticas, objetivos y metas ambientales, pueden coordinarse con los esfuerzos existentes en otras áreas (operaciones, finanzas, calidad, salud y seguridad ocupacional) (6).

Las normas internacionales sobre gestión ambiental tienen como finalidad proporcionar a las organizaciones los elementos de un sistema de gestión ambiental (SGA) eficaz que puedan ser integrados con otros requisitos de gestión para controlar de

forma adecuada el impacto de las actividades en el medio ambiente (7).

MATERIALES Y MÉTODOS

En el desarrollo de esta investigación se integra la estrategia de Producción Más Limpia al diseño del Sistema de Gestión Ambiental mediante el empleo de técnicas de análisis de procesos. Se realiza el balance de materiales y se tiene la información para cada una de las operaciones unitarias recogidas en la Orden de Producción del Producto Intermedio G-O, Orden de Producción del Ingrediente Farmacéutico Activo G-1 y el Registro de Producción de vitrofural.

Se determina la fuente, cantidad y causa de los residuos, así como las emisiones. Los datos se observaron, midieron y registraron.

Se define y aplica la política ambiental del centro, los objetivos, las metas ambientales y su plan de acción. Se generan opciones de Producción Más Limpia para mejorar el desempeño ambiental de la entidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El diagrama de flujo de la figura 2, muestra la entrada y salida de materiales de los procesos que se realizan en la Planta de Producción.

A continuación se presenta el balance de materiales, realizado en el taller de obtención de G-0 para algunas de las corrientes, teniendo en cuenta los resultados de la intensificación acometida en el taller (8).

Balance de materiales para una alimentación de 14 moles de furfural



Las condiciones de entrada de los reactivos son:

$$V_{NM} = 1748 \text{ mL} = 1,748 \times 10^{-3} \text{ m}^3$$

$$V_{FF} = 1185 \text{ mL} = 1,185 \times 10^{-3} \text{ m}^3$$

$$V_{IBA} = 20,3 \text{ mL} = 2,03 \times 10^{-5} \text{ m}^3$$

$$MM_{NM} = 61,04 \text{ g/mol}$$

$$MM_{IBA} = 73,14 \text{ g/mol}$$

$$MM_{FF} = 98,086 \text{ g/mol}$$

$$MM_{G-0} = 139 \text{ g/mol}$$

$$m_{NM} = 1,835 \text{ kg}$$

$$m_{FF} = 1,373 \text{ kg}$$

$$m_{IBA} = 0,037 \text{ kg}$$

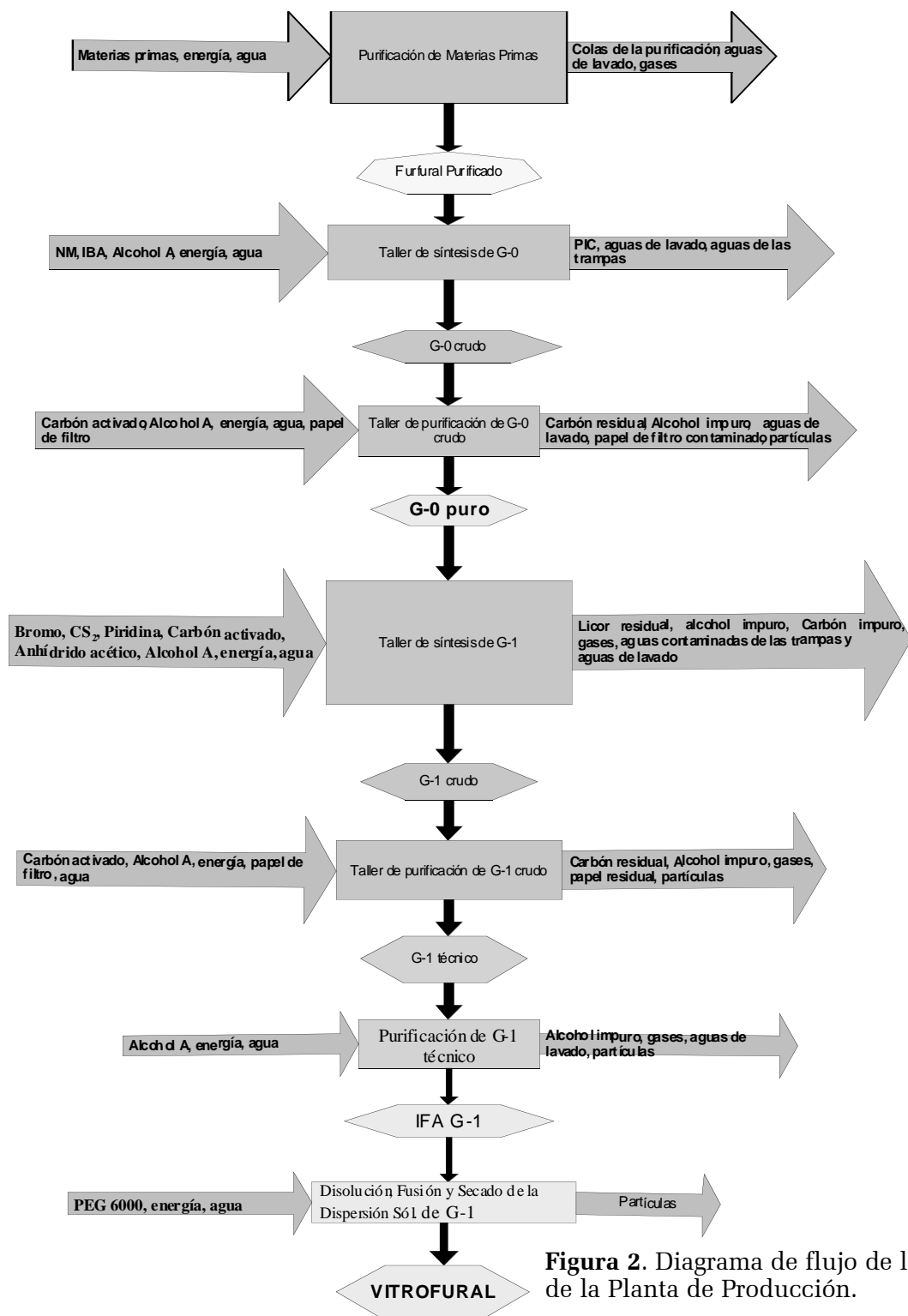
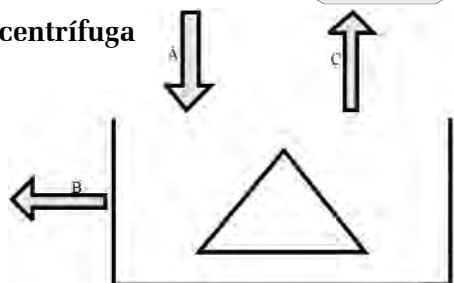


Figura 2. Diagrama de flujo de los procesos de la Planta de Producción.

Sistema centrífuga



A: licor de síntesis

B: PIC

C: G-0 crudo

B = 1890 g

C = 1391 g

$X_{FFB} = 17,62 \%$

$X_{FFC} = 1,13 \%$

Se plantea balance total en la centrífuga:

$$A = B + C$$

$$A = 1890 \text{ g} + 1391 \text{ g} = 3281 \text{ g}$$

Al realizar un balance parcial, para conocer la composición de furfural en el licor de síntesis, se consideró:

$$X_{\text{FFA}} \cdot A = X_{\text{FFB}} \cdot B + X_{\text{FFC}} \cdot C$$

$$X_{\text{FFA}} \cdot 3281 \text{ g} = 0,1762 \cdot 1890 \text{ g} + 0,0113 \cdot 1391 \text{ g}$$

$$X_{\text{FFA}} = 10,62 \%$$

$$m_{\text{FF}} \text{ en el licor} = 0,1062 \cdot 3281 \text{ g} = 348,44 \text{ g}$$

Como resultado del balance de materiales en el sistema centrífuga, se obtuvo el dato de la masa del licor de la síntesis y la composición de furfural en ese licor.

Teniendo en cuenta las regulaciones para la producción del Ingrediente Farmacéutico Activo (IFA) para medicamentos, se extreman las exigencias en la limpieza de locales y sistemas auxiliares, así como en la cristalería a utilizar en este tipo de producción. Se realizó el monitoreo del agua de consumo y de las aguas residuales.

En la entidad se desarrolla una política de la calidad para parámetros específicos y con características de política madre. Esta política cumple con los requisitos exigidos por la NC ISO 14001:2004 /8/ y proporciona el marco de referencia para establecer y revisar los objetivos y metas ambientales. Los objetivos ambientales son medibles a través de indicadores ambientales establecidos para cada uno de los procesos definidos en la Planta de Producción.

Después de realizar la Revisión Ambiental Inicial en la Planta de Producción se elabora el Programa de Gestión Ambiental. Es válido destacar que en este caso se tuvo en cuenta también el resultado de la auditoría de calidad realizada en el año 2007 cuyas no conformidades tuvieran que ver con medidas de Producción Más Limpia.

Opciones de Producción Más Limpia

Cambio del aceite Purolub 22 por aceite Regular SAE 50 (no contiene aditivos de detergencia o dispersantes y mayor estabilidad química) usado como medio de calentamiento.

- Disminución de la emanación de vapores, fugas procedentes del baño de aceite colocando una junta de neopreno en el

espacio que hay entre el baño de aceite y su tapa, y poner tapas a los espacios que quedan abiertos cuando no se produce a plena capacidad.

- Se implanta un control periódico de la calidad de las propiedades del aceite utilizado en la síntesis de G-O, con el objetivo de determinar el tiempo de vida útil de este insumo, parámetro indicador de contaminación ambiental en el local de trabajo.
- Cambio del baño de 5 plazas que tiene 12 resistencias de 1,25 kW por el baño de 3 plazas que tiene 8 resistencias de 1,25 kW.
- Se fija el flujo de salida de agua para la limpieza en los talleres de G-0, G-1 y vitrofural para estabilizar la salida hacia la planta de tratamiento de residuales.
- El carbón residual de la purificación y el lodo de la planta de tratamiento se utilizan como combustible en la industria del cemento (Fábrica de Cementos de Cienfuegos S.A).

CONCLUSIONES

1. La Producción Más Limpia y el Sistema de Gestión Ambiental facilitan el cumplimiento de las políticas y normas ambientales, reducen costos operativos, agregan valor y aumentan la competitividad en la producción de bioactivos y vitrofural.
2. Se definen y aplican la política ambiental, los objetivos, las metas ambientales y el plan de acción que permiten iniciar la implantación del Sistema de Gestión Ambiental en el Centro de Bioactivos Químicos.
3. Se generan opciones de Producción Más Limpia en los procesos de producción de bioactivos y vitrofural que permiten mejorar el desempeño ambiental de la entidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ramos, C. Los residuos en la industria farmacéutica. Revista CENIC Ciencias Biológicas (La Habana) 37 (1): pp.25-31, 2006.
2. CECMED. Regulación No. 16-2006 Directrices sobre Buenas Prácticas de

- Fabricación de Productos Farmacéuticos: 2da. ed. CECMED LaHabana. Cuba, 2006.
3. Fresner, J. La mitad es suficiente. Una introducción a la Producción Más Limpia. Graz-Bucaramanga, 2008 pp. 1-137.
 4. Centro de Eficiencia Tecnológica del Centro Nacional de Producción más Limpia. Guía de Producción más Limpia. Lima: Centro de Eficiencia Tecnológica, 2005.
 5. Fresner, J. Cleaner production as a means for effective environmental management. Journal of Cleaner Production, pp. 171-179, 1998.
 6. Zaror, C. A. Capítulo 8. Gestión ambiental en la industria de procesos. ZAROR, C. Introducción a la Ingeniería Ambiental para la Industria de Procesos. Chile. Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería. Universidad de Concepción, 2000 pp.8-40.
 7. NC-ISO14001. Sistemas de gestión ambiental-requisitos con orientación para su uso. 2004
 8. Rodríguez, Z. Intensificación del proceso de producción del 2- (2 nitrovinil) furano. Tesis para optar por el grado de Doctor. Facultad de Química - Farmacia. Centro de Bioactivos Químicos. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Cuba, 2002.
-



Tomaticid

Producto de acción fisiológica; inductor y favorecedor del cuajado de frutos. Se recomienda aplicarlo en cultivos de tomate, ají, pimiento, frijol, guayaba, piña, berenjena y en otros. Es formulado como líquido soluble a la concentración de 0,14 p/v de ácido p-cloro fenoxiacético.

Dosis
Se utiliza normalmente a razón de 10 ml/L de agua o de 3-15ml/L según las condiciones específicas de cada lugar.

Modo de aplicación
Se aplica con mochila disuelto en agua, en pulverización fina sobre las plantas. Para favorecer la adecuada penetración del producto, es conveniente administrarlo en días de luminosidad reducida, al amanecer o atardecer. Se utiliza cuando el ramillete tenga las primeras flores abiertas. Se debe repetir la aplicación a medida que sea necesario, según el escalonamiento de la floración.

Condiciones de almacenamiento
Se debe conservar en un lugar fresco protegido de la luz.

Garantía del producto
Un año después de la fecha de fabricación.

Recomendaciones
Se utilizará únicamente sobre plantas en buenas condiciones sanitarias. No se debe sobrepasar la dosis recomendada para evitar riesgos. El plazo de seguridad entre el tratamiento y la recolección es de 20 días.

Efectos de la aplicación
- Adelanta la maduración de 8 a 12 días.
- Aumenta la fructificación de los ramilletes de flores.
- Eleva la productividad de 30 a 100 %.

Medidas medioambientales
No presenta efectos tóxicos para el hombre, plantas y animales. No provoca alteraciones en el entorno ecológico.



Contacto
ICIDCA
Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar.
904 Blanca 803, 95 Carretera Central, La Habana, CP 11000, Cuba.
Dirección de Negocios
Telf: 606-7017, 606-6114 ext. 217
Fax: 606-7017
E-mail: comercio@icidca.cu
<http://www.icidca.cu/>

Registro Central de Plaguicidas de la República de Cuba
TOMO 4, FOLIO 995.



ICIDCA



Aptitud de la industria azucarera cubana para la asimilación de una nueva norma de calidad de azúcar crudo

Marlen C. Alfonso-Lorenzo, Teresa Mesa-González, Jesús Mesa-Oramas,
Ramón Consuegra-del Rey, Carlos Peña-Velázquez*, Eduardo Casanova-Cabezas

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar
Carretera de Boyeros a la CUJAE, km 2½. Boyeros. La Habana. Cuba.
email: marlen.alfonso@icidca.edu.cu

RESUMEN

La norma cubana del azúcar crudo estándar, con 5 años de vigencia, fue revisada y modificada en el año 2011 por el Grupo Azucarero AZCUBA. Para valorar los nuevos requisitos de calidad fueron analizados resultados reportados en los últimos 10 años por: LEYCAL (Laboratorio acreditado por NC ISO/IEC 17025 de la Dirección de Gestión de Calidad del ICIDCA), laboratorios de las terminales de exportación y laboratorios de los centrales azucareros (Datos procesados por la Sala de Análisis de AZCUBA). Se consideró además el análisis de la correspondencia de las tecnologías existentes en las fábricas de azúcar con el nuevo propósito. La valoración de los aspectos referidos indicó la aptitud de la industria azucarera cubana para cumplir la nueva norma en el año 2012, sin incurrir en novedades tecnológicas adicionales.

Palabras clave: calidad, azúcar crudo, norma cubana, mercado azucarero.

ABSTRACT

Standard raw sugar norm was reviewed and modified by AZCUBA Sugar Group in 2011. Product quality requirements were evaluated according to labs reports from: LEYCAL (NC ISO/IEC 17025 reputable lab), sugar exporting terminals labs and sugar factories labs. Available technology and its relation with norm change were also considered. The evaluation indicates that Cuban sugar industry is able to establish a new standard with available technologies.

Keywords: quality, raw sugar, Cuban standards, sugar market.

INTRODUCCIÓN

La mayoría de las refinerías en el mundo, incluyendo las cubanas, han eliminado el subproceso de afinación, por lo que requieren azúcares crudos de mayor calidad. La mayor proporción del azúcar que se comercializa actualmente se refiere a crudos denominados de alta Pol (*very high pol-VHP*) con valores del parámetro iguales o superiores a 99,0 %, y de muy alta Pol (VVHP), con valores mayores que 99,3 % (1). Por otra parte, hay que considerar que en la actualidad las "primas de Pol" constituyen el 3,75 % del precio de venta de la tonelada de azúcar en el entorno comprendido entre 96 y 99,3 %.

La situación anterior indicó la necesidad de que AZCUBA se proyectara en función de una producción competitiva, de aquí el cambio de norma de la calidad del crudo sobre la base de evidencias acerca de la posibilidad de lograr el objetivo.

Se aclara que con anterioridad se hizo referencia a la Pol por ser un indicador de indiscutible peso; sin embargo, hay un conjunto adicional de variables que son consideradas, a los efectos de la comercialización del azúcar crudo.

La tabla 1 contiene información sobre valores de la norma previa (NC:85-2006) (2), de la recientemente aprobada en 2011 (NC:85-2011) (3) y de la Instrucción 10:2005, emitida por el otrora Ministerio del Azúcar. Se puntualiza que la referida

Instrucción contempla parámetros que complementan la nueva norma.

En la nueva norma aparecen nuevos parámetros indicados en la Instrucción 10:2005 y se han cambiado siete valores (sombreados en la tabla) de los once originales.

Es objetivo del presente trabajo analizar las posibilidades que tienen las fábricas de azúcar cubanas de alcanzar las nuevas exigencias en un plazo breve, por lo que a continuación se valoran aspectos tecnológicos y estadísticas derivadas de la producción azucarera.

Se hace un análisis de los parámetros polarización, color Horne, humedad, insolubles, tamaño de grano y partículas ferro magnéticas y no de los parámetros restantes, debido a la carencia de información que permita un análisis riguroso sobre el resto de los parámetros cuya importancia no se desconoce.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó el análisis de las tecnologías introducidas en las fábricas azucareras en los últimos 15 años y se definió que, entre las que producen mayor impacto favorable sobre la calidad del azúcar crudo, se encuentran:

- Coladores rotatorios de jugo mezclado.
- Aplicación del inhibidor enzimático IFO-POL en la planta moledora.
- Ingeniería para la reducción del tiempo de retención de los jugos en el proceso,

Tabla 1. Valores comparativos de ambas normas

Parámetros	Instrucción #10:2005	NC: 85-2006	NC: 85-2011
Factor de seguridad (máx.)		0,25	0,25
Polarización (°Z máx.)		98,8	99,0
Color ICUMSA (UCI máx.)		2000	1500
Dextrana (ppm máx.)		300	300
Humedad (% máx.)		0,25	0,20
Cenizas (% máx.)		0,25	0,20
Partículas ferromagnéticas (ppm máx.)		6	6
Color Horne (máximo)	18		15
Almidón (ppm máx.)	200		250
Tamaño de grano (% sobre malla 20, máx.)	55		60
Insolubles (% máximo)	0,04		0,04
Azúcares reductores (% máx.)	0,30		0,30

esencialmente en el subproceso de purificación.

- Explotación del esquema de doble semilla en el subproceso de cristalización.

En epígrafe posterior se puntualizan los efectos de estas tecnologías sobre la calidad del azúcar.

Para analizar la tendencia de algunos de los principales parámetros que caracterizan la calidad del azúcar en los últimos 10 años, se utilizaron como referencia bases de datos de LEYCAL y TECNOAZÚCAR (empresa a cargo de los laboratorios ubicados en las terminales de azúcar). Adicionalmente, se valoró el comportamiento estadístico de la calidad del azúcar en todas las fábricas que operaron en la zafra 2011 en cuanto a pol, humedad, color, insolubles, tamaño de grano y partículas ferromagnéticas. Para ello se tomó como referencia la base de datos de AZCUBA sobre cada fábrica, la que fue procesada en un libro EXCEL, con la capacidad de acceder a cada una mediante un algoritmo automatizado de búsqueda.

El procesamiento de datos tomó en consideración el conjunto de indicadores contenidos en la tabla 2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto de las tecnologías que se introdujeron sobre la calidad del azúcar se resumen a continuación:

Coladores rotatorios de jugo: Su efecto más evidente es la disminución de insolu-

bles al disponer de mallas de menor diámetro equivalente que los coladores estáticos tradicionales. Adicionalmente, los coladores rotatorios incrementan la asepsia, lo que disminuye la probabilidad de formación de oligosacáridos y polisacáridos que desfavorecen la obtención de alta calidad del azúcar.

Inhibidor enzimático IFOPOL: Inhibe la producción de oligosacáridos y polisacáridos con el consiguiente impacto favorable que esto significa (4).

Disminución del tiempo de retención de los jugos: En los últimos 10 años se adoptaron medidas que redujeron considerablemente el tiempo de retención de los jugos en el proceso. Como medida más relevante se encuentra la extensión de clarificadores de una hora o menos de tiempo de residencia. La disminución del tiempo, además de reducir las pérdidas de sacarosa por inversión, reduce significativamente la destrucción de reductores que significa un notable incremento del color del azúcar (5).

Esquema de cristalización con doble semilla: Pudiera ser lo más impactante. Después que durante muchos años Cuba produjera 2 tipos de azúcar comercializable (A y B), se produjo el cambio tecnológico que da lugar a un único tipo de azúcar destinada al comercio. Este último tipo de azúcar se deriva de masas cocidas de mayor pureza, lo que provoca un significativo incremento de la calidad, superior a la correspondiente a los dos tipos producidos en la etapa anterior.

La incorporación paulatina de estos desarrollos dio lugar al incremento sostenido de la calidad del azúcar. En este sentido, las figuras 1, 2 y 3 (reportes de LEYCAL y de los laboratorios de las terminales de azúcar) (6) evidencian la tendencia de un mejor comportamiento de la Pol, la humedad y el color durante las últimas 10 zafas hasta el año 2011. Los mejores valores correspondientes a los resultados de LEYCAZ, respecto a los reportes de las terminales, responden a la disminución de la calidad del azúcar por concepto de almacenamiento y transportación.

No se pudo disponer de la información de los laboratorios de las terminales correspondientes al año 2006.

Tabla 2. Valores e intervalos para analizar el comportamiento de variables

Variable	Valor Bajo	Intervalo	Valor Alto
Pol (%)	< 98,8	98,8 - 99,0	= 99,0
Humedad (%)	< 0,20	0,20 - 0,25	> 0,25
Insolubles (%)	= 0,03	0,03 - 0,04	> 0,04
Color (Horne)	< 15	15 - 18	> 18
TG (sobre malla 20 micras)	< 55	55 - 70	> 70
PF (ppm)	0 a 1	1 - 6	> 6

TG = tamaño de grano; PF = partículas ferromagnéticas.

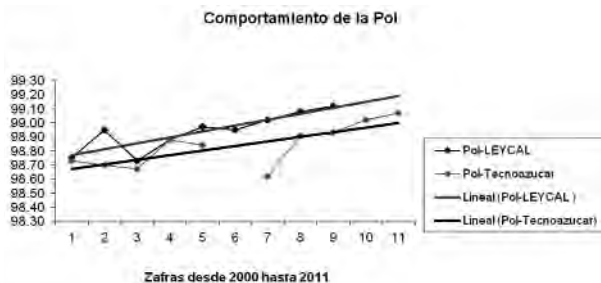


Figura 1. Comportamiento de la Pol en las últimas 10 zafas (hasta 2011).



Figura 2. Comportamiento de la humedad en las últimas 10 zafas (hasta 2011).

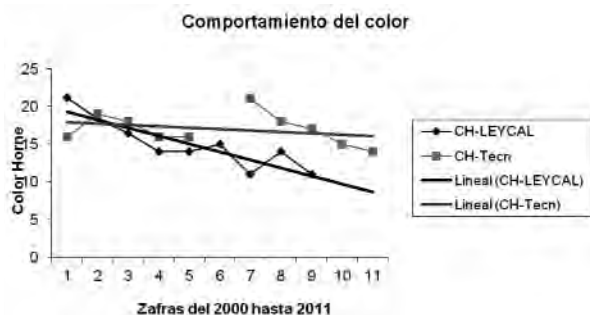


Figura 3. Comportamiento del color en las últimas 10 zafas (hasta 2011).

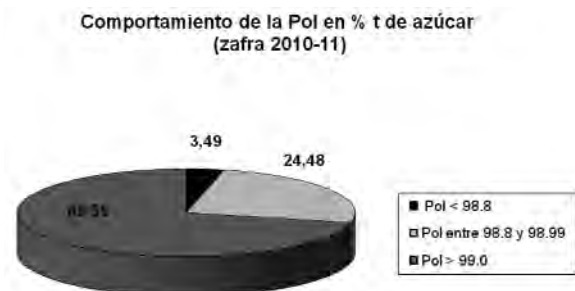


Figura 4. Comportamiento de la Pol a nivel nacional en la zafra 2011.

La figura 4 muestra el comportamiento de la Pol en azúcar tomando en cuenta el procesamiento de los datos aportados por todas las fábricas. Cerca del 70% del azúcar producido tuvo más que 99 % de Pol y solo un 3,49 % se produjo con menos de 98,8 %. De lo explicado anteriormente, el hecho de que el promedio nacional fue igual a 99,06 % y el logro de más de 99 % por parte de 23 de las 39 fábricas que hicieron la zafra de 2011, indica que es posible cumplir una norma igual a 99 %

La figura 5 indica que poco más del 50 % del azúcar tuvo valores de humedad inferiores al 0,20 % y que una cantidad menor, aunque no despreciable (17,55 %), estuvo en el rango comprendido entre 0,20 y 0,25 %. Los valores altos de humedad pueden estar relacionados, entre otros factores, con tamaños bajos de grano como parte de los representados en la figura 6, que permite puntualizar que alrededor del 15 % del azúcar tuvo un valor notablemente bajo e inferior al 55 % sobre malla 20. Esta situación puede superarse mediante una mejor planificación de las operaciones en las áreas de tachos, por lo que resulta factible cumplir la norma correspondiente a valores de 0,20 % y 60 % sobre malla 20 en los casos de la humedad y el tamaño de grano, respectivamente.



Figura 5. Comportamiento de la humedad ponderada a nivel nacional en la zafra 2011.

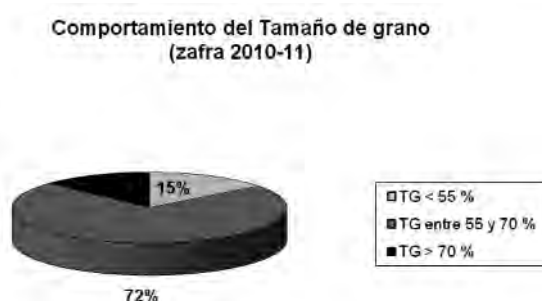


Figura 6. Tamaño de grano a nivel nacional durante el año 2011.

La figura 7 indica que cerca del 90 % del azúcar producido tiene valores de color inferior a 15 (escala Horne). Si a lo anterior se le añade que el valor promedio nacional fue de 11,37; puede precisarse que una nueva norma de valor igual a 15 es relativamente fácil de cumplir.



Figura 7. Comportamiento del color en azúcar a nivel nacional en el 2011.

El valor promedio nacional en el caso de los insolubles fue de un aceptable 0,03 %; sin embargo, según la figura 8, cerca del 15 % de los valores fue superior a 0,04 %. La factible disminución del contenido de materias extrañas en la caña que se procesa en las fábricas y el perfeccionamiento de los sistemas de colado de jugo, permitirían eliminar las anomalías de forma de concretar una norma nacional de 0,03 % ya lograda en el último año como promedio ponderado.



Figura 8. Contenido de insolubles en azúcar a nivel nacional en el año 2011.

Cerca del 62 % de la producción azucarera exhibió un contenido de partículas ferromagnéticas (PF en lo adelante) en el rango entre 1 y 6 ppm, mientras que un 14 % tuvo valores por encima de 6 ppm. La consecuente aplicación de pinturas anticorrosi-



Figura 9. Contenido de partículas ferromagnéticas en el año 2011.

vas al finalizar la zafra, permitiría que los valores relativos a PF sean sustancialmente inferiores, por lo que la norma de 6 ppm resultaría fácil de cumplir.

CONCLUSIONES

- El análisis de los resultados productivos en los últimos 10 años indica la mejora continua de la calidad del azúcar crudo cubano hasta el punto que, en 2011, se concretan resultados que establecieron pautas para la formulación de una nueva norma, la NC: 85- 2011.
- Los requisitos establecidos en la nueva norma se pueden alcanzar con la tecnología existente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OIA, Mecas (10)17. "Demanda mundial de azúcar: perspectivas hasta 2020". Octubre 2010.
2. NC: 85-2006. Azúcar crudo de caña: especificaciones.
3. NC: 85-2011. Azúcar crudo de caña: especificaciones
4. Ramos, E.; Ravelo, S.; Gutiérrez, S. Efecto de los diferentes oligosacáridos en el hábito del cristal de sacarosa. CubaAzúcar. 19 (4), pp. 58-62, 2000.
5. Monduí, R. Tiempo de residencia en los clarificadores: Un enfoque económico. CubaAzúcar 17 (4), pp. 3-6, 1998.
6. Reportes de LEYCAL, laboratorios de exportación de Tecnoazúcar y de la Sala de análisis de AZCUBA de las zafas comprendidas entre 2000 y 2011.

Microencapsulación: una vía de protección para microorganismos probióticos

Heidy Pérez-Leonard, Gloria Bueno-García, María Antonieta Brizuela-Herrada,
Keyla Tortoló-Cabañas, Cristina Gastón-Peña

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar
Vía Blanca 804 y Carretera Central, San Miguel del Padrón, La Habana, Cuba
heidy.perez@icidca.edu.cu

RESUMEN

Se detallan los retos que presentan los probióticos en los alimentos, teniendo en cuenta factores tecnológicos y gastrointestinales como el calor, el secado, el oxígeno, la temperatura de almacenamiento, la acidez y las sales biliares. Se definen conceptos de interés y se describen los métodos de extrusión, emulsión y secado por aspersión que se han empleado exitosamente para la encapsulación de probióticos con énfasis en sus ventajas y desventajas. Se hace referencia a la estructura de las microcápsulas, a materiales encapsulantes como alginato, quitosano, K-carrageno, goma arábiga, almidón, a los mecanismos para controlar la liberación de las células probióticas y a las aplicaciones de los probióticos microencapsulados, desde diferentes líneas de investigación.

Palabras clave: microencapsulación, liberación, probiótico, encapsulación.

ABSTRACT

Details the challenges posed by probiotics in food, taking into account technological and gastrointestinal factors such as heat, drying, oxygen, storage temperature, acidity and bile salts. Concepts of interest are defined and described the methods of extrusion, emulsion and spray drying has been used successfully for the encapsulation of probiotics with emphasis on their advantages and disadvantages. Refers to the structure of the microcapsules, encapsulating materials as alginate, chitosan, K-carrageenan, gum arabic, starch, to mechanisms for controlling the release of probiotic cells and microencapsulated probiotics applications from different research.

Keywords: microencapsulation, release, probiotic, encapsulation.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, existe una amplia variedad de productos probióticos en el mercado basados en la salud, en forma de suplementos dietéticos y productos lácteos fermentados que presentan problemas con la viabilidad y funcionalidad de los probióticos. La pobre supervivencia de los probióticos en estos productos y en el tracto gastrointestinal es afectada por un grupo de factores, debido a las condiciones ambientales, tecnológicas y gastrointestinales a los cuales son sometidos (1).

En este sentido, las investigaciones se han enfocado hacia el empleo del proceso de microencapsulación como estrategia, para mejorar la viabilidad de los probióticos en los productos y durante su paso por el tracto gastrointestinal. La microencapsulación es definida como la tecnología de empaquetamiento de sólidos, líquidos y gaseosos con materiales de recubrimiento de distinta naturaleza, para dar lugar a cápsulas de tamaño micrométrico que pueden liberar su contenido de manera controlada bajo la influencia de condiciones específicas (2). Los productos resultantes de este proceso son denominados micropartículas, microcápsulas o microesferas, cuya estructura puede formar un sistema de reservorio y el matricial. La liberación del contenido de las microcápsulas puede llevarse a cabo por distintos mecanismos (1).

Hasta el momento, los microorganismos probióticos que han sido microencapsulados pertenecen a los géneros *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* y *Streptococcus*. Muchos estudios han demostrado que los cultivos probióticos pueden protegerse mediante una variedad de materiales encapsulantes. Dentro de estos se consideran los alginatos y sus combinaciones, el almidón, los derivados de celulosa, la gelatina, la mezcla de xantano-gelatina, carrageno y sus mezclas, las gomas (arábiga y guar), el quitosano, las maltodextrinas y las proteínas de suero de leche (3 - 7).

Se han reportado varios métodos de microencapsulación tales como extrusión, emulsión, lecho fluidizado y secado por aspersión, polimerización interfacial y coacervación, entre otros (4, 6, 8-11).

Las aplicaciones y ventajas de los probióticos microencapsulados se han discutido

desde diferentes ángulos e incluyen la producción de cultivos iniciadores, la producción de productos alimenticios, la viabilidad de las células probióticas en el tracto gastrointestinal y el uso en fermentadores (12). Los beneficios de la microencapsulación de probióticos están dados por la facilidad de producir cultivos sensibles al oxígeno, mejorar la supervivencia cuando se exponen a soluciones gástricas, bilis, acidificación, calor, congelación, estabilidad durante el almacenamiento en forma seca y protección contra contaminantes y bacteriófagos.

El objetivo de este trabajo es brindar las nuevas tendencias sobre tecnologías más eficientes, como alternativa para solucionar los problemas significativos de los probióticos en cuanto a viabilidad, incremento de la vida de anaquel, estabilidad y funcionalidad, así como mejorar su liberación y eficacia en lugar de acción. Además, conocer las bondades de los probióticos por sus beneficios y aplicaciones en forma microencapsulada.

RETOS DE LOS PROBIÓTICOS EN ALIMENTOS

Los probióticos son microorganismos vivos, que administrados en cantidades adecuadas, ejercen un efecto beneficioso sobre la salud del hospedero (13). Han sido propuestos para establecer y mantener la salud de la microbiota del intestino y prevenir la colonización de bacterias patógenas, para restablecer la microbiota benéfica agotada por antibióticos e incrementar la resistencia a infecciones entéricas y gastrointestinales causadas por patógenos, lo cual contribuye al buen funcionamiento y protección del tracto digestivo en animales y humano (14- 16).

Sin embargo, se ha observado que la influencia del estrés, la acidez gástrica, las sales biliares, la sensibilidad a enzimas, los niveles de oxígeno, el pH, la presencia de inhibidores, la temperatura de almacenamiento y la composición de matrices de alimentos interfieren significativamente en pérdidas de la viabilidad y sobrevivencia de los microorganismos probióticos (tabla 1).

Se ha demostrado que la viabilidad, estabilidad y supervivencia de los microorganismos probióticos decrece rápidamente en el alimento con valores de concentración

Tabla 1. Retos involucrados en la incorporación de probióticos en alimentos

Aspectos	Retos de los probióticos
Factores asociados en el procesamiento de alimentos (17)	<ul style="list-style-type: none"> • El tratamiento con calor y el secado mejoran la vida anaquel de un alimento, pero son perjudiciales para la viabilidad de las bacterias probióticas. • La restricción de la multiplicación de células bacterianas probióticas, una vez adicionada al alimento, provoca deterioro del producto. • Las condiciones perjudiciales para la supervivencia de cultivos probióticos en productos lácteos fermentados por: acidez, pH, peróxido de hidrógeno, temperatura de almacenamiento, presencia de otras especies y cepas, concentración de los ácidos láctico y acético y presencia de la concentración de proteínas de suero de leche.
Exposición a ácido gástrico presente en el estómago (20, 21)	<ul style="list-style-type: none"> • La tolerancia a ácido es una cualidad importante que una cepa probiótica debe poseer porque el pH gástrico está alrededor de 2,0. Esta tolerancia puede ser mejorada por diversas vías: regulación de los genes responsables para la protección al estrés y por adaptación al medio ambiente ácido.
Exposición a sales biliares presentes en el fluido intestinal (21, 22)	<ul style="list-style-type: none"> • La capacidad de supervivencia en el tránsito mediante el intestino delgado y la tolerancia hacia sales biliares presentes. • Algunas cepas son capaces de desconjugar los ácidos biliares usando la enzima hidrolasa sal biliar.
Intolerancia al oxígeno de cepas probióticas (21 - 24)	<ul style="list-style-type: none"> • El contenido de oxígeno y el potencial redox del medio ambiente son muy importantes para la viabilidad de los probióticos. • Las cepas probióticas anaerobias son directamente afectadas por la presencia de oxígeno en el ecosistema microbiano intestinal y en condiciones de estrés oxidativo exógeno, causando extensión de la fase <i>lag</i> y limitación del crecimiento, morfología celular alterada y cambios en los perfiles de ácidos grasos celulares.

por debajo de los necesarios para ejercer su efecto en el sitio de acción (17).

En este sentido, las estrategias propuestas para incrementar la resistencia de cepas probióticas contra el medioambiente adverso son: selección de cepas resistentes a ácido y bilis, empaquetamiento en los materiales protegidos de oxígeno, fermentaciones en doble etapas, pre-adaptación a varias condiciones de estrés, adición de micronutrientes en forma de aminoácidos y péptidos, y microencapsulación (18 - 19).

De las estrategias anteriores, ha sido desarrollada con mayor énfasis la microencapsulación con el objetivo de proporcionar una protección adecuada a las cepas probióticas contra los diversos ambientes adversos. Por eso, se considera preferible

seleccionar cepas probióticas que ya sean resistentes a las condiciones gastrointestinales, tecnológicas y de procesamiento de alimentos antes mencionadas. La aplicación de esta técnica en probióticos evita su degradación en el estómago, la liberación controlada en el intestino, la estabilidad en el almacenamiento y el mejoramiento de sus cualidades funcionales.

ENCAPSULACIÓN DE ADITIVOS PARA LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS

La encapsulación de aditivos para la industria de alimentos es una técnica considerada desde la antigüedad y crece su aplicación en la conservación de productos ali-

menticios al mantener su calidad organoléptica (25). Al estar encapsulados presentan mayor estabilidad a factores ambientales y limitan su interacción con otros ingredientes, para asegurar los efectos requeridos. En aditivos probióticos funcionales, la encapsulación brinda un mayor beneficio al propiciar que su liberación sea controlada.

La encapsulación se inició en 1930, con la utilización de materiales coloidales para desarrollar las copias sin papel carbón. El método más antiguo empleado en alimentos es el secado por aspersión, el cual comenzó encapsulando sabores en goma arábiga (25, 26). La selección del material de recubrimiento es el paso más importante para obtener un producto encapsulado porque, dependiendo de sus propiedades, se pueden cumplir los requerimientos de protección. El método de encapsulación se elige de acuerdo con la aplicación requerida, el tamaño de cápsula deseado, el material a encapsular, el costo y las propiedades físicas y químicas del recubrimiento.

Ventajas de la encapsulación de aditivos en la industria de alimentos

La industria de alimentos utiliza la técnica de encapsulación por diferentes razones (26):

- Disminuir la velocidad de evaporación o de transferencia del material central hacia el medio ambiente externo.
- Controlar la liberación del material central a condiciones predeterminadas, como el cambio de pH o humedad, la aplicación de calor o los estímulos físicos.
- Reducir la interacción entre el material central y el ambiente externo: algunos ingredientes son sensibles al calor, la luz y la humedad y otros son altamente reactivos y tienden a oxidarse y volatilizarse.
- Facilitar la manipulación del material central: la encapsulación convierte un líquido a estado sólido, además previene la agregación, favorece el proceso de mezclado y asegura que el material central se encuentre uniforme en la mezcla.
- Enmascarar el sabor del material central.

MICROENCAPSULACIÓN DE MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS

Existen algunos términos que se han empleado indistintamente en los últimos

años que son necesarios definir antes de abordar el tema de la microencapsulación. Dentro de estos se encuentran:

Inmovilización: Atrapar los microorganismos probióticos dentro o a través de una matriz, los cuales son cubiertos pero no necesariamente envueltos por la matriz, pudiendo existir exposición superficial de los mismos (27).

Encapsulación: Tecnología que envuelve y cubre completamente a los probióticos con una matriz sin que exista exposición superficial de los probióticos al medio externo.

Microencapsulación: Tecnología empleada para la envoltura de materiales sólidos, líquidos o gaseosos en pequeñas cápsulas que pueden liberar su contenido a una velocidad controlada bajo determinadas condiciones (2, 28). Es decir, las células son retenidas dentro de una matriz encapsulante o membrana.

Las células inmovilizadas o entrampadas fueron principalmente utilizadas en aplicaciones biotecnológicas, básicamente para mantener las células separadas de los metabolitos. Sin embargo, el proceso de microencapsulación ha sido aplicado para estabilizar las células, reforzar la viabilidad y estabilidad durante la producción, almacenamiento y manejo de los cultivos ácido lácticos (29). Resulta importante señalar que el tamaño de los microorganismos probióticos (1-5 μm) elimina la posibilidad de emplear nanotecnologías en su encapsulación.

Estructura de las microcápsulas

Las microcápsulas formadas en el proceso de microencapsulación son pequeñas partículas que contienen un agente activo rodeado por una cubierta o material pared. La misma está constituida por una membrana fuerte, delgada, esférica y semipermeable que envuelve a un núcleo sólido o líquido con un diámetro desde unas pocas micras a varios milímetros (7, 28). El tamaño y la forma de estas microcápsulas, dependen de los materiales y métodos usados para prepararlas. Ellas son producidas también en forma de gel suave (cápsulas de gel) o en forma de polvo seco. Existen diferentes tipos de microcápsulas, las cuales según su estructura las podemos clasificar (29) como:

- Sistema reservorio o capsular: El material activo se encuentra incluido en una

especie de reservorio, que puede ser de naturaleza líquida o sólida, el cual se haya envuelto por una fina película del material de recubrimiento.

- Sistema matricial: El material activo se encuentra altamente disperso en la matriz polimérica.

La morfología de la superficie de las cápsulas pueden ser lisa (regular y esférica) o irregular (desigual) con o sin presencia de poros, los cuales son los responsables de reducir la eficiencia de encapsulación (12).

Los ensayos que aseguran la calidad y homogeneidad de las microcápsulas son: características morfológicas (tamaño de partícula, estructura interna, densidad), rendimiento de producción, eficacia de encapsulación, contenido en material activo, estudio de liberación del material activo y estado físico e interacciones polímero-material activo.

Para analizar la morfología, se recurre a técnicas de microscopía óptica para determinar el tamaño y microscopía electrónica de barrido (MEB) que brinda información de su estructura interna y externa (29). En microencapsulación, mediante secado por aspersión se obtienen microcápsulas en estado de polvo seco y se cubren con oro para el análisis MEB (30).

La microestructura de una microcápsula influye en las características físicas y funcionalidad, dispersabilidad y capacidad de flujo libre (31, 32). Microcápsulas redondas u ovaladas tienen buena dispersabilidad y pueden ser más fácilmente distribuidas en el producto final.

En el caso de la encapsulación de probióticos, se debe tener en cuenta lo siguiente (33):

- El tamaño de partícula deseado oscila entre 15-100 μm , las microcápsulas mayores a 100 μm son detectables en la boca y las inferiores a 15 μm no dan la suficiente protección frente a los agentes externos.
- La técnica no debe emplear agentes externos agresivos que pudieran limitar la supervivencia de los microorganismos.
- Se requerirá, además, un bajo consumo energético, de forma que los costos de la técnica sean rentables industrialmente.

Material de encapsulación o recubrimiento

La elección del material de recubrimien-

to apropiado es el paso de partida en la encapsulación. Aunque se considera que el método de encapsulación puede afectar el mecanismo de liberación del material activo, también la formulación del recubrimiento constituye un factor definitorio (34). El material protector debe reunir ciertas propiedades que dependen de las características químicas del material encapsulado, la aplicación, las condiciones de almacenamiento y del proceso al cual será expuesto.

Las características de un recubrimiento ideal para encapsular (25) son: baja viscosidad a altas concentraciones, baja higroscopicidad para facilitar su manipulación y evitar la aglomeración, capacidad de emulsificar y estabilizar el material central, insoluble y no reactivo con el material central, el recubrimiento es soluble en los solventes alimenticios comunes o en el producto alimenticio final, máxima protección al material central contra condiciones adversas (luz, pH, oxígeno, humedad y otros ingredientes reactivos), liberación completa de solventes y otros materiales usados durante el proceso de encapsulación, sabor insípido y bajo costo.

En el caso de los microorganismos probióticos, normalmente se emplean como material de encapsulación polisacáridos de diferentes orígenes (tabla 2).

Tabla 2. Polisacáridos empleados en la encapsulación de probióticos

Origen	Polisacáridos
Algas marinas	κ -carragenano, alginato
Plantas	almidón y sus derivados, goma arábiga
Bacterias	gelano, xantano
Animales	quitosano
Proteínas animales	leche, gelatina

Alginato: Es un polisacárido aniónico, formado por residuos de los ácidos β -D-manurónico y α -L-gulurónico. En la encapsulación de probióticos se usa en concentraciones en el rango de 0,5-4 % (35-37). Las cápsulas de alginato tienen la ventaja de formar fácilmente matrices de gel alrededor de las células de probiótico, son seguras y biocompatibles con el organismo, baratas y las condiciones del proceso son simples y de fácil manejo.

Sin embargo, se han atribuido algunas desventajas a las cápsulas de alginato como dificultades en su aplicación a nivel industrial, susceptibilidad al ambiente ácido, con pérdida de su integridad y estabilidad mecánica, formación de poros en la superficie de la cápsulas y difusión relativamente rápida de la humedad (38). Estos defectos mencionados pueden ser eficientemente compensados al mezclar el alginato con otros compuestos poliméricos (almidón), al cubrir las cápsulas con otros componentes (quitosano) y al modificar su estructura utilizando varios aditivos (glicerol) (39).

K-Carrageno: Es un polisacárido neutral, compuesto por unidades repetidas de D-galactosa-4-sulfato y 3,6-anhidro-D-galactosa (7). La gelificación depende de la temperatura, pero para la formación de las cápsulas se necesita de KCl y CaCl₂ como soluciones de endurecimiento o para insolubilizar el polímero. Este polisacárido es comúnmente utilizado como aditivo alimenticio, pero nuevas evidencias demostraron su inducción en neoplasia intestinal e inflamación (40).

Quitosano: Es un polisacárido lineal, molécula policatiónica obtenida mediante desacetilación alcalina de la quitina (41). Se disuelve fácilmente a pH ácido por lo que con frecuencia se emplea en combinación con otro polímero que soporte el pH del estómago (27). Una vez que alcanza el intestino delgado es degradado por la microbiota endógena.

Almidón: El almidón de maíz nativo contiene aproximadamente 25 % de amilosa y 75 % de amilopectina. La amilosa forma una cubierta que es resistente a los ácidos gástricos y a las enzimas pancreáticas. Los almidones con alto contenido de amilosa forman películas fuertes, resistentes y más flexibles, pero es difícil de dispersar en agua y puede gelificar muy rápidamente (29). Estos almidones tienen la ventaja de ser seguros, no tóxicos y de fácil disponibilidad.

Goma arábiga: Es una mezcla de diversos polisacáridos muy relacionados, formada por una cadena principal de restos β-D-galactopiranosilo (42). Es extremadamente soluble en agua y la viscosidad de las soluciones varía fuertemente con el tipo de goma arábiga, pH y la fuerza iónica, pero se alcanza una viscosidad máxima a pH entre 6 y 7 (43, 44). Actúa como coloide protector y excelente emulsificador, aspecto importante para el secado por atomización.

Métodos de encapsulación

Para la preparación de las microcápsulas existen numerosos métodos y la selección del mismo para encapsular depende de los costos, el tamaño de la cápsula, las propiedades físicas y químicas de los materiales, la aplicación y el mecanismo de liberación deseado.

La encapsulación ha sido aplicada a diversos campos (medicina, industria alimentaria, industria farmacéutica, agricultura, cosmética, etc.). Los métodos de mayor aplicación en la industria de alimentos (25) corresponden y se clasifican en:

- Métodos físicos: Secado por aspersión, enfriamiento por aspersión, liofilización, recubrimiento por lecho fluidizado, extrusión, co-extrusión, extrusión-fusión, cocrystalización.
- Métodos físico-químicos: Coalescencia, inclusión molecular, encapsulación por liposomas.

La tecnología de encapsulación de probiótico puede ser dividida en dos partes, microencapsulación de probiótico en las soluciones de encapsulación y secado de la solución de encapsulación para alcanzar gránulos o polvos de células encapsuladas. Particularmente, para la microencapsulación de microorganismos probióticos se detallan las metodologías empleadas con éxito, cuyas técnicas antes del paso de microencapsulación describen la obtención de un cultivo de probiótico crecidos en condiciones óptimas, el cual es centrifugado y empleado en forma de suspensión o polvo liofilizado para su posterior micro-encapsulación.

Metodologías de microencapsulación de probiótico

a) Método de extrusión o goteo

Este método consiste en producir pequeñas gotas de material encapsulado forzando el paso de una solución a través de una aguja de jeringa o de una boquilla en los dispositivos generadores de goteo (27). De esta manera, los microorganismos son adicionados a una solución hidrocoloide, cuya suspensión se hace gotear sobre una solución de endurecimiento, la cual va a variar en dependencia del material empleado.

El tamaño de las cápsulas obtenidas va a depender del diámetro de salida de la solución porque mientras menor sea el diámetro de la aguja/boquilla menor será el tamaño

de las cápsulas. Es una técnica ampliamente utilizada para la encapsulación de probióticos (45 - 47), aunque presenta algunas desventajas que se pueden observar en la tabla 3.

b) Método de emulsión o sistemas de dos fases

El método de emulsión posee una fase continua y una dispersa para formar la emulsión, seguida de una etapa de separación donde la fase dispersa encapsula la bacteria probiótica como material activo (27, 41).

Esta metodología es aplicada a los microorganismos probióticos al realizar una fase dispersa que consiste en un volumen pequeño de una solución polimérica con células microbianas en suspensión, el cual se añade a un volumen mayor de aceite vegetal (aceite de soja, girasol o maíz) para formar la fase continua y esta mezcla es homogeneizada hasta desarrollar una emulsión de agua en aceite. El polímero hidrosoluble en esta emulsión se hace insoluble producto del entrecruzamiento que se produce para formar las cápsulas dentro de la fase oleosa (41), cuyo agente de entrecruzamiento a utilizar depende del tipo de polímero. Al respecto, se ha publicado el empleo de una solución de cloruro cálcico cuando el polímero es alginato (48) y para el polímero κ -carrageno el entrecruzante cloruro potásico (49). Finalmente, las cápsulas se colectan mediante filtración o centrifugación.

Este método presenta como ventajas la formación de cápsulas mucho más pequeñas que las obtenidas por el método de extrusión que es una característica deseable, es un proceso fácil de escalar a nivel industrial y la distribución del tamaño de partícula puede ser controlada por parámetros como la velocidad de agitación y homogeneización. Por otra parte, presenta algunas desventajas en su aplicación en la industria alimentaria, debido a que el aceite residual presente en las cápsulas perjudica la textura y propiedades organolépticas del alimento y, además, el aceite residual, los emulsificantes y surfactantes utilizados, pueden ser tóxicos para determinadas células (28). También se requieren más costos por la necesidad de usar aceites vegetales y de añadir un paso más al proceso para eliminar estos residuos.

c) Método de secado por atomización o desecación por atomización

La atomización o aspersión es un método que comúnmente se utiliza en la industria alimenticia y consiste en atomizar aire caliente en una suspensión o emulsión homogeneizada de probióticos en la matriz del material encapsulante, para lograr una rápida evaporación del solvente (agua) y obtener los probióticos encapsulados en forma de partículas de polvo (7, 27).

El proceso de atomización es controlado mediante la alimentación del producto, el flujo de aire y la temperatura. Se emplea

Tabla 3. Ventajas y desventajas de la aplicación del método de extrusión en la encapsulación de microorganismos probióticos

Ventajas	Desventajas
• Proceso simple y barato.	• Forma diámetros de partículas de larga distribución (2-5 mm).
• El material encapsulado es completamente cubierto y protegido.	• Difícil de producir a gran escala por lenta formación de microcápsulas.
• Se emplean operaciones gentiles que minimizan las lesiones de las células.	• Microcápsulas pobremente cargadas (8 %).
• Supervivencia de micro-organismo entre 80-95 %.	• Susceptibilidad de los carbohidratos hacia daños y defectos estructurales.
• No emplea disolventes perjudiciales para las bacterias.	• Limitada la selección del material de pared.

una variedad de materiales para la encapsulación, aunque normalmente se utilizan polisacáridos (7).

Este método permite la posibilidad de establecer esta tecnología como un proceso continuo, su facilidad de manejo y su bajo costo son características idóneas y de gran ventaja para su aplicación en procesos industriales. Por otro lado, existen inconvenientes relacionados con las altas temperaturas empleadas en el proceso para la evaporación del solvente, las cuales pueden afectar la supervivencia de determinadas cepas probióticas (27, 28). No obstante, existe un gran número de investigaciones basadas en este método que reportan resultados satisfactorios con mínimas pérdidas de viabilidad, lo cual indica que hay dos factores claves y determinantes para el éxito del secado por atomización: el tipo de materiales utilizados para encapsular y proteger a los microorganismos probióticos que involucran sus propiedades físico-químicas y la optimización de los parámetros utilizados en el secado. Adicionalmente, se ha demostrado una mayor estabilidad de los cultivos probióticos encapsulados durante el almacenamiento prolongado cuando se aplica la tecnología de secado.

MECANISMOS DE LIBERACIÓN DEL MATERIAL ACTIVO

En el caso de los probióticos, el material activo consiste en células viables de los microorganismos probióticos a encapsular con el material de recubrimiento, el cual debe ofrecer algún mecanismo de liberación del material activo a un tiempo determinado. Los principales mecanismos de liberación que se aplican en el sector de alimentos son los siguientes:

- Disolución o fusión: La integridad de la cápsula se destruye por disolución en un solvente apropiado o por acción del calor. Los recubrimientos hidrosolubles se disuelven fácilmente con el incremento de la humedad, la adición de agentes químicos o con el ajuste a diferentes niveles de sales (26). La liberación térmica se utiliza en cápsulas con material protector de base grasa, el cual funde y libera el centro activo (50).
- Liberación física: El material protector se fractura por fuerzas externas como presión

o fricción. La masticación es el principal mecanismo de liberación; igualmente, durante la mezcla de las materias primas se presenta la liberación por fricción (50).

- Difusión: Este proceso de liberación es guiado por el gradiente de concentración y las fuerzas atractivas entre cadenas, como puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals, grado de entrecruzamiento y cristalinidad (26). Además, está controlado por la solubilidad y la permeabilidad del material activo en el material protector (51).

La liberación del contenido de las microcápsulas se puede llevar a cabo por disolución en agua, esfuerzos de cizalla, temperatura, reacciones químicas y enzimáticas o por cambios en la presión osmótica. No obstante, esta liberación puede controlarse por difusión a través de la pared de la microcápsula o bien por medio de una membrana que recubra la pared (1, 33).

En los métodos físicos de encapsulación se busca la formación de una estructura amorfa metaestable, de baja permeabilidad al compuesto encapsulado, al oxígeno y otros compuestos y con alta temperatura de transición vítrea (26). La permeabilidad del material protector cambia al someterse a condiciones específicas de temperatura y humedad. Los principios físico-químicos de la transición vítrea de estos materiales han demostrado que la liberación del centro activo se presenta en la transición del estado vítreo a estado gomoso, por calentamiento de la matriz. El material central se libera por difusión a una velocidad que aumenta con el incremento de la temperatura. La estabilidad de la cápsula depende de que su temperatura de transición sea superior a la temperatura de almacenamiento (25).

Según Lozano (29), el estudio de liberación *in vitro* del material activo a partir de las microcápsulas es muy importante, cuya liberación está gobernada por factores dependientes del polímero (insoluble, solubilidad pH-dependiente, peso molecular, estado cristalino), del material activo (solubilidad y peso molecular) y de la propia microcápsula (estructura interna reservorio o matricial y el contenido teórico del material activo con respecto al polímero). Para el estudio de liberación se puede utilizar el procedimiento especificado por la USP (Farmacopea Norteamericana), métodos de flujo, agitación de viales, membranas de diálisis, entre otros. Las microcápsulas son incubadas en el medio y se deter-

mina su liberación con el tiempo. La permeabilidad a través de la matriz y la solubilidad de los componentes de la pared de la cápsula influyen en la velocidad de difusión. También es importante la naturaleza química, morfológica, la temperatura de transición, el grado de hinchamiento y de entrecruzamiento de los componentes de la cubierta, ya que pueden disminuir la velocidad de liberación (33).

IMPORTANCIA DE LA APLICACIÓN DE LA MICROENCAPSULACIÓN DE PROBIÓTICOS

Dentro de los aditivos encapsulados en la industria de alimentos se enumeran a los microorganismos probióticos (52 - 54). Las aplicaciones y ventajas de los probióticos microencapsulados han sido enfocadas en diferentes líneas de investigación: producción de cultivos iniciadores, producción de productos alimenticios, viabilidad de las células probióticas en el tracto gastrointestinal, aplicación en fermentadores, aplicación de nuevos métodos en la elaboración de alimentos y mejoramiento de las propiedades sensoriales de productos probióticos (12).

Teniendo en cuenta los aspectos anteriores, se ha observado que la microencapsulación puede ser usada eficientemente para la preparación de cultivos iniciadores de bacterias con más alta viabilidad y que la vida de anaquel de las células encapsuladas se incrementa y pueden ser directamente ingeridas en los productos y consumidas (55, 56). Varias investigaciones confirman que la microencapsulación incrementa eficientemente la viabilidad de los probióticos durante el paso por el tracto gastrointestinal en presencia de condiciones enzimáticas, sales biliares y acidez (12, 47, 57).

Su aplicación en fermentadores ha reportado ventajas durante la producción de biomasa que incrementa la tolerancia de microorganismos contra la infección de bacteriófago (58), toxicidad de agentes químicos, protege las células de los microorganismos contra cambios no deseados como mutaciones genéticas, se alcanza buena productividad en la producción de metabolitos especialmente a altas velocidades de agitación (59) y se produce más densidad de biomasa (60). En productos alimenticios, la microencapsulación puede marcadamente mejorar la viabilidad de los probióticos y la vida de anaquel, debi-

do a su efecto protector contra factores medioambientales (elevada acidez, bajo pH, presencia de oxígeno, agentes tóxicos generados durante el proceso, principalmente tratamiento con calor, enzimas digestivas, bacteriófagos y procesos de secado (61 - 63).

Las nuevas formas alcanzadas para la elaboración de alimentos probióticos lácteos, mediante la aplicación de la encapsulación de células probióticas, permiten que estas puedan tener velocidades deseables de actividad metabólica celular. De hecho, se han comparado los métodos de encapsulación con los tradicionales para la producción de yogur, lo cual ha favorecido sus propiedades sensoriales, muy altas viabilidades de las bacterias del yogur y control de los sabores del producto con menos acidez, debido a una baja producción de ácido láctico (41, 64).

CONCLUSIONES

La encapsulación es una técnica muy útil para la protección de los aditivos utilizados en la industria de alimentos y en específico para los productos probióticos. Esta técnica se emplea para la prolongación de la vida útil del producto, fortificación y liberación controlada de nutrientes en el sitio de acción, disminución de la higroscopicidad, transformación de líquidos a polvos, estabilización durante el almacenamiento y transporte a condiciones extremas de temperatura y humedad, mejoramiento de temperatura, humedad, cualidades organolépticas y funcionales de productos alimenticios y limitación de la oxidación e interacción con otros ingredientes.

La tendencia de las investigaciones recientes se centra en la generación de nuevos métodos de encapsulación apropiados, selección de materiales de recubrimiento seguros y efectivos, así como cepas bacterianas potentes que garanticen las condiciones de protección requeridas para distintos aditivos encapsulados, que permitieron obtener mayores aplicaciones en el sector de alimentos y novedosos productos funcionales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pedroza, R. Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los procesos para

- la microencapsulación de alimentos para larvas de especies acuícolas. En: Cruz-Suárez, L. E.; Ricque, D.; Tapia, M., Gaxiola, M. G.; Simoes, N. (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.
2. Champagne, C. P.; Fustier, P. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Current Opinion Biotechnol* 18(2): pp. 184-190, 2007.
3. Picot, A.; Lacroix, C. Encapsulation of bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *Int Dairy J*, 14: pp. 505-515, 2004.
4. Crittenden, R.; Weerakkody, R.; Sanguansri, L.; Augustin, M. Synbiotic microcapsules that enhance microbial viability during nonrefrigerated storage and gastrointestinal transit. *Appl Environm Microbiol* 72(3): pp. 2280-2282, 2006.
5. Islam, M.A., Yun, C.H., Choi, Y.J., Cho, C.S. Microencapsulation of live probiotic bacteria. *J Microbiol Biotechnol* 20 (10): pp. 1367-1377, 2010.
6. Annan, N.T.; Borza, A. D.; Truelstrup, L. Encapsulation in alginate-coated gelatin microspheres improves survival of the probiotic *Bifidobacterium adolescentis* 15703T during exposure to simulated gastro-intestinal conditions. *Food Res Int* 41(2): pp. 184-193, 2008.
7. Rokka, S.; Rantamäki, P. Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. *Eur. Food Technol*. 231: pp. 1-12, 2010.
8. Goderska, K.; Czarnecki, Z. Influence of microencapsulation and spray drying on the viability of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Polish J Microbiol* 7(2): pp. 135-140, 2008.
9. Mokarram, R. R.; Mortzavi, S. A.; Habibi, M. B.; Shahidi, F. The influence of multi stage alginate coating on survivability of potencial probiotic bacteria in simulated gastric and intestinal juice. *Food Res Int* 42: pp. 1040-1045, 2009.
10. Nur, M. A. Enhancement of probiotics survival by microencapsulation with alginate and prebiotics. *MMG 445 Basic Biotechnol* 6: pp. 13-18, 2010.
11. Sabikhi, L.; Babu, R.; Thompson, D. K.; Kapila, S. Resistance of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* LA1 to processing treatments and simulated gut conditions. *Food Bioprocess Technol*. 3: pp. 586-593, 2010.
12. Mortazavian, A.; Razavi, S. H.; Ehsani, M. R.; Sohrabvandi, S. Principles and methods of microencapsulation of probiotic microorganisms. *Iranian J Biotechnol* 5(1): pp. 1-18, 2007.
13. FAO/WHO. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ont. Canada, 2002.
14. Isolauri, E.; Salminen, S.; Ouwehand, A.C. Probiotics. *Best Practice Res Clin Gastroenterol* 18: pp. 299-313, 2004.
15. Delcenserie, V.; Martel, D.; Lamoureux, M.; Amiot, J.; Boutin, Y.; Roy, D. Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract. *Current Issues Molec Biol* 10: pp. 37-54, 2008.
16. Ohashi, Y.; Ushida, K. Health-beneficial effects of probiotics: Its mode of action. *Animal Sci J* .80: pp. 361-371, 2009.
17. Kailasapathy, K. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. *LWT* 39: pp. 1221-1227, 2006.
18. Kullisaar, T.; Zilmer, M.; Mikelsaar, M.; Vihalemm, T.; Annuk, H.; Kairane, C. Two antioxidative lactobacilli strains as promising probiotics. *International J Food Microbiol* 72 (3): pp. 215-224, 2002.
19. Gismondo, M. R.; Drago, L.; Lombardi, A. Review of probiotics available to modify gastrointestinal flora. *Int J Antimicrobial Agents* 12(4): pp. 287-292, 1999.
20. Anal, A. K.; Singh, H. Recent advances in microencapsulation of ptobiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends Food Sci Technol* 18: pp. 240-251, 2007.
21. Shah, N. P. Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. *J Dairy Sci* 83(4): pp. 894-907, 2000.
22. Stanton, C.; Desmond, C.; Coakley, M.; Collins, J. K.; Fitzgerald, G.; Ross, R. P. Challenges facing development of probiotic-containing functional foods. *Handbook of Fermented Functional Foods*: pp. 27-58, 2003.

23. Haller, D.; Colbus, H.; Ganzle, M. G.; Scherenbacher, P.; Bode, C.; Hammes, W. P. Metabolic and functional properties of lactic acid bacteria in the gastro-intestinal ecosystem: A comparative in vitro study between bacteria of intestinal and fermented food origin. *Systematic Appl Microbiol* 24 (2): pp. 218-226, 2001.
24. Ahn, J. B.; Hwang, H. J.; Park, J. H. Physiological responses of oxygen tolerant anaerobic *Bifidobacterium longum* under oxygen. *J Microbiol Biotechnol* 11: pp. 443-451, 2001.
25. Nag, A. Development of microencapsulation technique for probiotic bacteria *Lactobacillus casei* 431 using a protein-polysaccharide complex. Thesis for the grade of Masters in Food Technology, Massey University, New Zealand, 2011.
26. Sandoval, A.; Rodríguez, E.; Ayala, A. Encapsulación de Aditivos para la Industria de Alimentos. *Ingeniería y Competitividad* 5 (2): pp. 73-83, 2004.
27. De Vos, P.; Faas, M. M.; Spasojevic, M.; Sikkema, J. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *Int Dairy J* 20 (4): pp. 292-302, 2010.
28. Jiménez, M. L. Microorganismos probióticos encapsulados en polímeros microbianos: evaluación de la capacidad protectora de la encapsulación para su administración oral. Tesis en opción al grado de Doctor, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, España, 2010.
29. Kailasapathy, K. Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications. *Current Issues Intestinal Microbiol* 3 (2): pp. 39-48, 2002.
30. Lozano, M. Obtención de micro-encapsulados funcionales de zumo de opuntia stricta mediante secado por atomización. Tesis de grado por el título de Ingeniería Técnica Industrial, especialidad en Química Industrial, Universidad Politécnica de Cartagena, 2009.
31. Zhao, R.; Sun, J.; Torley, P.; Wang, D.; Niu, S. Measurement of particle diameter of *Lactobacillus acidophilus* microcapsule by spray drying and analysis on its microstructure. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24: pp. 1349-1354, 2008.
32. Moreau, D. L. Physical properties and porosity of whey protein based microcapsules. UMI Company, Michigan 22-26, 41-43, 156-159, 1991.
33. Martín, M. J.; Morales, M. E.; Gallardo, V.; Ruiz, M. A. Técnicas de micro-encapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. *Ars Pharm* 50 (1): pp. 43-50, 2009.
34. Dewettinck, K.; Messens, W.; Deroo, L.; Huyghebaert, A. Agglomeration tendency during top-spray fluidized bed coating with gelatin and starch hydrolysate LWT - Food Sci Technol 32 (2): pp. 102-106, 1999.
35. Chan, L. W.; Lim, L. T.; Heng, P. W. Microencapsulation of oils using sodium alginate. *J Microencapsul.* 17 (6): pp. 757-766, 2000.
36. Sultana, K.; Godward, G.; Reynolds, N.; Arumugaswamy, R.; Peiris, P.; Kailasapathy, K. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *Int J. Food Microbiol.* 62: pp. 47-55, 2000.
37. Truelstrup, L.; Allan, P. M.; Jin, Y. L.; Paulson, A. T. Survival of free and calcium-alginate microencapsulated *Bifidobacterium* spp. in simulated gastro-intestinal conditions. *Food Microbiol.* 19: pp. 35-45, 2002.
38. Krasaekoopt, W.; Bhandari, B.; Deeth, H. The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. *Int. Dairy J* 14: pp. 737-743, 2004.
39. Cho, Y.H., Park, J. Characteristics of double encapsulated flavor powder prepared by secondary fat coating process. *J Food Sci* 67 (3): pp. 968-973, 2002.
40. Gouin, S. Microencapsulation-industrial appraisal of existing technologies and trend. *Trends Food Sci. Technol.* 15: pp. 330-347, 2004.
41. Krasaekoopt, W.; Bhandari, B.; Deeth, H. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *Int Dairy J.* 13: pp. 3-13, 2003.
42. Vårum, K. M. y Smidsrød, O. Chitosans. In: Stephen AM, Phillips GO, Williams PA (eds) *Food polysaccharides and their applications*, 2nd edn. Taylor and Francis, Boca Raton, FL, pp. 497-520, 2006.
43. Dimantov, A.; Greenberg, M.; Kesselman, E. Study of high amylase corn starch as food grade enteric coating in a microcap-

- sule model systems. *Innov. Food Sci. Eng. Technol.* 5: pp. 93-100, 2003.
44. Verbeke, D.; Dierckx, S.; Dewettinck, K. Exudate gums: occurrence, production, and applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 63: pp. 10-21, 2003.
 45. Motlagh, S.; Ravines, P.; Karamallah, K. A.; Ma, Q. The analysis of Acacia gums using electrophoresis. *Food Hydrocolloids* 20: pp. 848-854, 2006.
 46. Williams, P. A.; Phillips, G.O.; Stephen, A.M.; Churms, S.C. Gums and Mucilages. In: *Food polysaccharides and their applications*, 2nd edn. 2006. pp. 455-495.
 47. Chandramouli, V.; Kailasapathy, K.; Peiris, P.; Jones, M. An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect *Lactobacillus* spp. in simulated gastric conditions. *J Microbiol Methods* 56(1): pp. 27-35, 2004.
 48. McMaster, L. D.; Kokott, S. A.; Reid, S. J.; Abratt, V. Use of traditional African fermented beverages as delivery vehicles for *Bifidobacterium lactis* DSM 10140. *Int J Food Microbiol* 102(2): pp. 231-237, 2005.
 49. Krasaekoopt, W.; Bhandari, B.; Deeth, H. C. Survival of probiotics encapsulated in chitosan-coated alginate beads in yoghurt from UHT and conventionally treated milk during storage. *LWT* 39(2): pp. 177-183, 2006.
 50. Sheu, T. Y. y Marshall, R. T. Microentrapment of lactobacilli in calcium alginate gels. *J Food Sci* 58(3): pp. 557-561, 1993.
 51. Adhikari, K.; Mustapha, A.; Grun, I. U. Survival and metabolic activity of microencapsulated *Bifidobacterium longum* in stirred yogurt. *J Food Sci* 68(1): pp. 275-280, 2003.
 52. Glicksman, M. *Food Hydrocolloids*, 1, CRC Press, New York: Boca Raton, pp. 86-89, 1982.
 53. Dewettinck, K., et al. Agglomeration tendency during Top-Spray fluidized bed coating with gums. *LWT* 31 (6): pp. 576-584, 1998.
 54. Favaro, C. S. y Grosso, C. R. Microencapsulation of *L. acidophilus* (La-05) and *B. lactis* (Bb-12) and evaluation of their survival at the pH values of the stomach and in bile. *J Microencapsulation*, 19 (4): pp. 485-494, 2002.
 55. Kailasapathy, K. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. *LWT* 39 (10): pp. 1221-1227, 2006.
 56. Favaro, C. S.; de Pinho, S. C.; Aguiar, G. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. *Braz. J. Food Technol.* 11(2): pp. 103-112, 2008.
 57. Mattila, T.; Myllarinen, P.; Crittenden, R.; Mogensen, G.; Fonden, R.; Saarela, M. Technological challenges for future probiotic foods. *Int Dairy J* 12(2-3): pp. 173-182, 2002.
 58. Picot, A. y Lacroix, C. Effect of dynamic loop mixer operating conditions on O/W emulsion used for cell encapsulation. *Le Lait* 83: pp. 237-250, 2003.
 59. Lee, K. Y. y Heo, T. R. Survival of *Bifidobacterium longum* immobilized in calcium alginate beads in simulated gastric juices and bile salt solution. *Appl Environm Microbiol* 66 (2): pp. 869-873, 2000.
 60. Steenson, L. R.; Klaenhammer, T. R.; Swaisgood, H. E. Calcium alginate-immobilized cultures of lactic Streptococci are protected from attack by lytic bacteriophage. *J Dairy Sci.* 70: pp. 1121-1127, 1987.
 61. Arnauld, J. P.; Laroix, C.; Choplin, L. Effect of agitation rate on cell release rate and metabolism during continues fermentation with entrapped growing *Lactobacillus casei* subsp. *casei*. *Biotech Tech.* 6: pp. 265, 1992.
 62. Champagne, C. P.; Morin, N.; Couture, R.; Gagnon, C.; Jelen, P.; Lacroix, C. The potential of immobilized cell technology to produce freeze-dried, phage-protected cultures of *Lactococcus lactis*. *Food Res Int.* 25: pp. 419-427, 1992.
 63. Mortazavian, A. M.; Ehsani, M. R.; Mousavi, S. M.; Reinheimer, J. A.; Emamdjomeh, Z.; Sohrabvandi, S.; Rezaei, K. Preliminary investigation of the combined effect of heat treatment incubation temperature on the viability of the probiotic microorganisms in freshly made yoghurt. *Int. J. Dairy Technol.* 59: pp. 8-11, 2006a.
 64. Mortazavian, A. M.; Sohrabvandi, S.; Mousavi, S. M.; Reinheimer, J. A. Combined effects of heating variables on the viability of Probiotic microorganisms in yogurt. *Aust. J. Dairy Technol.* 61: pp. 248-252, 2006b.

Líquidos iónicos para la transformación de biomasa lignocelulósica

Daisy Dopico-Ramírez, Yelenys Hernández-Corvo, Vivian León-Fernández,
Eduardo Bordallo-López
Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar
CP 33 500, Quivicán, Mayabeque, Cuba.
email: daisydopico@yahoo.com

RESUMEN

Se ofrece una introducción a los compuestos denominados líquidos iónicos: evolución histórica, peculiaridades físico-químicas, relación estructura/propiedades con el poder disolvente y su aplicación en el fraccionamiento de los componentes del material lignocelulósico. Se reporta la obtención de celulosa, lignina, azúcares fermentables, hidroximetilfurfural y otros derivados, mediante procesos compatibles con el medio ambiente basados en el uso de los líquidos iónicos.

Palabras clave: Líquidos iónicos, material lignocelulósico, celulosa, lignina, hidroximetilfurfural.

ABSTRACT

In this paper an introduction about the so-called ionic-liquids compounds is presented. The review comprises: historical evolution, physicochemical characteristics, the relation between structure/properties with the solvent power and its application in the separation of lignocellulosic biomass components. On the other hand, it is reported the obtainment of cellulose, lignin, fermentable sugars, hydroxymethylfurfural and other derivatives by means of ecologically friendly processes based on the use of ionic liquids as well.

Keywords: ionic liquids, lignocellulosic biomass, cellulose, lignin, hydroxymethylfurfural.

INTRODUCCIÓN

La crisis energética iniciada en 1973 disminuyó la oferta de petróleo e incrementó su precio, lo cual ha obligado a racionalizarlo y a buscar fuentes alternativas para la obtención de energía y productos químicos (1). Se estima que para 2025 el 30 % de la materia

prima para la industria química sea obtenida a partir de fuentes renovables. Dentro de estas, la biomasa lignocelulósica es el candidato más atractivo por su abundancia, su naturaleza renovable y ecológica. Sin embargo, presenta una estructura compleja (2), donde sus tres componentes principales (celulosa, lignina y hemicelulosa) se encuen-

tran estrechamente unidos mediante interacciones por puentes de hidrógeno inter e intramoleculares, que provocan una alta cohesión macromolecular responsable de la alta dificultad para disolverlos y aislarlos por métodos convencionales. Esto ha conducido al desarrollo de disolventes y tecnologías más eficientes para la conversión de biomasa, lo que ha sido reconocido como un gran desafío para la comunidad científica mundial.

Uno de los caminos más novedosos para la obtención de bioproductos a partir del material lignocelulósico (MLC) son las tecnologías basadas en los líquidos iónicos (LI) (3). Estos compuestos poseen propiedades únicas en comparación con los solventes tradicionales, entre ellas una muy baja presión de vapor, con lo que se evitan las emisiones atmosféricas al eliminar pérdidas de disolvente por evaporación. Poseen, además, una estabilidad térmica relativamente alta, baja inflamabilidad y posibilidad de reciclaje, con lo que se contribuye a la reducción de residuos. De acuerdo con la aplicación deseada se pueden diseñar mediante la adecuada selección del catión y el anión (4).

El objetivo de este trabajo es ofrecer una panorámica sobre los LI, principales propiedades y sus aplicaciones en la transformación del MLC.

HISTORIA

La historia de los LI comienza desde los inicios del siglo pasado (1914), cuando Paul Walden reportó el punto de fusión del nitrato de etilamonio entre 13-14°C. En 1934 se

conoció la disolución de la celulosa en un LI base piridina y en 1948 fue reportado un LI con anión cloroaluminato. En 1967 se reportó un estudio sobre la sal líquida benzoato de tetrahexilamonio (5). Posteriormente, en los años 70 se realizaron investigaciones sobre las propiedades espectroscópicas y electroquímicas (6). En 1992 se divulgó una nueva generación de compuestos (7) formados por el catión 1-etil-3-metimidazolio. A partir de ese momento, se han utilizado como solventes en catálisis (8), síntesis (9) y como electrolitos (10).

El interés de los científicos y la industria por los LI se ha incrementado rápidamente en todo el mundo, demostrado por el acelerado número de publicaciones y patentes sobre estos compuestos (11). En 2002, se informó (12) que los LI son eficaces solventes para la disolución de la celulosa. Este trabajo es uno de los más citados en la literatura. Desde entonces, se han logrado avances significativos en la separación de los componentes del MLC (13 - 17).

Líquidos iónicos. Propiedades físico-químicas

Los LI son sales formadas por cationes orgánicos y aniones orgánicos o inorgánicos, su característica particular es que presentan bajo punto de fusión, generalmente menor que 100 °C. Según la denominación actual, toda sal con punto de fusión inferior a esta temperatura, es conocida como un LI, aunque son reconocidas como tal otras sales con temperaturas de fusión superiores. Estos

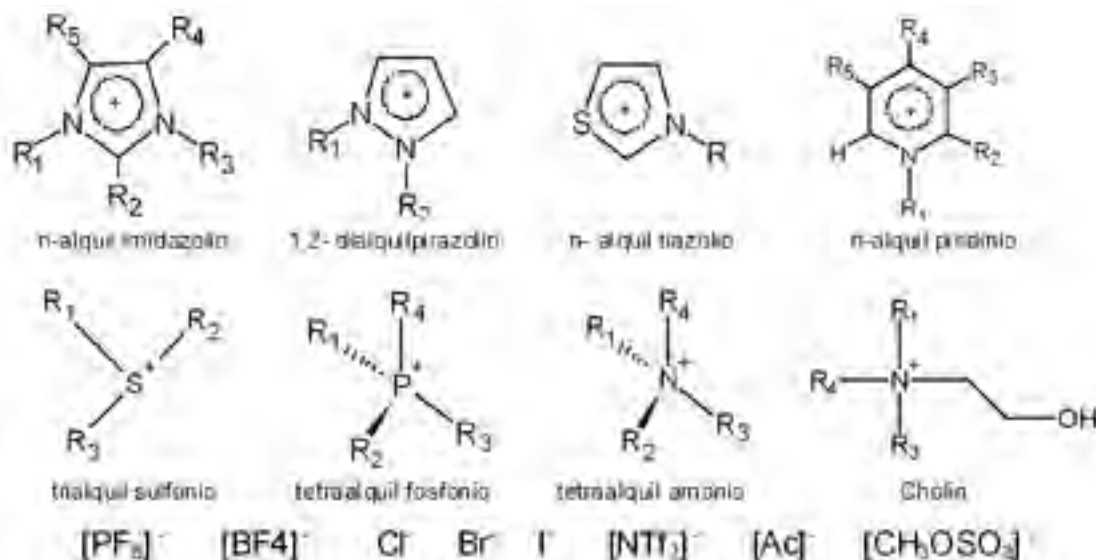


Figura 1. Algunos cationes y aniones presentes en los LI.

compuestos también se conocen como: fluido iónico, sal fundida o solvente neotérico (13, 18). En la figura 1 se muestran las estructuras de algunos cationes y aniones.

En comparación con los solventes tradicionales, estos compuestos poseen excelentes propiedades físico-químicas, que varían según el anión y el catión. Estas se pueden resumir de la siguiente manera (4, 13):

- Bajo punto de fusión.
- Presión de vapor despreciable.
- Alta estabilidad térmica y química.
- Capacidad de disolver compuestos orgánicos, inorgánicos y poliméricos.
- Viscosidad variable.
- No inflamables y bajo poder de corrosión.
- Potentes catalizadores.
- Fácilmente reciclables.
- Es posible diseñar su estructura y propiedades según las diversas aplicaciones prácticas.

Las sales tradicionales están compuestas por iones pequeños y simétricos que tienen una alta densidad de carga y pueden ser empaquetados en una red cristalina, por lo que el punto de fusión es alto ($\text{NaCl} \sim 800^\circ\text{C}$). Cuando se obtiene un LI, el tamaño de los iones aumenta por lo que la densidad de carga es menor, el empaquetamiento en la red cristalina se ve afectado y disminuye su punto de fusión. Por ejemplo, cuando se sustituye el sodio por 1-butil-3-metilimidazolio $[\text{BMIM}]^+$ el punto de fusión disminuye hasta cerca de 80°C . En el caso de los aniones, se observa un comportamiento similar (tabla 1).

La viscosidad es una propiedad importante al considerar la posible aplicación de estos, ya que cuando la viscosidad se incrementa es necesario aumentar la temperatura para lograr la disolución, lo que puede pro-

vocar efectos no deseados como degradación del LI y del material a disolver. Un método efectivo para reducir la viscosidad de estos compuestos es el uso de un co-solvente (19).

El contacto directo y la ingestión constituyen las únicas vías posibles de exposición a los LI, debido a su volatilidad insignificante. Aunque la información reportada es insuficiente, los ensayos realizados han demostrado que algunos de estos compuestos pueden ser tóxicos y otros inofensivos y biodegradables. Algunos cloruros de alquil-imidazolio, que son buenos disolventes de la celulosa, presentan una toxicidad relativamente moderada. Una mejor alternativa a los haluros es el uso de acetatos como el acetato de 1-etil-3-metil-imidazolio, que es considerado biodegradable, no tóxico y no corrosivo (20).

Existen datos limitados con respecto a la miscibilidad de los LI con otros solventes, este conocimiento es necesario para poder realizar la separación efectiva y purificación de los productos. En general, estos compuestos son miscibles con solventes polares, mientras que con solventes de baja polaridad, como acetato de etilo, muestran solubilidad variable en función de sus propiedades (21).

El reciclaje de los LI es imprescindible debido a su precio elevado. Otro problema asociado con ellos es su separación de las mezclas de reacción. Se ha demostrado la posibilidad de extraer una gran variedad de componentes de la mezcla MLC-LI con CO_2 supercrítico (22) y otros solventes.

Separación de los componentes principales del MLC

Desde el siglo XIX se ha utilizado el MLC para obtener derivados, mediante procesos que consumen altos índices de energía y/o sustancias químicas contaminantes. A pesar de que la comunidad científica ha estado

Tabla 1. Propiedades físicas de algunos LI base imidazolio y piridinio (4, 15)

Catión	Anión	Temperatura de fusión ($^\circ\text{C}$)	Temperatura de degradación ($^\circ\text{C}$)	Viscosidad (cP) a 20°C
$[\text{C}_2\text{mim}]$	$[\text{Cl}]$	89	285	-
$[\text{C}_2\text{mim}]$	$[\text{NTf}_2]$	-15	455	34
$[\text{C}_4\text{mim}]$	$[\text{Cl}]$	65	254	-
$[\text{C}_4\text{mim}]$	$[\text{NTf}_2]$	-2	422	52
$[\text{C}_4\text{Py}]$	$[\text{Cl}]$	130-131	-	-
$[\text{C}_6\text{Py}]$	$[\text{NTf}_2]$	0	392	80 (25°C)

Nota. (-) valores no informados.

involucrada en la búsqueda de nuevos solventes y tecnologías eficientes para la disolución y separación de los componentes de este material, en la actualidad no existe una tecnología que satisfaga los requerimientos tanto económicos como medioambientales. Los LI, por sus propiedades relevantes, constituyen una nueva generación con enorme potencial en este campo.

El poder de disolución de estos compuestos sobre la biomasa lignocelulósica depende fundamentalmente del tipo de material, temperatura y tiempo de disolución, relación estequiométrica con el soluto, humedad, viscosidad y tamaño de partículas. A pesar de que se reportan varios LI capaces de disolver la biomasa, el mecanismo de este proceso se desconoce con exactitud, ya que los estudios experimentales y teóricos aún son insuficientes.

Se ha estudiado la disolución de maderas con LI (23), y se ha constatado que esta puede disolverse parcial o completamente en dependencia del tamaño de partícula. Una muestra de aserrín de madera se disuelve en [Bmim]Cl y [Amim]Cl a 110 °C, obteniéndose una disolución al 8 %. Se puede preparar una solución al 5 % de pulpa termomecánica de abeto con cloruro de 1-bencil-3-metilimidazolio ([Bzmim]Cl) a 130 °C (tabla 2). La eficiencia de disolución de la madera en LI fue: polvo de madera en molino de bolas -aserrín, fibras de pulpa termomecánica- astillas de madera.

Otro estudio muestra que el [Emim]Ac tiene un mayor poder de solvatación para maderas ricas en lignina que [Bmim]Cl y otros LI (15). Alrededor del 5 % (w/w) de una muestra de pino (contenido total de lignina: 31,8 %) y roble (contenido total de lignina: 23,8 %), puede ser disuelto en [Emim]Ac a 110 °C. Según los criterios de los diferentes autores, existen dos razones por las que se pueden explicar estos resultados. En primer lugar, los enlaces de hidrógeno inter e intramoleculares de la madera pueden ser destruidos por la fuerte basicidad del anión acetato; en segundo lugar, el bajo punto de fusión y la baja viscosidad de [Emim]Ac puede facilitar la disolución de la madera.

Se reporta que, a partir de las disoluciones de madera-LI base imidazolio ([Bmim]Cl, [Amim]Cl y [Bzmim]Cl), la celulosa puede ser regenerada en forma amorfa después de la adición de agua (34). Los

componentes del MLC también se pueden separar con [Bmim]Cl sobre la base de sus diferentes solubilidades (24). En este trabajo se reporta que una cantidad de madera de diferentes especies (roble, eucalipto, álamo y pino) puede disolverse parcialmente en [Bmim]Cl a 100 °C. Después de la eliminación de los materiales sin disolver, la celulosa puede ser regenerada de las disoluciones mediante la adición de solventes de precipitación, por ejemplo: mezcla acetona-agua 1:1, diclorometano y acetonitrilo. Los rendimientos alcanzados de celulosa regenerada variaron de 30 a 60 %. Mediante la caracterización por ¹³C RMN e IR se demostró que la celulosa regenerada se encuentra libre de lignina y hemicelulosas.

En un estudio comparativo sobre la disolución de muestras de bagazo y pino (23), se manifiesta que el bagazo se disuelve mucho más rápido en el LI que el pino, a pesar del mayor tamaño de partículas. El bagazo (<0,25 mm) se disolvió completamente en [C₂mim]Ac, a 110 °C al cabo de 16 h, mientras que la disolución completa del pino (0,125 mm) requirió 46 h bajo las mismas condiciones. También se demostró que elevando la temperatura disminuyen los tiempos de cocción necesarios para la disolución del material. Por ejemplo, a 165 °C durante 10 minutos, se disolvió el 97 % del bagazo y su disolución completa se logró mediante el calentamiento a 175 °C durante 10 min o 185 °C durante 5 min. Esto debe realizarse de forma cuidadosa porque el aumento de la temperatura de disolución puede provocar pérdidas en los rendimientos de los productos.

La disolución del MLC con LI (25) ocurre por la liberación completa de la mayoría de los grupos funcionales de la matriz, lo que lo convierte en un material más susceptible al ataque por reactivos y catalizadores. Con el objetivo de mejorar la disolución del material se han usado tratamientos con microondas y ultrasonido y se ha demostrado que disminuyen los tiempos y temperaturas de disolución sin afectar el rendimiento (15).

En un trabajo reciente (26), se utilizaron como materiales experimentales madera y paja sin tratar, que se disolvieron en [Bmim]Cl y se calentaron con microondas en un rango de temperaturas entre 80 y 170 °C y/o bajo presión. La lignina se separó por extracción y la celulosa mediante la adición

Tabla 2. Resultados de la disolución del MLC en LI (4,15)

Líquido Iónico	Tipo de MLC	Condiciones experimentales	Solubilidad (%)
[Mmim][MeOSO ₃]	Madera de arce molida	80 °C, 24 h	Muy baja
[C ₂ mim][OAc]	Astillas de abeto	90 °C	5%
[C ₂ mim][OAc]	Astillas de pino 0,125 mm	110 °C, 46 h	Disolución completa
[C ₂ mim][OAc]	Astillas de pino 0,125 mm	110 °C, 16 h Microondas 100 pulsos en 3 s	Disolución completa
[C ₂ mim][OAc]	Astillas de pino 0,125 mm	110 °C, 23 h Ultrasonido 1 h 40 °C	Disolución completa
[C ₂ mim][OAc]	Bagazo 0,25 mm	110 °C, 16 h	Disolución completa
[C ₄ mim][Cl]	Álamo	100 °C, 24 h, cosolvente DMSO	68 %
[C ₄ mim][Cl]	Roble	100 °C, 24 h, cosolvente DMSO	56 %
[C ₄ mim][Cl]	Eucalipto	100 °C, 24 h, cosolvente DMSO	64 %

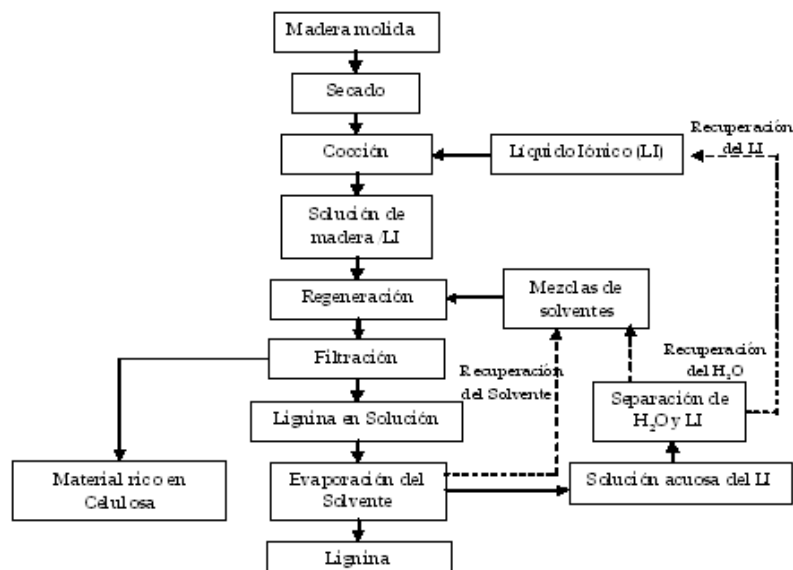


Figura 2. Esquema de la disolución, separación y regeneración de los componentes del MLC con LI.

de agua o etanol. Un proceso típico para la separación del MLC en sus principales componentes se muestra en la figura 2.

Las hemicelulosas han sido los componentes menos estudiados para ser aislados con LI. Algunos autores reportan que se eliminan durante los procesos de regeneración-purificación de la celulosa. Es posible disolver completamente (24) el bagazo con ([C₄mim]Cl), seguido por precipitación con una mezcla agua/acetona y extracción con NaOH. Las hemicelulosas obtenidas por este procedimiento son del tipo 4-O-metild-glucuronoxilanos.

Disolución de la celulosa en LI

La celulosa es el componente más abundante en la biosfera y presenta diversas aplicaciones comerciales. Sin embargo, el potencial de los materiales celulósicos no se ha aprovechado plenamente porque la celulosa no puede ser disuelta en solventes convencionales, debido a su estructura supramolecular.

En la literatura aparecen reportados disímiles trabajos que demuestran que la celulosa puede ser disuelta en LI de manera eficiente sin ningún tratamiento pre-

vio (3, 13, 14, 27 - 29) (tabla 3) y que puede ser regenerada de diferentes formas (13, 15).

De las publicaciones revisadas se puede deducir que el cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio ([Bmim]Cl) es el más usado y demostró una capacidad de disolución excelente para celulosa. Se pueden preparar soluciones al 10 % (w/w) a 100 °C y aumentar la concentración a través del tratamiento con ultrasonido y microondas. La celulosa puede ser fácilmente regenerada a partir de las disoluciones por la adición de agua, mientras que el LI puede ser reutilizado después de la purificación.

Tabla 3. Resultados de la disolución de la celulosa en LI (4, 15)

Líquido Iónico	Tipo de MLC	Condiciones experimentales	Solubilidad (%w)
[C ₂ mim]Cl	Celulosa	85 °C	15,8
[C ₄ mim]Cl	Pulpa	100 °C	10
[C ₄ mim]Cl	Pulpa	Microonda	25
[C ₆ mim]Cl	Celulosa Avicel	100 °C	6,5
[Amim]Cl	Pulpa	80 °C	14,5
[Amim]Cl	MCC	Ultrasonido	27
[C ₄ mmim]Cl	Pulpa	90-130 °C	12,8
[C ₄ mPy]Cl	Celulosa	105 °C, 12 h	39
[C ₂ mim]F	Celulosa Avicel	100 °C 60 min	2
[Ammim]Br	Pulpa	80 °C	12
[C ₂ mim][OAc]	Celulosa	85 °C	13,5
[C ₄ mim][OAc]	MCC	70 °C	28,5
[C ₄ mim]PF ₆	Pulpa	Microonda	Insoluble

El cloruro y formiato de 1-alil-3-metilimidazolio (16, 27) también disuelven la celulosa. Tienen menor punto de fusión, menor viscosidad y mayor capacidad de disolución en comparación con otros LI base imidazolio con los mismos aniones. Un 5 % de celulosa con grado de polimerización (GP) alrededor de 650 se puede disolver rápidamente en [Amim]Cl a 80 °C en 30 minutos, y se obtiene una disolución de 14,5 %.

Se ha demostrado que la serie alquilimidazolio que contiene aniones base fosfato tiene menor punto de fusión y viscosidad, lo que facilita la disolución de la celulosa. Se reportó que se puede obtener una solución al 10% de celulosa microcristalina en [Emim][(MeO)HPO₂] a 45 °C por 30 minutos (28). Una investigación posterior reveló que [Emim][Et₂PO₄] tuvo la capacidad de disolver celulosa a 100 °C, para obtener una solución al 14 % (14). Algunos autores (29) han probado una serie de LI que contienen aniones tipo Brønsted para disolver la celulosa. Entre ellos, el [Bmim]Ac y [Bmim][HSCH₂CO₂] fueron los solventes más eficientes para la disolución de la celulosa microcristalina; se lograron soluciones tan altas como el 15,5 % y el 13,5 % a 70 °C, respectivamente. Para obtener disoluciones mayores, estos autores emplearon sales de litio al 1 %. Por ejemplo, la solubilidad de la celulosa microcristalina puede aumentar al 19 % en [Bmim]Ac si contiene 1 % de LiAc.

La capacidad de los LI para disolver la celulosa ha inspirado a muchos investigadores a explorar el posible mecanismo para explicar este fenómeno. En los primeros estu-

dios se pensaba que los iones, en especial los aniones, podían romper los enlaces por puentes de hidrógeno intra e intermoleculares en la celulosa, y disolver finalmente el material (12, 27). Estudios recientes (30, 31) demuestran que la energía de la interacción entre las cadenas del polisacárido y el LI es más fuerte que la que ocurre entre las cadenas del polímero y el agua o metanol. Aunque el anión tiene interacciones fuertes con los grupos hidroxilos de la celulosa, los cationes también interaccionan con los polisacáridos a través de interacciones hidrofóbicas. Además, se observa que se altera preferiblemente la conformación del enlace β-(1,4)-glicosídico y que estos cambios no son reversibles durante la regeneración de la celulosa. Este es un factor clave en el incremento de la velocidad de la hidrólisis enzimática de la celulosa después de tratada con LI.

La disolución de la lignina en LI

La lignina ha sido y aún es estudiada por diferentes grupos de investigación en el mundo como fuente de productos químicos y nuevos materiales, ya que es imprescindible la revalorización de estos productos con el fin de promover la aplicación eficiente del material lignocelulósico (32).

La lignina es más difícil de disolver que los otros componentes de la lignocelulosa, debido a los fuertes enlaces covalentes que unen los monómeros y su estructura compleja. Se ha reportado la solubilidad de la lignina aislada en algunos LI, y se ha demostrado (33) que la lignina de coníferas se disuelve en [Mmim][MeSO₄] y

[Bmim][MeSO₄] a temperatura ambiente. Cuando la solución se calienta hasta 50 - 70 °C, se disuelve más rápidamente en [Mmim][MeSO₄], [Bmim][MeSO₄] y [Hmim][CF₃SO₃]; se obtienen soluciones desde 275 a 344 g/L. Para LI base [Bmim]⁺ la solubilidad de la lignina siguió el orden: [MeSO₄]⁻ > Cl⁻ > Br⁻ >> PF₆⁻. Por lo tanto, se puede concluir que los aniones tienen un efecto importante sobre la disolución de la lignina. Debido a la compleja estructura y las fuertes interacciones intramoleculares de la lignocelulosa, la lignina natural es mucho más difícil de disolver que la lignina pura.

Algunos investigadores estudian la separación de la lignina a partir del MLC con LI (34), donde el [Emim]Ac es utilizado en el pretratamiento del 5 % (w/w) de madera molida a 90 °C durante 24 horas. La mezcla se lavó con agua para remover el extracto del sólido residual. Después de la evaporación del agua, la solución de [Emim]Ac es reutilizada para el pre-tratamiento de madera, y la concentración de lignina se incrementó.

La lignina se puede separar a partir de lignocelulosa con LI que tengan como aniones xilenosulfonatos y benzoatos (35), en un rango de temperatura entre 100-180 °C. La lignina puede ser separada por precipitación y extracción. Otros autores plantean que es difícil separar los productos derivados de la lignina de las mezclas de reacción, debido a las fuertes interacciones π - π entre el líquido iónico y la parte aromática del polímero. Esto trae como consecuencia que los productos aromáticos sean más solubles en el líquido iónico que los compuestos alifáticos, y así aumenta la dificultad en la extracción (21).

Hidrólisis del material lignocelulósico

La hidrólisis de la celulosa a azúcares fermentables es una etapa fundamental en la conversión de biomasa a biocombustibles y biomateriales, por lo que han sido revisados disímiles métodos con este objetivo (1). Para que el MLC sea más susceptible a la hidrólisis, por lo general, es necesaria una etapa previa para reducir la cristalinidad y aumentar la porosidad del material. Los métodos tradicionales no son eficientes e incluyen: oxidantes, solventes orgánicos, tratamientos mecánicos, hidróxido de calcio y ácidos minerales. Los LI constituyen un nuevo tipo de pretratamiento que parece indicar que no perjudica el entorno (2).

Hidrólisis enzimática del material lignocelulósico (MLC)

Actualmente, se están siguiendo dos vías para hidrolizar el MLC con LI en azúcares fermentables. Una vía es la hidrólisis enzimática del material después de ser disuelto en LI y regenerado en un antisolvente y la otra es realizar la hidrólisis (*in situ*) sin regenerar el material.

Se ha informado (36) que la velocidad de la hidrólisis enzimática aumenta después de tratar el MLC con LI. Por ejemplo, cuando se trata paja de trigo con [Bmim]Cl, se alcanza un 70 % de conversión de los azúcares, mientras que cuando se trata con agua la conversión es de 42 %. Otros autores reportan que cuando se trata pulpa termomecánica de abeto con 1-alkil-3-metilimidazolio y el producto es regenerado con agua, se obtiene un 60 % de conversión a glucosa durante la hidrólisis enzimática, mientras que fue solo del 12 % cuando la muestra no se trata.

En una prueba de extensión realizada para obtener bioetanol a partir de paja de trigo, se usó dietilfosfato de 1-metil-3-etilimidazolio durante el pretratamiento (37). Este estudio permitió establecer un proceso de pretratamiento de la biomasa lignocelulósica utilizando LI que facilita una posterior hidrólisis enzimática de esta. No fue informado en el trabajo la fuente de la enzima. La fermentabilidad de los hidrolizados enzimáticos fue evaluada empleando la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de etanol fue de 0,43 g/g de glucosa después de 26 horas de fermentación. Además, se estudió el tiempo de vida útil del LI, se constató que los rendimientos de azúcares reductores fueron superiores a 52 % después de 5 veces de reciclado.

El uso de los LI en la hidrólisis enzimática de la celulosa tiene, entre otras ventajas, alta selectividad, mayores velocidades de reacción y conversión a azúcares reductores. Sin embargo, hay que llegar a un compromiso entre las propiedades de los LI, la actividad y estabilidad de las enzimas (38).

Hidrólisis ácida del MLC

Se reportó la hidrólisis de la celulosa con LI en presencia de ácidos minerales como catalizadores (39). Por ejemplo, cuando la relación de masa ácido/celulosa se estableció a 0,46, la producción de azúcares reductores

totales y glucosa fue 64 % y 36 %, respectivamente, después de 42 minutos a 100 °C. Otros estudios (40) han demostrado que los rendimientos de azúcares reductores fueron 66, 74, 81 y 68 % para la hidrólisis de tallo de maíz, paja de arroz, madera de pino y bagazo de caña, respectivamente, en presencia de 7 % de ácido clorhídrico, 100 °C y presión atmosférica por 60 minutos.

Un trabajo reciente sobre el pretratamiento de especies maderables con LI en presencia de ácidos minerales indica que, junto con la hidrólisis de la celulosa y la hemicelulosa, también se degrada una cantidad significativa de lignina (41). Esto se demuestra mediante cromatografía de gases y RMN-³¹P, por la presencia de compuestos fenólicos que se originan a partir de la lignina.

A medida que aumente el GP de la celulosa, se necesitan mayores tiempos de reacción para alcanzar buenos rendimientos de glucosa. Se supone (40) que el mecanismo de hidrólisis de la celulosa en LI catalizada por ácidos minerales sigue un mecanismo al azar (40). Durante el proceso de hidrólisis, ocurre la ruptura de enlaces endo y exoglucosídicos. La formación de oligoglucosas fue mayor en la etapa inicial, al igual que en los sistemas tradicionales de hidrólisis heterogéneas. Estos fenómenos se confirmaron posteriormente en el estudio de hidrólisis de celulosa y lignocelulosa en LI catalizada por ácidos sólidos (42).

La depolimerización total de la celulosa en azúcares fermentables y demás derivados utilizando los LI es uno de los desafíos de las tecnologías de separación, pero hasta ahora no se ha logrado un método industrial eficiente y económico (43).

Otros ácidos como el trifluoroacético y LI ácidos (Brönsted), también han sido utilizados como catalizadores en la hidrólisis de la celulosa con resultados satisfactorios (44). En 2010, se reportó un proceso más respetuoso para el medio ambiente, mediante la conversión de biomasa con una mezcla líquido iónico-agua (45).

Conversión catalítica de lignocelulosa en derivados del furfural

Se ha sugerido que muchas moléculas derivadas de la biomasa pueden usarse como intermediarios de bajo peso molecular para la industria química. En 2004, el Laboratorio Nacional de Energía Renovable

propuso doce precursores que pueden ser producidos a partir del MLC, a través de transformaciones biológicas o químicas para ser convertidos en productos químicos de alto valor agregado (46). Entre ellos, el 5-hidroximetilfurfural (HMF), es reconocido como un intermediario versátil entre la industria de los biocombustibles y la del petróleo.

Los primeros intentos en la obtención de HMF utilizando glucosa como materia prima no dieron buenos resultados. No fue hasta 2007 que se obtuvo (47) un rendimiento de 68 % de HMF en un sistema glucosa-[Emim]Cl en presencia de CrCl₂. Se propuso que la glucosa se isomeriza a través del intermediario CrCl₂-enodiol a fructosa, seguido por la reacción de deshidratación. Los autores concluyeron que el catalizador metálico interactuaba con la parte hemiacetal de la glucopiranos, y que hubo poca interacción con los grupos hidroxilo de los azúcares. Los autores también opinan que el anión CrCl₃⁻ juega un papel importante en la transferencia de protones, lo que facilita la mutarrotación de glucosa en fructosa.

Los primeros resultados satisfactorios en la transformación directa de la celulosa y MLC en HMF (40) se muestran en la figura 3. Se evidencia que el tratamiento de Celulosa Avicel (100 mg) con CrCl₃ o 6H₂O (10 mg) en [C₄mim]Cl (2,0 g) e irradiación con microondas (400 W) por 2 minutos, produce un rendimiento del 62 % de HMF (37). Sin embargo, cuando estos componentes se calientan a 100 °C en un baño de aceite por 240 minutos, la producción de HMF es solo el 17 %, pero el rendimiento de azúcares reductores totales es 45 %. Estos resultados sugieren que la irradiación con microondas es la clave para una alta producción de HMF y que el CrCl₃·6H₂O es capaz de catalizar la hidrólisis de la celulosa. También se debe mencionar que mediante este sistema se obtiene HMF con rendimientos mayores a 90 % cuando se emplea glucosa como material de partida. Otros autores (45) demostraron que es posible la obtención de HMF bajo condiciones moderadas (≤ 140 °C, 1 atm), a partir de biomasa (tallos de maíz, paja de arroz y madera de pino) con rendimientos superiores al 89 %. En un estudio similar se realizó la conversión directa de celulosa-[Emim]Cl en HMF, utilizando como catalizador un par de cloruros metáli-

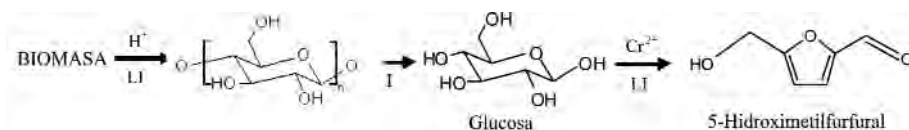


Figura 3. Esquema de obtención de HMF a partir de biomasa (15).

cos (CuCl_2 y CrCl_2) bajo condiciones moderadas (80-120 °C) durante 8 h (48).

Se proponen dos variantes para el mecanismo de conversión de carbohidratos a HMF (49). La vía de la enolización catalizada por Cr^{2+} , a través de la formación del enodiol que es protonado en C-1 para obtener una cetosa, la cual se deshidrata en HMF. La otra variante, igualmente catalizada por el Cr^{2+} ocurre en un solo paso de la aldosa a la cetosa por cambio de hidruro entre el C 1,2. Se considera que tanto el Cr^{2+} como el anión haluro contribuyen a la formación del intermediario enodiol y el cambio de hidruro entre el C 1,2 para formar cetosa a partir de la aldosa. Otros catalizadores también han sido eficientes para la conversión de la glucosa en HMF. Por ejemplo, la conversión de glucosa de 98 % con una selectividad del 99 % de HMF se puede lograr utilizando ácido molibdofosfórico como catalizador en $[\text{Emim}]\text{Cl}$ y acetonitrilo después de 3 horas a 120 °C.

Obtención de otros productos

Los alcoholes de azúcar son una familia de productos que se producen generalmente a partir de la hidrogenación de los monosacáridos. Dado que la celulosa puede ser disuelta en LI, es lógico que se desarrollen los procesos para hidrogenólisis directa de la celulosa en los alcoholes de azúcar. La depolimerización de celulosa fue publicada recientemente en presencia de hidrógeno gaseoso catalizada por la combinación de un catalizador metálico heterogéneo y un catalizador homogéneo de rutenio (50). Los autores comenzaron su estudio con la hidrogenación de 1,1-dietoxiciclohexano utilizando una combinación de catalizadores heterogéneos en presencia de ácidos de Lewis a 20 °C y una presión de 2 MPa de hidrógeno; se obtuvo hexociclohexano con un rendimiento del 100 %. Estudios posteriores demostraron que este sistema catalítico no fue eficaz para la hidrogenación de celobiosa. Sin embargo, se alcanzaron buenos resultados en la conversión a sorbitol

(43 %) cuando los catalizadores heterogéneos fueron reemplazados por un catalizador homogéneo. Bajo condiciones óptimas, el rendimiento fue del 51 % de sorbitol usando celulosa como materia prima. Experimentos complementarios confirmaron que todos los componentes del sistema (hidrógeno, catalizador y agua) son necesarios para que ocurra la reacción y que el papel del catalizador es actuar como un agente de transporte de hidrógeno en los LI a través de la formación de hidruros.

Se informa la obtención de un LI (51) capaz de romper la estructura cristalina de la celulosa mediante uniones reversibles a través de los grupos hidroxilo, para aumentar la solubilidad y la actividad catalítica, así como la alta conversión a hexitoles (76 al 93 %). Sin embargo, se encontró que en ausencia de estos solo se logra una conversión del 15 % de celulosa a hexitoles mediante la hidrogenación, utilizando un catalizador de Ru en $[\text{Bmim}]\text{Cl}$. Además, se demostró que la celulosa se hidroliza fácilmente a glucosa utilizando los LI con un rendimiento del 95 % después de 5 horas a 80 °C. Además, el catalizador se recuperó fácilmente de la mezcla de reacción y la actividad se mantuvo después de cinco veces de ser reutilizado.

Los alquilglicósidos de cadena larga son compuestos no iónicos con propiedades surfactantes excelentes, baja toxicidad y buena biodegradabilidad. Tienen aplicaciones como cosméticos y detergentes, emulsionantes alimentarios y agentes dispersantes de fármacos. Se reportó la conversión catalítica de la celulosa en surfactantes biodegradables utilizando un sistema que contiene LI en condiciones moderadas (52). Estos investigadores constataron que una resina puede catalizar la conversión directa de celulosa en glucósidos de alquilo con un rendimiento de masa de hasta 82 %. Otros alcoholes como butanol, hexanol y octanol se utilizaron en el estudio, y los rendimientos totales de los tensoactivos variaron entre 7,2 y 91 %. La cantidad de agua en el medio de reacción juega un papel importante y su eliminación puede facilitar la reacción de glicosi-

dación significativamente. Un trabajo muy similar reportó que la celulosa en [Bmim]Cl se transformó en alquil-glicósidos, en presencia de una resina ácida (49).

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Está claro que la conversión de biomasa en productos químicos con alto valor añadido con los LI está comenzando, y este complejo desafío sin dudas requerirá de la integración de avanzadas tecnologías catalíticas y de separación. En este trabajo se han tratado de resumir algunos aspectos relacionados con el tema; sin embargo, los autores consideramos que el conocimiento es limitado, aunque se avanza rápidamente.

La disolución del MLC para obtener derivados de celulosa con diferentes fines (productos que utilizan el polímero sin degradar, obtención de glucosa para biocombustibles, HMF y otros derivados) ha sido el tema más ampliamente estudiado. A pesar de que en el mundo se han obtenido logros importantes, queda mucho camino por recorrer para lograr escalar los resultados a la industria. La recuperación de las hemicelulosas y la valorización de la lignina es un reto para la utilización del MLC transformado por esta vía.

Continúa siendo imprescindible la solución de algunos problemas tales como la síntesis a gran escala de LI de forma económica, la definición de las vías de reciclado, la eficiente separación de los LI y los productos obtenidos, el desarrollo de catalizadores más eficientes, los estudios de biodegradación/bioacumulación, así como las consideraciones de toxicidad y el manejo de los LI.

La perspectiva de nuestro grupo de trabajo se centra en probar la efectividad de los LI en la obtención de productos derivados del bagazo, que han sido obtenidos mediante tecnologías tradicionales, como es el caso de los materiales base celulosa, furfural, xilitol, sorbitol y etanol lignocelulósico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hallac, B.; Ragauskas, A. Analyzing cellulose degree of polymerization and its relevancy to cellulosic ethanol. *Biofuels*, Bioprod. Bioref. 5: pp. 215-225, 2011.
- Zhu, S. Use of ionic liquids for the efficient utilization of lignocellulosic materials. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 83(6): pp. 777-779, 2008.
- Pinkert, A., Marsh, K. N., Pang, S. S.; Staiger, M. P. Ionic Liquids and their Interaction with Cellulose. *Chem. Rev.* 109(12): pp. 6712-6728, 2009.
- Mäki-Arvela, P.; Anugwom, I.; Virtanen, P.; Sjöholm, R.; Mikkola, J.P. Dissolution of lignocellulosic materials and its constituents using ionic liquids. A review. *Industrial Crops and Products* 32: pp. 175-201, 2010.
- Plechkova, N.V.; Seddon, K.R. Applications of ionic liquids in the chemical industry. *Chem. Soc. Rev.* 37: pp. 123-150, 2008.
- Robinson, J.; Osteryoung, R.A. An electrochemical and spectroscopic study of some aromatic hydrocarbons in the room temperature molten salt system aluminum chloride-n-butylpyridinium chloride. *J. Amer. Chem. Soc.* 101(2): p. 323, 1979.
- Wilkes, J.S.; Zaworotko, M.J. Air and water stable 1-ethyl-3-methylimidazolium based ionic liquids. *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* (13): p. 965, 1992.
- Olivier-Bourbigou, H.; Magna, L. Ionic liquids: perspectives for organic and catalytic reactions. *J. Mol. Catalysis A: Chem.* 182-183(1): p. 419, 2002.
- Jain, N.; Kumar, A.; Chauhan, S.; Chauhan, SMS. Chemical and biochemical transformations in ionic liquids. *Tetrahedron* 61(5): p. , 2005.
- Galinski, M. Lewandowski, A.; Stepniak, I. Ionic liquids as electrolytes. *Electrochim. Acta* 51(26): 5567, 2006.
- Iglesias, M. Diseño de líquidos iónicos para procesos sostenibles. 2010 [Online] www.obrasocial.ibercaja.es/.../42-11.pdf. [Consulta 1-4-2011].
- Swatloski, R. P.; Spear, S. K.; Holbrey, J. D.; Rogers, R. D. Dissolution of cellulose with ionic liquids. *J. Am. Chem. Soc.* 124 (18): pp. 4974-4975, 2002.
- El Seoud, O. A. E.; Koschella, A.; Fidale, L. C.; Dorn, S.; Heinze, T. Applications of ionic liquids in carbohydrate chemistry: A window of opportunities. *Biomacromolecules.* 8 (9): pp. 2629-2647, 2007.
- Vitz, J.; Erdmenger, T.; Haensch, C.; Schubert, U. S. Extended dissolution studies of cellulose in imidazolium

- based ionic liquids. *Green Chem.* 11(3): pp. 417-424, 2009.
15. Sun, N. (2010) Dissolution and processing of cellulosic materials with ionic liquids: Fundamentals and applications. Presentation for the degree of Doctor of Philosophy, Alabama, 2010. [Online] www.acumen.lib.ua.edu. [Consulta 9-9-2011].
 16. Lan, W.; Liu, C.F.; Sun, R.C. Fractionation of bagasse into cellulose, hemicelluloses, and lignin with ionic liquid treatment followed by alkaline extraction. *J Agric Food Chem.* 59(16): pp. 8691-701, 2011.
 17. Zhu, S.; Tong, Y.; Lv, Y.; Wu, Y. Use of ionic liquids to improve the production of Hydroxymethylfurfural from renewable sources. *BioResources* 7(1): pp. 3-4, 2012.
 18. Dandan Han and Kyung Ho Row. Recent Applications of Ionic Liquids in Separation Technology. *Molecules*, 15: pp. 2405-2426, 2010.
 19. Willauer, H.D.; Huddleston, J.G.; Li, M.; Rogers, R.D. Investigation of aqueous biphasic systems for the separation of lignins from cellulose in the paper pulping process. *J. Chromatogr., B: Biomed. Sci. Appl.* 743 (1, 2): pp. 127-135, 2000.
 20. Zavrel, M., Bross, D., Funke, M., Buchs, J.; Spiess, A. C. High-Throughput Screening for Ionic Liquids Dissolving (Ligno)-Cellulose. *Bioresource Tech.* 100(9): pp. 2580-2587, 2009.
 21. Cocalia, V. A.; Visser, A. E.; Rogers, R. D.; Holbrey, J. D. In *Ionic Liquids in Synthesis*; Wasserscheid, P., Welton, T., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany. 1: p. 89, 2008.
 22. Anderson, J.L.; Anthony, J. L.; Brennecke, J. F.; Maginn, E. J. In *Ionic Liquids in Synthesis*; Wasserscheid, P., Welton, T., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany. 1: p. 103, 2008.
 23. Kilpeläinen, I.; Xie, H.; King, A.; Granstrom, M.; Heikkinen, S.; Argyropoulos, D. S. Dissolution of wood in ionic liquids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55(22): pp. 9142-9148, 2007.
 24. Fort, D. A.; Remsing, R. C.; Swatloski, R. P.; Moyna, P.; Moyna, G.; Rogers, R. D. Can ionic liquids dissolve wood? Processing and analysis of lignocellulosic materials with 1-n-butyl-3-methylimidazolium chloride. *Green Chem.* 9(1): pp. 63-69, 2007.
 25. Xie, H.; Kilpeläinen, I.; King, A.; Leskinen, T.; Järvi, P.; Argyropoulos, D. S. Opportunities with Dissolved Wood. *Cellulose Solvents: For Analysis, Shaping and Chemical Modification*. Liebert, T., et al., ACS Symposium, Washington DC, Chapter 19: pp.343-363, 2010.
 26. Myllymaki, V. and Aksela, R. Dissolution method for lignocellulosic materials. WO Pat, 2005/017001, February, 2005.
 27. Fukaya, Y., Sugimoto, A. and Ohno, H. Superior Solubility of Polysaccharides in Low Viscosity, Polar, and Halogen-Free 1,3-Dialkylimidazolium Formates. *Biomacromolecules* 7(12): pp. 3295-3297, 2006.
 28. Fukaya, Y.; Hayashi, K.; Wada, M.; Ohno, H. Cellulose dissolution with polar ionic liquids under mild conditions: required factors for anions. *Green Chem.* 10(1): pp. 44-46, 2008.
 29. Xu, A.; Wang, J.; Wang, H. Effects of anionic structure and lithium salts addition on the dissolution of cellulose in 1-butyl-3-methylimidazolium-based ionic liquid solvent systems. *Green Chem.* 12(2): pp. 268-275, 2010.
 30. Liu, H. B., Sale, K. L., Holmes, B. M., Simmons, B. A.; Singh, S. Understanding the Interactions of Cellulose with Ionic Liquids: A Molecular Dynamics Study. *J. Phys. Chem. B* 114(12): pp. 4293-4301, 2010.
 31. Zakrzewska, M. E., Bogel-Lukasik, E.; Bogel-Lukasik, R. Solubility of Carbohydrates in Ionic Liquids. *Energy & Fuels* 24: pp. 737-745, 2010.
 32. Zakzeski, J.; Bruijninx, P.; Jongerius, A.; Weckhuysen, B. The Catalytic Valorization of Lignin for the Production of Renewable Chemicals. *Chem. Rev.* 110(6): pp. 3552-99, 2010.
 33. Pu, Y.; Jiang, N.; Ragauskas, A. J. Ionic liquid as a green solvent for lignin. *J. Wood Chem. Technol.* 27(1): pp. 23-33, 2007.
 34. Lee, S. H.; Doherty, T. V.; Linhardt, R. J.; Dordick, J. S. Ionic liquid-mediated selective extraction of lignin from wood leading to enhanced enzymatic cellulose hydrolysis. *Biotechnol. Bioeng.* 102(5): pp. 1368-1376, 2009.

35. Upfal, J.; Macfarlane, D. R.; Forsyth, S. A. Solvents for use in the treatment of lignin-containing materials. WO Pat, 2005/017252, 2005.
36. Liu, L. Y.; Chen, H. Z. Enzymatic Hydrolysis of Cellulose Materials Treated with Ionic Liquid BmimCl. *Chinese Science Bulletin* 51(20): pp. 2432-2436, 2006.
37. Li, C. Z., Zhang, Z. H.; Zhao, Z. K. Direct Conversion of Glucose and Cellulose to 5-Hydroxymethylfurfural in Ionic Liquid under Microwave Irradiation. *Tetrahedron Letters* 50(38): pp. 5403-5405, 2009.
38. Bose, S., Armstrong, D. W.; Petrich, J. W. Enzyme-Catalyzed Hydrolysis of Cellulose in Ionic Liquids: A Green Approach toward the Production of Biofuels. *J. Phys. Chem.* 114(24): pp. 8221-8227, 2010.
39. Li, C. Z.; Zhao, Z. K. Efficient Acid-Catalyzed Hydrolysis of Cellulose in Ionic Liquid. *Advanced Synthesis & Catalysis* 349: pp. 1847-1850, 2007.
40. Li, C. Z., Wang, Q.; Zhao, Z. K. Acid in Ionic Liquid: An Efficient System for Hydrolysis of Lignocellulose. *Green Chemistry* 10(2): pp. 177-182, 2008.
41. Li, B., Filpponen, I.; Argyropoulos, D. S. Acidolysis of Wood in Ionic Liquids. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 49(7): pp. 3126-3136, 2010.
42. Rinaldi, R., Meine, N., vom Stein, J., Palkovits, R.; Schuth, F. Which Controls the Depolymerization of Cellulose in Ionic Liquids: The Solid Acid Catalyst or Cellulose? *ChemSusChem* 3(2): pp. 266-276, 2010.
43. Binder, J. B.; Raines, R. T. Fermentable Sugars by Chemical Hydrolysis of Biomass. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107(10): pp. 4516-4521, 2010.
44. Amarasekara, A. S.; Owereh, O. S. Synthesis of a Sulfonic Acid Functionalized Acidic Ionic Liquid Modified Silica Catalyst and Applications in the Hydrolysis of Cellulose. *Catalysis Communications* 11(13): pp. 1072-1075, 2010.
45. Zhang, Z. H., Wang, Q., Xie, H. B., Dong, K., Liu, W. J.; Zhao, Z. K. Catalytic Conversion of Carbohydrates into 5-Hydroxymethylfurfural by Germanium (IV) Chloride in Ionic Liquids. *ChemSusChem*, DOI: 10.1002/cssc.201000279, 2010.
46. Werpy, T., Petersen, G. Eds. Top Value Added Chemicals from Biomass, Report: Doe/Go-102004-1992; U.S. Department of Energy, 2004.
47. Zhao, H. B., Holladay, J. E., Brown, H.; Zhang, Z. C. Metal Chlorides in Ionic Liquid Solvents Convert Sugars to 5-Hydroxymethylfurfural. *Science* 316(5831): pp. 1597-1600, 2007.
48. Su, Y., Brown, H. M., Huang, X. W., Zhou, X. D., Amonette, J. E.; Zhang, Z. C. Single-Step Conversion of Cellulose to 5-Hydroxymethylfurfural (HMF), a Versatile Platform Chemical. *Applied Catalysis A-General* 361(1-2): pp. 117-122, 2009.
49. Binder, J. B., Cefali, A. V., Blank, J. J.; Raines, R. T. Mechanistic Insights on the Conversion of Sugars into 5-Hydroxymethylfurfural. *Energy & Environmental Science* 3(6): pp. 765-771, 2010.
50. Ignatyev, I. A., Mertens, P. G. N., Van Doorslaer, C., Binnemans, K.; de Vos, D. E. Cellulose Conversion into Alkylglycosides in the Ionic Liquid 1-Butyl-3-Methylimidazolium Chloride. *Green Chemistry* 12(10): pp. 1790-1795, 2010.
51. Zhu, Y. H., Kong, Z. N., Stubbs, L. P., Lin, H., Shen, S. C., Anslyn, E. V.; Maguire, J. A. Conversion of Cellulose to Hexitols Catalyzed by Ionic Liquid-Stabilized Ruthenium Nanoparticles and a Reversible Binding Agent. *ChemSusChem* 3(1): pp. 67-70, 2010.
52. Villandier, N.; Corma, A. One Pot Catalytic Conversion of Cellulose into Biodegradable Surfactants. *Chemical Communications* 46(24): pp. 4408-4410, 2010.

Evaluación fármaco - toxicológica del jugo de caña deshidratado

Angela Ofelia Díaz-Llanes¹, Gastón García-Simón², Yamilka Herrera-Ledesma²,
Dayamí Borges-Rodríguez¹, Arturo Valdivieso-García²

1. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar
CP 33500, Quivicán, Mayabeque, Cuba

2 Laboratorios Liorad, Centro de Estudios de Investigaciones y Evaluaciones
Biológicas. Ave. 23 No. 2142 e/ 214 y 22, La Coronela, La Lisa, La Habana, Cuba
email: cuba10@enet.cu

RESUMEN

Se realizó un estudio farmacológico del jugo de caña deshidratado donde se evaluó el efecto acelerador de la cicatrización en heridas abiertas en la piel de ratas Wistar. Se determinó la inocuidad en animales de experimentación y se realizaron los estudios toxicológicos, según la metodología descrita en el PNT/TEC establecida en el CEIEB. Los resultados obtenidos indicaron que el jugo de caña deshidratado aplicado a las ratas en un tratamiento de 7 días presenta efecto acelerador de la cicatrización. Las pruebas oftálmicas con conejos de experimentación, mostraron que no se produjeron lesiones en los sitios de aplicación, por lo que se obtuvo un índice de irritación primario igual a 0,0; lo que evidencia que el jugo de caña deshidratado se puede clasificar como no irritante. Además, con la aplicación oftálmica en la estructura ocular, se obtiene un índice de irritación de 1,0 puntos, por lo que se clasifica como no irritante. El producto no indujo toxicidad aguda oral ni dérmica en los animales de experimentación, por lo que se considera prácticamente inocuo para los humanos cuando se aplica de forma aguda. Se hacen innecesarios los estudios de toxicidad aguda a dosis superiores.

Palabras clave: jugo de caña deshidratado, ensayos toxicológicos, cicatrización de heridas.

ABSTRACT

A pharmacological study of dehydrated juice of sugar cane was carried out and the accelerating effect on healing of open wounds was evaluated in the skin of Wistar rats. The innocuousness was determined in experimental animals and toxicological studies were carried out according to the methodology described in PNT/TEC and established in CEIEB. The obtained results indicated that the dehydrated sugar cane juice applied on rats, in a treatment of 7 days, presented an accelerating effect on cicatrization. The obtained results after administration of the product showed that no lesions remain in application sites; therefore the Primary Irritation Index was 0,0, which evidenced that dehydrated sugar cane juice may be classified as no irritating. Ophthalmic test with experimental rabbits showed that no lesions appeared in application sites, thus a primary irritation index of 1,0, was obtained, which makes evident that dehydrated sugar cane juice can be classified as no irritating, as well. The product did not induce oral or dermal acute toxicity in experimental animals, so it was considered practically innocuous for humans in an acute application, therefore studies on acute Toxicity to higher doses were not needed.

Keywords: dehydrated sugar cane juice, toxicological study, wound healing.

INTRODUCCIÓN

El jugo de caña deshidratado es un polvo de color beige claro que se obtiene a partir de la extracción del jugo de la caña de azúcar en un molino de acero inoxidable, se filtra y se concentra a vacío, y posteriormente se seca en un secador por aspersión (1-5). Presenta grandes diferencias con el azúcar tradicional, puesto que no es un producto refinado. Esto significa que en su elaboración no intervienen productos que eliminan los componentes naturales propios de la caña, como son sus minerales, sus vitaminas y otros tipos de carbohidratos. Constituye, por tanto, un azúcar natural integral (6, 7).

Este producto puede ser usado directamente como edulcorante o como materia prima o complemento nutricional en la elaboración de otros productos.

En su composición, el azúcar mayoritario es la sacarosa (80 %), en tanto que la fructosa y la glucosa están alrededor del 2 % (8). Contiene además fósforo, hierro, calcio, magnesio, manganeso, cobre, zinc y vitaminas (6).

El azúcar granulada (sacarosa) ha sido utilizada desde antes de la era cristiana y de manera empírica, para la cicatrización de heridas (9 - 11). En este trabajo se presentan las propiedades de este producto natural, al cual se le atribuye un efecto acelerador de la cicatrización.

Para probar la toxicidad de compuestos químicos bien definidos o de mezclas complejas se emplean animales de laboratorio que pueden ser roedores o no. Es oportuno señalar que los estudios de toxicidad aguda no son un sinónimo de mortalidad porque incluyen la evaluación de signos asociados a manifestaciones de toxicidad aguda y retardada, así como los posibles órganos diana del daño. Estas investigaciones generalmente se diseñan para determinar la potencia de tóxicos en términos de DL50 (dosis letal media) o CL50 (concentración letal media) y para detectar los efectos biológicos adversos durante un corto período de tiempo, causado por una dosis única o repartida en 24 h de un agente determinado (12, 13).

Cuando un producto nuevo va a ser aplicado se hace necesario efectuar las pruebas toxicológicas, toda vez que se hayan probado sus efectos farmacológicos, para evitar o

disminuir el peligro que su utilización entraña, así como valorar la relación riesgo-beneficio (14, 15).

Con el desarrollo de este trabajo se realiza una evaluación fármaco-toxicológica del jugo de caña deshidratado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sustancia de ensayo

Se utilizó el jugo de caña deshidratado obtenido por evaporación y secado por atomización en la planta de bioprocesos del ICIDCA. Para el secado se utilizó un secador por aspersión tipo S-12, 5-R de 75 litros de agua evaporada/hora (GEA Niro, Gladsaxevej, Soeborg, Denmark), el que opera en un sistema continuo. Los parámetros de operación utilizados fueron: temperatura de entrada 170 °C y de salida 85 °C y una concentración del jugo de 70 °Brix.

Ensayo de irritabilidad oftálmica

Se desarrolló la metodología descrita en el PNT/TEC/0208 (16) establecido en el CEIEB. Se emplearon conejos albinos NZ procedentes del CENPALAB con su correspondiente certificado de salud y un peso corporal de 1,8 a 2,0 kg.

A los conejos del estudio se les realizó un examen exhaustivo de la estructura ocular antes de iniciar el ensayo. Se aplicó 0,1 g del producto objeto de estudio en el fondo del saco conjuntival del ojo derecho, el ojo izquierdo sirvió de control. Una hora después comenzaron las evaluaciones de las siguientes estructuras: la conjuntiva, iris y córnea. Las lecturas fueron realizadas a la(s) 1, 24, 48 y 72 horas, según la escala de Draize para este ensayo. Los datos fueron recogidos en los modelos habilitados al efecto.

Estudio de la posible irritabilidad dérmica

Se desarrolló la metodología descrita en el PNT/TEC/0207 (17) establecido en el CEIEB. Los conejos del estudio fueron depilados a ambos lados de la columna vertebral 24 horas antes de iniciar el ensayo. Posteriormente, se seleccionaron los sitios de piel adecuados para el estudio y se aplicaron 0,5 g del producto en 3 sitios de animales diferentes, los cuales fueron cubiertos con parches de gasa estéril y fijados con

esparadrapo hipoalérgico durante 4 horas. A continuación, se retiraron los parches y la zona se lavó con solución salina fisiológica. Una hora después comenzaron las lecturas de las variables edema y eritema. Las lecturas fueron realizadas a la(s) 1, 24, 48 y 72 horas.

Estudio de toxicidad aguda oral

Se desarrolló la metodología descrita en la Guía de la Organización Económica para el Comercio y Desarrollo (OECD) #423 (18). En el ensayo se conformó un grupo tratado (hembras) que contó con tres animales.

La tarde noche anterior fue retirada la comida de los animales. Transcurridas las horas de ayuno se comenzó la prueba. Todas las ratas fueron pesadas para aplicar una dosificación exacta, de acuerdo con el peso.

La sustancia se administró a la dosis límite de 2000 mg/kg de peso del animal, de manera tal que se suministró una sola toma de 4 ml por 200 g de peso del animal. Transcurridas 2 a 3 horas de la administración de la sustancia, se procedió a colocar nuevamente la comida.

Después de la administración se realizaron las observaciones y se anotaron sistemáticamente en los registros individuales para cada animal, varias veces durante el primer día y al menos 1 vez al día para los 13 restantes.

Atendiendo a que la vía de administración fue oral, se incluyeron los signos de toxicidad retardada.

Estudio de toxicidad aguda dérmica

Se desarrolló la metodología descrita en la Guía de la OECD #402 (19).

En el ensayo se conformaron dos grupos (machos y hembras) que recibieron el producto en estudio. Los grupos estaban compuestos por cinco animales cada uno. Al inicio del experimento todas las ratas fueron pesadas para aplicar una dosificación exacta de acuerdo al peso.

La sustancia se administró una dosis de 2000 mg por kg de peso del animal. El volumen fue de 4 ml. El sitio de aplicación se cubrió con una almohadilla de gasa atada de forma segura a la piel y toda la región fue cubierta con una banda de goma elástica hipoalérgica y enrollada en la región media del cuerpo, para evitar que el

animal pudiera lamerse la zona de aplicación con el consecuente falseamiento de los resultados.

La sustancia en estudio se dejó en contacto con la piel durante 24 horas, transcurrido este tiempo se removió la cubierta y el agente residual fue eliminado con solución de cloruro de sodio al 0,9 % y con la ayuda de una almohadilla de gasa estéril.

Después de la administración, se realizaron las observaciones y se anotaron sistemáticamente en el registro individual para cada animal, varias veces durante el primer día y al menos una vez al día para los 13 restantes.

Para los 2 ensayos de toxicidad aguda, las pesadas de las ratas se realizaron en los tiempos siguientes: 1, 7 y 14 días.

Al final del ensayo se procedió a sacrificar los animales con sobredosis de pento-barbital sódico. Se siguieron los procedimientos de refinamiento que se emplean actualmente en toxicología experimental.

Se analizaron los órganos (pulmones, corazón, bazo, riñones y estómago u otro, que durante los días de observación, manifestó signos clínicos) para hallar si se encontraba alguna afectación, entonces se tomaron muestras para su procesamiento histopatológico.

Cicatrización

Se desarrolló la metodología descrita en el PNT/TEC/0125 (20) establecido en el CEIEB. El ensayo se realizó en una especie roedora (rata), con un mínimo de 5 animales por grupo y de un solo sexo; en este caso se emplearon ratas machos pertenecientes a la línea Wistar y procedentes del Centro para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB) y con su correspondiente certificado de salud.

Las ratas se mantuvieron en condiciones de cuarentena y aclimatación según lo establecido. El acceso al agua y la comida fue *ad libitum*. El tiempo que duró el ensayo fue de 12 días (5 de aclimatación y 7 de prueba).

Las ratas fueron distribuidas de forma aleatoria dentro de los diferentes grupos.

A las ratas se les retiró el alimento la tarde noche anterior al experimento.

En el ensayo se confeccionaron 3 grupos:

- Control sin tratamiento.
- Sulfadiazina de plata.
- Jugo de caña deshidratado.

A todas las ratas se les practicó una herida en la región dorso-escapular de la forma siguiente. Primeramente, a los animales se les rasuró dicha zona, en un área no menor del 10 % de la superficie corporal, utilizando para ello primero una tijera curva y después una máquina de rasurar.

Para proceder a efectuar las heridas se anestesiaron los animales con Tiopental sódico (40 mg/kg); para ello, se utilizó la vía de administración intraperitoneal. Posteriormente, la zona depilada de las ratas fue desinfectada con una solución de etanol al 70 %.

Se realizó una incisión de 10 mm de diámetro, con el empleo de un biótomo, y se eliminó el tejido subcutáneo.

El sacrificio se llevó a cabo al séptimo día de haber comenzado la experiencia. Después del sacrificio se tomaron muestras de las zonas donde se había practicado la herida, para efectuar los correspondientes estudios.

Los resultados fueron analizados utilizando el programa STATGRAPHICS Centurion XV.

RESULTADOS Y DISCUSION

Ensayo de irritabilidad oftálmica

En la tabla 1 se observan los resultados correspondientes a este ensayo. Durante el período de prueba se produjeron reacciones eritematosas, así como secreciones en la conjuntiva, las que desaparecieron a las 24

Tabla 1. Resultados del estudio de irritabilidad oftálmica

Animal	Σ (Conjuntiva+Iris+Córnea)			
	1h	24 h	48 h	72 h
Σ	12	0	0	0
TOTAL				12

horas, sin dejar daños en el iris. La córnea no resultó afectada durante el tiempo que se observó.

Se obtuvo un índice de irritación igual a 1,0 puntos, lo que permite clasificar al guarapo deshidratado como no irritante.

Desde el punto de vista clínico, no se produjeron alteraciones en los animales de experimentación.

Ensayo de irritabilidad dérmica

La administración del producto, en este ensayo, no causó lesiones eritematosas ni edematosas en los sitios de aplicación por lo que se obtuvo un índice de irritación primario igual a 0,0; lo que evidencia que el guarapo deshidratado, en este aspecto, se puede clasificar igualmente como no irritante. Desde el punto de vista clínico, no se produjeron alteraciones en los animales del estudio.

Estudio de toxicidad aguda oral

En la tabla 2 se muestran los resultados de las observaciones durante los 14 días del ensayo, para la dosis utilizada.

Tabla 2. Signos clínicos

Signos clínicos	Días													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Ojos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mucosas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sist. respiratorio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Circulatorio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Autónomo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nervioso central	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mudanza de pelo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Temblores	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Convulsiones	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salivación	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Piel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sedación	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Somnolencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muerte	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Otros	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 3. Variación en el peso corporal (gramos de los animales en ensayo)

Grupo	Tiempo (días)		
	1	7	14
I	168±13,86	198,67±15,95	207± 16,64
II	170,33±15,63	195,67±15,04	204± 12,12

Como se puede observar, cuando se empleó la dosis de 2000 mg/kg, no se reportaron signos clínicos en ninguno de los animales estudiados.

En la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos para el peso corporal (en valores medios y desviación estándar) para los días 1, 7 y 14 de la experiencia de los grupos sometidos a estudio.

Se puede apreciar que los dos grupos tratados tuvieron ganancia en peso, entre las pesadas efectuadas.

Las muestras tomadas de los órganos seleccionados no presentaron afectaciones desde el punto de vista macroscópico, por lo

que se decidió no efectuar su estudio patológico.

Estudio de toxicidad aguda dérmica

En la tabla 4 se muestran los resultados de las observaciones durante los 14 días del ensayo, para la dosis utilizada.

Se constata que no se reportaron signos clínicos en ninguno de los grupos estudiados.

En la tabla 5 se muestran los resultados obtenidos para el peso corporal (en valores medios y desviación estándar) para los días 1, 7 y 14 de la experiencia de los grupos sometidos a estudio.

Los dos grupos tratados tuvieron ganancia en peso, durante todas las pesadas efectuadas. Se encontró diferencia estadística en la mayoría de los días en que se efectuaron las pesadas, lo cual lo demuestran las letras diferentes.

Tabla 4. Signos clínicos observados en la determinación de toxicidad aguda dérmica

Signos clínicos	Días													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Ojos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mucosas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sist. respiratorio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Circulatorio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Autónomo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nervioso central	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mudanza de pelo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Temblores	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Convulsiones	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salivación	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Piel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sedación	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Somnolencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muerte	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Otros	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 5. Variación en el peso corporal (gramos de los animales en ensayo)

Grupo	Tiempo (días)		
	1	7	14
I	212± 15,52a	222±13,02a	247,4±8,73b
II	186,2±3,19a	194,4±4,3b	206,1± 5,2c

a, b, c: significación estadística (p<0,05)

Las muestras tomadas de los órganos seleccionados no presentaron afectaciones desde el punto de vista macroscópico, por lo que se decidió no efectuar su estudio histopatológico.

Cuando se administra de forma aguda el producto a la dosis límite, no se producen efectos tóxicos sobre los animales en prueba.

Cicatrización

En la tabla 6 se presentan los resultados obtenidos en cuanto al área de la herida en los animales de experimentación. Se observa que los valores van disminuyendo, a medida que pasa el tiempo y se administra el tratamiento entre los diferentes grupos un mismo día, en valores medios y desviación estándar.

Como puede apreciarse, el grupo que no recibe tratamiento alguno, disminuye ligeramente y se observan diferencias entre el primer día y los restante no mas ocurre así entre los 6 días de tratamiento que no difirieron entre sí.

En cuanto a los otros dos grupos, existen marcadas diferencias entre los días como puede apreciarse y al terminar el experi-

mentos tanto la sulfadiazina de plata como el grupo tratado con el jugo de caña deshidratado muestran valores de 3,8 y 3,0 cm respectivamente contra 10 mm al comenzar la prueba.

En la tabla 7 se muestran los resultados obtenidos en cuanto a los análisis histopatológicos.

De los resultados obtenidos se puede apreciar que, tanto la sulfadiazina de plata como el jugo de caña deshidratado, mostraron efecto acelerador de la cicatrización, esto viene dado por el hecho de que ambos tienden a la fase II, es decir, mayores epitelización y maduración de la piel y está informado previamente que el mejor comportamiento se obtiene cuando los productos tienden a la fase II, en vez de a la fase I.

Como se observa, los mayores valores están dados para el jugo de caña deshidratado, seguido por la sulfadiazina que fue tomada a manera de control positivo.

Tabla 6. Disminución del área con el transcurso del tiempo en valores medio y desviación estándar

Grupo		Días						
		1	2	3	4	5	6	7
Control	X	10a	8,8b	8,8b	8,4b	7,8b	7,8b	7,8b
	± d.s	0	0,45	0,45	0,55	0,84	0,84	0,84
Sulfadiazina de Plata	X	10a	8,8b	8,4bd	7,6d	6,2c	4,0e	3,8f
	± d.s	0	0,45	0,05	0,89	1,3	0,71	0,45
Jugo de caña deshidratado	X	10a	8,2b	7,20b	5,4c	5c	3,6d	3,0e
	± d.s	0	1,3	0,45	0,89	0,71	1,14	0,17

a, b, c, d, e : Significación estadística ($p < 0,05$), d.s: desviación estándar

Tabla 7. Resultados histopatológicos del guarapo

Grupo	Epitelización de la epidermis (%)		Maduración de la dermis (%)	
	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II
I Control	66,66	6,6	20	40
II Sulfadiazina de Plata	20	30	20	73,3
III Jugo de caña deshidratado	13,3	60	-	100

CONCLUSIONES

- Con la aplicación oftálmica del guarapo deshidratado en la estructura ocular, se obtiene un índice de irritación de 1,0 puntos, lo que lo clasifica como no irritante.
- El jugo de caña deshidratado pasa satisfactoriamente la prueba de irritabilidad dérmica y se clasifica como no irritante.

- El producto no indujo toxicidad aguda dérmica en los animales de experimentación, por lo que se considera prácticamente inocuo para los humanos cuando se aplica de forma aguda. No son necesarios estudios de toxicidad aguda a dosis superiores.
- El jugo de caña deshidratado no produjo toxicidad aguda por la vía oral en los animales de experimentación con el empleo de la dosis límite; se consideró como sin clasificar, por lo que no resulta necesario estudiarlo con dosis superiores.
- Los resultados obtenidos indicaron que el jugo de caña deshidratado en el tratamiento de los 7 días presentó efecto acelerador de la cicatrización.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Campo, F.; Santo Tomás, J.; Bermello, A.; Leal, C.; Díaz, A.; Hernández, Y.; *et al.* Secado de jugo de caña. Estudio preliminar en secadores continuos convencionales y en batch. ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar. 38 (3): pp. 54-59, 2004.
2. Campo, F.; Díaz, A.; Hernández, Y.; Borges, D. Secado de jugos en la industria azucarera como alternativa de diversificación sostenible. ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar. 44 (2): pp. 26-33. 2010.
3. Campo, F.; Díaz, A.; Reyes, I.; Hernández, Y.; López, P. Certificado de autor de invención No. 23715. Procedimiento de obtención de azúcar amorfo. Cuba, 2011.
4. Díaz, A.; Campo, F.; Díaz, A.; Hernández, Y.; López, P. Evaluación de los parámetros de secado para la obtención de guarapo deshidratado empleando un secador por aspersión. ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar. 41(1): pp. 48-51, 2007.
5. Díaz, A.; López, P.; Campo, F.; Hernández, Y.; Ramírez, V. Deshidratación de guarapo en secadores de tambor y spray. Memorias XVI Forum de Ciencia y Técnica. 2008.
6. Díaz, A.; Campo, F.; Pérez, B.; Hernández, Y. Aporte nutricional del guarapo deshidratado en alimentos. Memorias de la II Convención Internacional Alimentación saludable para la comunidad y el turismo. 2009.
7. Díaz, A.; Campo, F.; Hernández, Y.; Cabrera, E. Influencia del secado en la caracterización del producto guarapo deshidratado. Memorias del V Congreso Latinoamericano de Profesionales y Estudiantes de Ciencia y Tecnología de los Alimentos CLETA 5. Mayo 2010.
8. Santo Tomás, J.; Bermello, A.; del Valle, M.; Campo, F. Jugo de caña de azúcar deshidratado. Análisis de azúcar. Cuba Azúcar 32, pp. 34-38, 2003.
9. González, H.; Rodríguez, M.; Machado, J.; González, J. Heridas. Métodos de tratamiento Medisan 8: 33-42. 2004.
10. Haddad, M.; Bruschi, D.; Martins, E.. The effect of sugar on the process of cicatrization of infected surgical incisions. Rev. Lat. Am. Enfermagem. 8: pp. 57-65. 2000.
11. Pujol, V.; Díaz, J.; Rodríguez, J.; Arias, M. Contaminación microbiológica y actividad antimicrobiana del azúcar de caña cristalizado sobre algunos agentes de interés médico en Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 56 (2): pp431-437, 2008.
12. Ecobichon, D.J. Toxicology and risk assessment. En: Hui YH, ed. Encyclopedia of food science and technology. New York: John Wiley, Vol 3:pp. 2589-91. 1991.
13. Speid, H.; Lumber, C.; Walker, R. Harmonization of guidelines for toxicity testing of pharmaceuticals by 1992. Toxicol Pharmacol 1990;12(2):pp. 181-2.
14. García, C.; Bueno, V.; García, G.; Capó, J. Estudio toxicológico de un producto derivado de la caña de azúcar. Rev Cubana Farm 31 (.2): pp. 56-64. 1997.
15. Piloto, A.; García, G.; Valdivieso, A.; Lorenzo, D. Estudio fármaco-toxicológico del extracto fluido de uva caleta al 50 %. Anuario Toxicología 1(1):pp. 126-31. 2001.
16. PNT/TEC/0208. Ensayo de irritabilidad oftálmica. CIEB-IFAL-UH.1996.
17. PNT/TEC/0207. Ensayo de irritabilidad dérmica. CIEB-IFAL-UH.1996.
18. Organización para la Cooperación Económica y el Desarrollo (OECD). Guide-lines for Testing of Chemicals. Paris 423. 2001.
19. Organización para la Cooperación Económica y el Desarrollo (OECD). Guidelines for Testing of Chemicals. Paris 402. 1987.
20. PNT/TEC/0125. Ensayo de efecto cicatrizante. CEIEB-IFAL-UH.1996.

Estudio de la digestión anaerobia mediante el ensayo de actividad metanogénica empleando vinazas con diferentes contenidos de sulfatos

Yaniris Lorenzo-Acosta¹, Juana María Chanfón-Curbelo¹, Ileana Pereda-Reyes²

1. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar
Vía Blanca 804 y Carretera Central. San Miguel del Padrón. La Habana. Cuba.

2. Instituto Superior Politécnico José Antonio Echeverría. (ISPJAE).
Calle 114, No. 11901. entre 119 y 129. Marianao. La Habana, Cuba.
email: yaniris.lorenzo@icidca.edu.cu

RESUMEN

Se discute el sistema de ecuaciones que conforma un modelo matemático del proceso de cocción de las masas cocidas finales en los tachos, que será empleado en la parte 2 del presente trabajo para simular el proceso frente a diferentes alternativas de control ideal. Teniendo en cuenta la aplicabilidad del ensayo de Actividad Metanogénica Específica, en este trabajo se utiliza este método, como herramienta de control para el estudio de la digestión anaerobia, empleando como sustrato vinazas de destilerías con diferentes contenidos de sulfato e igual carga orgánica en términos de DQO y DBO. Los resultados evidencian que al utilizar la vinaza de menor contenido de sulfato, se obtiene una producción de metano mayor, lo que trae consigo un mayor valor de Actividad Metanogénica Específica. De esta forma, se corrobora la necesidad de obtener vinazas con bajos contenidos de sulfato en la fermentación alcohólica si se pretende emplear como tratamiento de las mismas un proceso anaeróbico.

Palabras clave: Actividad Metanogénica Específica, AME, digestión anaerobia, vinaza de destilería.

ABSTRACT

The Specific Methanogenic Activity Test is used in present paper taking into account its applicability as a monitoring tool for the study of anaerobic digestion, using as substrate slops from distilleries with different sulphate content and equal in terms of the same organic load in terms of COD and BOD. The results show that using the lower sulphate-content slops content it results in a higher methane production, which contribute with a higher value of Specific Methanogenic Activity. Thus, it corroborates the necessity to reduce sulphate content in vinasses from alcohol fermentation if the anaerobic treatment is going to be used.

Keywords: Specific Methanogenic Activity, SMA, anaerobic digestion and stillage distilleries.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, el estudio del proceso de sulfato-reducción en la digestión anaerobia está adquiriendo gran interés, debido a su posible aplicación para el tratamiento de aguas contaminadas con metales pesados en reactores sulfato-reductores, en los que la eliminación conjunta del sulfato y los metales produce sulfuros metálicos como precipitados insolubles, con el inconveniente de que el producto gaseoso de este proceso anaerobio, el biogás, se encontrará empobrecido de metano (CH_4) y con un alto porcentaje de sulfuro de hidrógeno (H_2S), por la inhibición de la etapa de metanogénesis (1, 2). De forma general, la aplicación de un proceso de digestión anaerobia como alternativa de tratamiento a efluentes ricos en sulfatos, trae consigo la coexistencia de bacterias sulfato-reductoras (BSR) con los microorganismos metanogénicos involucrados en este mecanismo (3, 4), para producir un biogás con bajo poder calórico, necesitado de un proceso de desulfurización posterior, para su uso como biocombustible.

En el campo de la industria azucarera, los efluentes líquidos del proceso de producción de azúcar y etanol pueden ser empleados para la producción de biogás, donde las vinazas o mostos de destilerías son los que más potencial poseen para este fin; sin embargo, es el efluente que mayor contenido de sulfato presenta en su composición (5), aspecto que puede ser minimizado desde el proceso de obtención de etanol, si se trabaja con ácidos y sales nutrientes no azufradas en el proceso de fermentación (6), para poder obtener vinazas de más bajo contenido de sulfato. De esta manera, en el proceso de digestión anaerobia a partir de vinazas de destilerías, habrá menor crecimiento y desarrollo de las bacterias sulfato-reductoras (BSR) y mayor en las bacterias metanogénicas porque disminuirá la competencia de sustratos intermediarios entre estas bacterias, y así el biogás obtenido en el tratamiento de efluentes de menor contenido de sulfato se verá favorecido (2-4), aspecto que puede ser estudiado en ensayos de Actividad Metanogénica Específica (AME). Esta es una importante herramienta para el estudio y monitoreo de los procesos de digestión anaerobia, según varios autores (7-11), ya que el ensayo puede ser utilizado

para la determinación de la capacidad de asimilación que tienen las bacterias metanogénicas para producir biogás a partir de diferentes sustratos.

De ahí que el objetivo de esta investigación sea emplear el Ensayo de Actividad Metanogénica Específica, como herramienta de control, para el estudio del proceso de digestión anaerobia con vinazas de destilerías de diferentes contenidos de sulfatos, como sustrato.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio de la digestión anaerobia, mediante el AME, comprende la utilización de un mismo tipo de sustrato (vinaza de destilerías a partir de la fermentación de mieles finales de caña). Las vinazas utilizadas fueron de la misma procedencia, por lo que para evaluar el comportamiento de la digestión anaerobia en presencia de altos valores de sulfato, se añadió, a una misma fuente de obtención de vinaza, el doble de su contenido de sulfato, además de sulfato de magnesio (MgSO_4) (12), con el fin de eliminar la interferencia de la conversión de DQO a metano. Se logró así evaluar vinazas de iguales cargas contaminantes y diferentes valores de sulfato.

Existen diferentes protocolos a nivel mundial para determinar el AME, que presentan diferencias en términos de la concentración del inóculo utilizado, el tipo y concentración del sustrato, la relación alimento/microorganismos, el tipo y concentración de nutrientes y el tiempo de incubación. De esta forma, la desventaja del método radica en que solo es posible utilizarlo en términos comparativos, cuando las condiciones o fases operacionales sean iguales en los reactores anerobios a comparar (13).

La fuente de inóculo, común para cada reactor anaerobio empleado en el estudio, fue procedente de un digestor UASB a escala industrial que trata vinazas de destilería; de ahí que sea posible, no tener en cuenta, la variable de tiempo de incubación, antes de la adición del sustrato.

Se evalúa también en este estudio la AME del inóculo, utilizando acetato de sodio como sustrato (1 g DQO/L), con el objetivo de determinar la máxima producción de metano, que el lodo empleado

(inóculo) puede transformar, a partir de un sustrato de fácil degradación, con micronutrientes solo en esta condición del ensayo (14). La composición de los micronutrientes utilizados se describe en la tabla 1.

Tabla 1. Composición de los micronutrientes

Medio	g/L
NaHCO ₃	0,4
NH ₄ CL	0,28
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,1
Extracto de levadura	0,1
K ₂ PO ₄	0,25
CaCL ₂ H ₂ O	0,01
Solución de elementos trazas	1 mL

La caracterización del lodo y del sustrato (vinaza) fue realizada según los procedimientos descritos (15) para aguas y aguas residuales.

Estos micronutrientes, una vez pesados, se disuelven en un litro de agua destilada, se le adiciona 1 ml de solución de elementos traza y se esteriliza en la autoclave a 121 °C durante quince minutos.

Los elementos trazas utilizados (tabla 2) se pesan y se disuelven en un litro de agua destilada y solo se toma 1 mL.

Tabla 2. Composición de la solución de los elementos trazas

Solución de elementos trazas	Valores (mg/L)
FeCL ₃ .4H ₂ O	2000
ZnCL ₂	50
CuCL ₂ .2H ₂ O	38
MnCL ₂ .4H ₂ O	500
(NH ₄) 6MoO ₂₄ .4H ₂ O	50
AlCL ₃ .6H ₂ O	90
CoCL ₂ .6H ₂ O	2000
NiCL ₂ .6H ₂ O	152
NaSeO.5H ₂ O	164
EDTA	1000
Rezarsurina	200
HCl 36 %	1 mL

Para las dos condiciones del ensayo, cuando se utiliza vinaza como sustrato, la

concentración de la biomasa en cada frasco (sólidos suspendidos volátiles (SSV), así como la cantidad de lodo a adicionar, se calcularon según los balances de materiales de las ecuaciones 1, 2 y 3 para mantener una relación 1:1 de alimento-microorganismo, relación recomendada para realizar el ensayo de AME (12, 13). Por tanto, se deben cumplir que los kilogramos de DQO de vinaza/ SSV lodo =1.

Se utilizaron como reactores, frascos de 400 ml y condiciones anaerobias; en cada uno se burbujeó nitrógeno durante 5 min, antes de cerrar herméticamente los frascos.

Base de cálculo: 380 de volumen efectivo de reactor.

$$V_{vinaza} * C = V_{lodo} * C \quad \text{ec. 1}$$

$$\frac{V_{vinaza} * DQO_{vinaza}}{V_{lodo} * SSV_{lodo}} = 1 \quad \text{ec. 2}$$

$$V_{lodo} = \frac{V_{mezcla} * DQO_{vinaza}}{SSV_{lodo} + DQO_{vinaza}} \quad \text{ec. 3}$$

donde:

V_{vinaza}: Volumen de vinaza (ml)

V_{lodo}: Volumen del lodo (ml)

V_{mezcla}: Volumen de la mezcla vinaza y lodo a añadir al reactor (ml)

De esta forma, se conoce cuánto hay que adicionar de lodo y vinaza para mantener la relación de alimento/microorganismo igual a uno y ocupar el mayor espacio dentro del reactor (380 ml de 400 ml).

La temperatura de trabajo fue controlada a 30 °C. El metano producido como resultado del proceso de biometanización fue cuantificado por el método de desplazamiento utilizando NaOH al 3 % y a medida que el biogás pasa a través de estas soluciones de pH ≥ 12, el CO₂ del biogás se convierte en carbonato y es adsorbido dentro del líquido. Únicamente el gas metano pasa a través de la solución y un volumen equivalente es impulsado fuera de la botella de Mariotte (figura 1) (16).

Las mediciones fueron realizadas cada 30 min, se realizaron tres réplicas para cada condición del ensayo y se graficaron los promedios de los resultados de los desplazamientos acumulados de metano (CH₄ vs. tiempo) para determinar la máxima velocidad de producción de CH₄ en el tiempo (16).

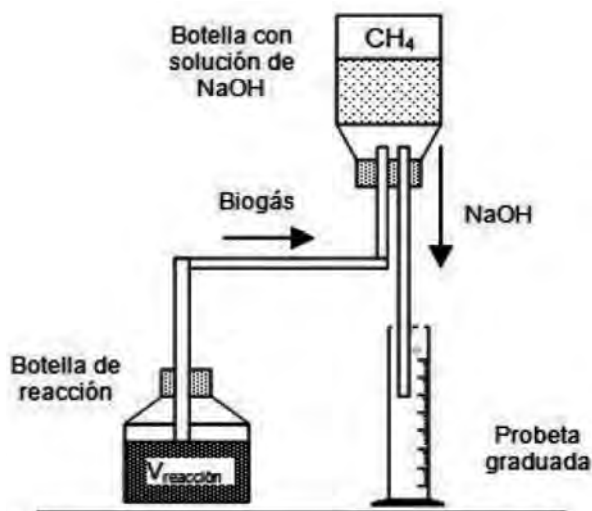


Figura 1. Diagrama de preparación del ensayo de AME.

Para el cálculo de la actividad metanogénica específica (AME) se utiliza la ecuación 4 (14, 16).

$$AEM = \frac{dVCH_4/dt * 24}{FC * V * SSV} = gDQOCH_4 / gSSV.d$$

ec. 4

donde:

FC: Factor de conversión CH_4 mL /g

DQO_{eliminado} a 30 °C = 405 (16).

$dVCH_4/dt$: Velocidad de producción de CH_4 .

Valor de la pendiente en el período de tiempo que se observa la máxima velocidad (mL/h)

V: Volumen efectivo de líquido en el vial (L)

SSV: Sólidos suspendidos del inóculo (g/L)

La AME se expresa en g DQO CH_4 /g SSV.d

De la gráfica confeccionada se escoge para el valor de $dVCH_4/dt$ la mayor pendiente entre dos puntos consecutivos y se calcula la AME según la ecuación 4.

RESULTADOS

Las características de las vinazas empleadas como sustrato en el ensayo de biodegradabilidad del test de AME se reportan en la tabla 3.

La caracterización del lodo utilizado como inóculo arrojó que poseía un contenido de sólidos de: SST = 27720 mg/L, SSF = 8920 mg/L y SSV = 18800 mg/L.

La cantidad de lodo y de vinaza a adicionar en cada reactor se calcula según ecuación 1-3. De esta forma, se conoce cuánto hay que adicionar de lodo (302 ml) y vinaza (78 ml) para mantener la relación de alimento/microorganismo igual a uno y ocupar el mayor espacio dentro del reactor (380 ml de 400 ml).

$$V_{lodo} = 380 * 72618 / (18800 + 72618) = 302 \text{ ml}$$

$$V_{vinaza} = 380 - 302 = 78 \text{ ml}$$

Como se observa en la tabla 4, para cada condición estudiada el tiempo máximo de experimentación fue de 5 horas (300 min.), para cada condición de experimentación, lo que evidencia que el lodo estuvo adaptado previamente a este tipo de sustrato de difícil degradación como son las vinazas de desti-

Tabla 3. Características de las vinazas empleadas en el ensayo AEM

Parámetros	Unidades	Vinaza con menor contenido de sulfato	Vinaza con mayor contenido de sulfato
DQO	mg/l	72 618	72 618
DBO	mg/l	32 500	32 500
pH	mg/l	4,09	4,09
SSV	mg/l	7660	7660
ST	mg/l	63 360	63 360
STF	mg/l	18 200	18 200
STV	mg/l	45 140	45 140
SST	mg/l	10 900	10 900
Nitrógeno	mg/l	840	840
Calcio	mg/l	0,29	0,29
Fósforo	mg/l	0,5	0,5
Sulfato	mg/l	2343	4343

Tabla 4. Resultados de las mediciones de desplazamiento del líquido por el CH₄ producido en cada experimentación

Tiempo (min)	Desplazamiento (ml)		
	Patrón de acetato de sodio	Vinazas con 2,3 g/l de sulfato	Vinaza con 4,3 g/l de sulfato
30	0	0	0
60	21,0	0	0
90	41,6	0,4	0,6
120	58,3	2	3,2
150	64,5	14,8	11,4
180	64,5	26,4	19,8
210	64,0	33,2	24,7
240	64,5	34,4	27,5
270	64,0	35	28,4
300	64,0	35,2	28,8

Valores reportados en promedio

lería, al compararlo con los resultados que arroja el acetato de sodio empleado como sustrato patrón.

En la figura 2 se grafican los resultados de la producción de metano en ml de desplazamiento en función del tiempo (min) de experimentación.

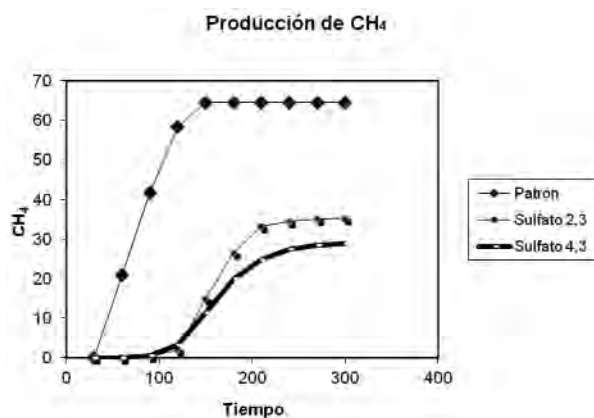


Figura 2. Producción de metano en función del tiempo para cada condición de experimentación.

Los resultados evidencian (figura 2) que la máxima producción de metano ocurre cuando se adiciona al lodo un sustrato de fácil degradación como es el acetato de sodio (curva patrón). La curva de menor pendiente es la de la vinaza de mayor contenido de sulfato (sulfato 4,3) y donde menor cantidad de metano tiene el biogás producido.

Al comparar las vinazas empleadas como sustrato se observa que hay mayor producción de metano cuando se emplean vinazas de menor contenido de sulfato, lo que trae consigo que, al obtener en la fermentación alcohólica a escala industrial, vinazas con menor contenido de sulfato para su tratamiento por digestión anaerobia, se obtenga mayor cantidad de metano por gramo de biomasa. De esta forma, el biogás a obtener tendrá mayor poder calórico.

Los valores de AME para cada condición son los siguientes: 1,7; 0,76 y 0,46 g DQOCH₄/gSSVd cuando se emplea acetato de sodio, vinaza de menor contenido de sulfato y vinaza de mayor contenido de sulfato, respectivamente. Comparando estos resultados, se corrobora que se obtiene mayor porcentaje de metano en el biogás, cuando se tratan anaeróbicamente sustratos de menor contenido de sulfato. El bajo valor de AME (0,46) supone la presencia y proliferación de las BSR en el consorcio bacteriano, comparado con las BM, aspecto que puede ser estudiado y verificado posteriormente en ensayos microbiológicos (4, 17).

Debido a la falta de una metodología estándar para el estudio de la digestión anaerobia mediante el test de AME, utilizando efluentes líquidos (4), los resultados de estos ensayos, serán muy útiles a la comunidad científica, en términos comparativos, cuando se empleen vinazas de destilerías para obtener biogás.

CONCLUSIONES

El ensayo de Actividad Metanogénica Específica es un análisis de laboratorio que puede utilizarse como herramienta para interpretar y conocer la dinámica bacteriana que se desarrolla en un reactor e incidir en el proceso de digestión anaerobia (mediante cambios operacionales) sin afectar el proceso industrial.

Los resultados evidencian que hay una mayor producción de metano cuando se emplean sustratos de menor contenido de sulfato, lo que hace necesario obtener vinazas de este tipo en la fermentación alcohólica, si se pretende emplear como tratamiento de las mismas un proceso anaeróbico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lorenzo, Y.; Obaya, C. La Digestión Anaerobia. Parte I. Aspectos teóricos, ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar (La Habana). 39 (1): pp. 35-48, 2005.
2. Gallegos-García, M.; Celis L. B.; Razo-Flores, E. Competencia por sustrato durante el desarrollo de biomasa sulfatorreductora a partir de un lodo metanogénico en un reactor UASB. Rev. Int. Contam. Ambient. 26 (2): pp. 109-117, 2010.
3. Oude-Elferink, S.; Visser, A.; Hulshoff Pol, L.; Stams, A. Sulphate reduction in methanogenic bioreactors. FEMS Microbiol. Rev. 15: pp. 119-136, 1994.
4. Ferrer, Y.; Pérez, G. Los microorganismos en la digestión anaerobia y la producción de biogás. Consideraciones en la elección del inóculo para el mejoramiento de la calidad y el rendimiento de biogás. ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar (La Habana) 44(1): pp. 9-20, 2010.
5. Valdés, A. Los residuales de la producción del alcohol. [en línea] <http://www.cifaeci.org.co/cursos/programa_i10030705.pdf>.[Consulta: jul.2006].
6. Rojas, L.; Lorenzo, Y.; Domenech, F. Estudio del consumo de ácidos en el ajuste de pH en diferentes medios de fermentación alcohólica. ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar (La Habana). 45 (2): pp. 57-62, 2011.
7. Torres, P.; Pérez, A. Actividad metanogénica específica: una herramienta de control y optimización de sistemas de tratamiento anaerobio de aguas residuales. Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente. No 9: pp. 5-14, 2010.
8. Soto, M.; Mendez, R.; Lema, J.M. Methanogenic and nonmethanogenic activity tests. Theoretical basis and experimental set up. Water Res. 27: pp. 1361-1376, 1993.
9. Chernicharo, C. Principio do tratamento biológico de águas residuárias: reatores anaeróbios. Vol. 5, Cap. 3. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG, Brasil. 1997.
10. Poetsch, P.; Koetz, P. Sistema de determinação da atividade metanogênica específica de lodos anaeróbios. Rev. Bras. Agrociência. 4: pp. 161-165, 1998.
11. Ince, O.; Ince, B.K.; Yenigun, O. Determination of potential methane production capacity of a granular sludge from a pilot-scale up flow anaerobic sludge blanket reactor using a specific methanogenic activity test. J. Chem. Technol. Biotechnol. 76: pp. 573-578, 2001.
12. Pereda, I. Estudio de la potencialidad de los residuos sólidos mineros como estimulante del proceso de digestión anaerobia. Tesis en opción al grado de doctor. ISPJAE, Cuba. 2007.
13. Aquino, S.F.; Chernicharo, C.; Foresti, E.; Florêncio Dos Santos, M.L.; Monteggia, L.O. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. Eng. Sanit. Ambient. 12 (2): pp. 192-201, 2007.
14. López, M.; Torres, Villa, M. P.; Escobedo, R. El comportamiento de reactores anaerobios de residuos sólidos a través de ensayos microbiológicos. Rev. CENIC Ciencias Biológicas, 35 (3): pp. 179-183, 2004.
15. APHA, AWWA y WPCF. Standard Methods for the examination of water and wastewater. 2000.
16. Field, J.; Cierra, R.; Lettingan, G. Ensayos anaeróbios en: 4to Seminario de Depuración Anaerobia de Aguas Residuales. Secretariado de Publicaciones. [cd-rom] 4 ed. España, Universidad de Valladolid, 1998. pp. 52-81.
17. Lens, P.; Omil F.; Lema J.M.; Hulshoff Pol L.W. Biological treatment of organic sulfate-rich wastewaters. En: Environmental Technologies to treat sulphur Pollution. (P. ens y L. Hulshoff Pol, Ed.) IWA Publishing, London. 7, pp. 153-173, 2000.

Obtención y caracterización de la celulosa hidrofóbicamente modificada

Vivian León-Fernández¹, Jacques Rieumont-Briones², Eduardo Bordallo-López¹,
Daisy Dopico-Ramírez¹, Enma Peña-Sacerio¹, Isis Menéndez-Cuesta-Mirabal¹

1. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar
CP 33500, Quivicán, Mayabeque, Cuba.

2. Facultad de Química, Universidad de La Habana, La Habana, Cuba.
vleon69@yahoo.com

RESUMEN

Se presenta la obtención y caracterización físico-química de un derivado de celulosa por funcionalización con grupos carboximetílicos y bencílicos. Estos últimos le confieren carácter hidrófobo al polisacárido. En el espectro RMN CP/MAS ¹³C aparecen picos que corroboran la modificación de la celulosa. La señal correspondiente al grupo carboximetilo se constata a 178,5 ppm y la de los aromáticos se observa a 129,2 ppm y 138-140 ppm. El análisis cualitativo por difracción de rayos X (DRX) permite identificar los principales planos cristalinos para la celulosa I y II, antes y después de la derivatización. Por último, el comportamiento macromolecular en solución evaluado por viscosimetría muestra que el polímero carboximetilado tiene un comportamiento polielectrolítico típico que varía al incrementarse la fuerza iónica, mientras que en el derivado funcionalizado con ambos grupos se aprecia una tendencia a la disminución en la viscosidad reducida, si esta se compara con el material de partida. El comportamiento es similar, independientemente de la fuerza iónica del medio.

Palabras clave: celulosa, carboximetilbencilcelulosa, polímero hidrofóbico.

ABSTRACT

In this paper a cellulose derivative was obtained by the insertion of carboxymethyl and benzyl groups, these latter confer hydrophobicity to the polysaccharide. The ¹³C CP/ MAS NMR spectrum showed peaks that corroborate the modification of cellulose. The corresponding signal to carboxymethyl and aromatic groups appear at 178.5 ppm and 129.2 ppm and 138-140 ppm respectively. Qualitative analysis by XRD allowed the identification of the main crystal planes for cellulose I and II before and after derivatization. Finally, the macromolecular behavior in solution, measured by viscosimetry, showed that the carboxymethylated polymer exhibited a typical polyelectrolyte behavior that varies with increasing ionic strength, while for the derivative functionalized with both groups shows a decreasing trend in the intrinsic viscosity, if this is compared with the starting material. The behavior is the same regardless of the medium ionic strength.

Keywords: cellulose, carboxymethylbenzylcellulose, hydrophobic polymer.

INTRODUCCIÓN

Los polímeros solubles en agua modificados hidrofóbicamente han atraído la atención de la comunidad científica, por abrir una ventana de oportunidades que potencializa sus aplicaciones en múltiples industrias como: tensoactivos, espesantes de pinturas al agua, en la recuperación de petróleo, en los cosméticos, en la medicina y farmacia, entre otras (1-3).

Estos materiales son macromoléculas anfifílicas constituidas fundamentalmente por un esqueleto hidrofílico que se modifica con grupos hidrófobos. En soluciones acuosas son capaces de cambiar su comportamiento producto de la asociación hidrofóbica inter e intramolecular, lo cual trae como resultado las propiedades inusuales que presentan, aprovechadas con fines prácticos en las industrias ya mencionadas.

Pueden obtenerse a partir de polímeros naturales o sintéticos, neutros o iónicos. Su preparación se consigue por formación de un enlace covalente entre los grupos hidrófobos (alquílicos o aromáticos) y los grupos funcionales de la macromolécula. En dependencia de la hidrofobicidad de los grupos y del grado de modificación, se pueden obtener polímeros solubles o insolubles en agua. En el caso de los solubles, se reporta que la sustitución con los grupos hidrofóbicos debe estar entre 5 y 10 % (4).

El componente mayoritario de los materiales lignocelulósicos, el biopolímero de origen natural más abundante y la base estructural de las células vegetales, la celulosa, es completamente insoluble en agua a pesar de su elevada afinidad por ella, lo cual se atribuye principalmente a los enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares entre las cadenas individuales (5). Sin embargo, puede convertirse en un polímero soluble introduciendo grupos funcionales en el esqueleto macromolecular.

El espectro de derivados celulósicos solubles en agua obtenidos en el mundo va desde derivados no iónicos como la metil y la hidroxipropilcelulosa (6, 7) hasta los aniónicos como la carboximetilcelulosa (8, 9). Este último es el éter de celulosa industrialmente más importante y se produce desde grados industriales, sin ninguna refinación, hasta los de alta pureza que son utilizados en alimentos, medicina y farmacia. En los últimos

años, la modificación de este derivado con grupos hidrofóbicos es objeto de estudio de muchos grupos de investigación (10 - 12).

El objetivo de este trabajo es la obtención y caracterización físico-química de un derivado de celulosa por funcionalización con grupos carboximetílicos y bencílicos que solubilizan al polisacárido, a la vez que le confieren carácter hidrófobo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó pulpa de celulosa con un grado de polimerización promedio viscosimétrico GPv 150-200; hidróxido de sodio y cloruro de bencilo (BDH, Inglaterra); ácido monocloraacético (Fluka AB, Heidelberg RFA); cloruro de sodio y ácido acético (Riedel de Hæn, RFA); alcohol isopropílico (Analar, Inglaterra).

Preparación de la carboximetilcelulosa (CMC)

En un balón de 250 ml se añadieron 10 g de celulosa base seca y 90 ml de alcohol isopropílico. Seguidamente, se gotearon 12,8 ml de hidróxido de sodio y se agitó durante 30 minutos. Posteriormente, se adicionaron 12 g de ácido monocloraacético disueltos en 10 ml del solvente. La mezcla de reacción se calentó hasta 70 °C durante 4 h. Transcurrido este tiempo se enfrió, se neutralizó con ácido acético, se filtró y se secó a 50 °C.

Preparación de la carboximetilcelulosa bencilada (CMBz)

En un balón de 250 ml se preparó una disolución acuosa de CMC al 5 %. Se añadieron 50 ml de etanol y se gotearon 3,5 ml de hidróxido de sodio, la agitación se mantuvo durante 30 minutos. Posteriormente, se adicionaron 7,9 ml de cloruro de bencilo y se calentó hasta 70 °C durante 4 h. Transcurrido este tiempo se enfrió, se neutralizó con ácido acético, se filtró y se secó a 50 °C.

Las muestras que se emplearon para las caracterizaciones se purificaron con etanol 80 % hasta que resultaron libres de iones cloruro.

Caracterización de los derivados

Determinación del grado de sustitución (G.S) de la CMC

Fueron disueltos en agua destilada con ayuda de la agitación magnética, 40 mg de

CMC seca. Se acidificó hasta pH 3,0 por adición de HCl 0,5 N y posteriormente se valoró con NaOH 0,5 N empleando una bureta con precisión de 0,05 ml. El análisis se realizó a 25 °C y con agitación constante.

En cada adición se registraron los valores de conductividad y pH utilizando un conductímetro COND 510 y pH-metro Eutech Instruments CyberScan pH 1100. Las lecturas realizadas permitieron construir los gráficos correspondientes en cada caso, utilizando el paquete de programas gráficos OriginPro 8. Para estimar el G.S se procedió según se informa en la literatura (13, 14).

Espectroscopía FT-IR

Los espectros se registraron en un espectrofotómetro FT-IR Bruker IFS 60v en el rango 4000-400 cm⁻¹ en pastillas de KBr.

Medidas de Resonancia Magnética Nuclear en estado sólido (RMN CP MAS ¹³C)

Los espectros RMN CP/ MAS ¹³C fueron obtenidos con un espectrómetro Varian (Unity 400), a frecuencia de resonancia de 100,58 MHz, con banda espectral para polarización cruzada y desacoplamiento 50-70 kHz. El tiempo de contacto para polarización cruzada fue 2 min y el tiempo de repetición 3 s, los espectros se obtuvieron con 2048 pulsos. Los resultados fueron tratados con OriginPro 8 para separar los picos.

Difracción de Rayos X (DRX)

Los difractogramas se registraron con un difractómetro universal de rayos X, modelo URD6, marca Carl Zeiss-Jena. El barrido se realizó a una potencia de 40 kV/20 mA y velocidad de 3 °/min. El índice de cristalinidad (% Gc) se determinó mediante la ecua-

$$\% Gc = 1 - \frac{I_{am}}{I_{002}} \times 100$$

ción 1 utilizada por varios autores (15-17).

I_{002} : Intensidad de la señal en $2\theta = 22-23^\circ$, atribuido a las regiones cristalinas para la celulosa I (entre 18 y 22° para la celulosa II).

I_{am} : Intensidad de la señal en el mínimo a 2θ entre 18° y 19° para la celulosa I (entre 13 y 15° para la celulosa II), correspondiente a las regiones amorfas.

Comportamiento viscosimétrico de los derivados obtenidos

Se preparó una solución madre al 0,2 % a partir de la cual se obtuvieron disoluciones 0,4 g/L ajustadas a valores de pH 2, 4, 6, 8 y 10 por analogía al procedimiento descrito (18). Con los valores obtenidos se plotearon los gráficos de viscosidad reducida vs pH para los dos valores de fuerza iónica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación del grado de sustitución (G.S.) de la carboximetilcelulosa

La figura 1 muestra una curva típica del cambio registrado en la conductividad y el pH durante la valoración. Se observa que en la primera parte de la curva la conductividad decrece rápidamente, lo que se corresponde con la neutralización del ácido añadido. La meseta que aparece después es debido a la neutralización de los grupos carboxílicos, mientras que el incremento al final se asocia con el exceso de base.

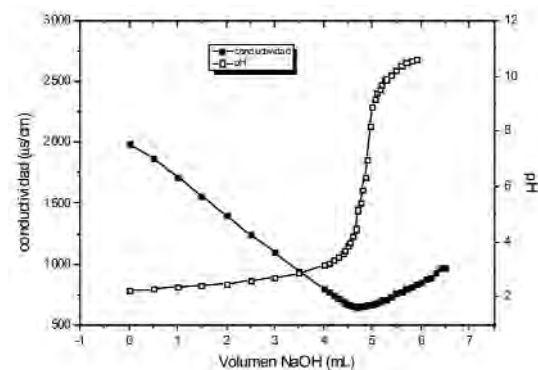


Figura 1. Valoración conductimétrica y potenciométrica del CMC.

El G.S. representa el número de moles de grupos carboximetílicos (-CH₂COO⁻) por mol de anhidroglucosa que resultó ser G.S. = 0,75 ± 0,10, es decir que de los tres grupos hidroxilos de la unidad de glucosa, 0,7 se sustituyeron por carboxilos. Resultados similares fueron alcanzados por Capitania *et al.* (13).

FT-IR

Los espectros obtenidos para la muestra de celulosa y sus derivados están representados en la figura 2.

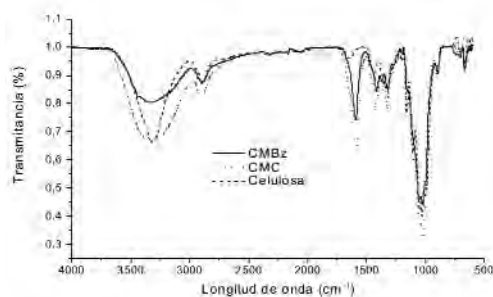


Figura 2. Espectro FT-IR de la celulosa y sus derivados.

Tanto en la celulosa de partida como en los derivados, se observa una banda de absorción ancha e intensa a 3335 cm^{-1} que está asociada al alargamiento de los O-H de los grupos hidroxilos, pero que disminuye en ancho e intensidad en los derivados. La banda en 2895 cm^{-1} corresponde al estiramiento asimétrico de los grupos metileno (CH_2).

En los derivados aparecen bandas intensas a 1650 cm^{-1} , 1420 cm^{-1} y otras múltiples en la región $1140\text{-}1060\text{ cm}^{-1}$, indicativas de los alargamientos de los grupos $\text{C}=\text{O}$, $\text{C}-\text{C}$ y $\text{C}-\text{O}$, respectivamente. La señal en 905 cm^{-1} es debido al alargamiento del $\text{C}-\text{O}-\text{C}$, esto es característico del grupo éter.

Las mayores diferencias entre el derivado carboximetilado y el que tiene los dos grupos funcionales debería visualizarse en la zona de aromática del espectro ($1600\text{-}1450\text{ cm}^{-1}$); sin embargo, la presencia de señales preexistentes dificulta la utilización de esta técnica como diagnóstica.

Espectroscopía RMN CP MAS ^{13}C

El espectro de RMN CP/MAS ^{13}C (figura 3) muestra los picos característicos de los carbonos en el derivado carboximetilado y bencilado y en la tabla 1 se presentan las asignaciones de las señales para cada uno de ellos que coinciden con los obtenidos por otros autores (19, 20).

Las señales de los grupos CH_2 (C_7 y C_{12}) se solapan con las de los carbonos de las unidades de anhidro glucosa y no pueden ser diferenciadas.

El pico C_1 está influenciado por la sustitución en la posición 2. Se observó una pequeña señal (C_1') a los 97 ppm, que corresponde precisamente con la eterificación de C_2 , tal y como fue informado previamente (19).

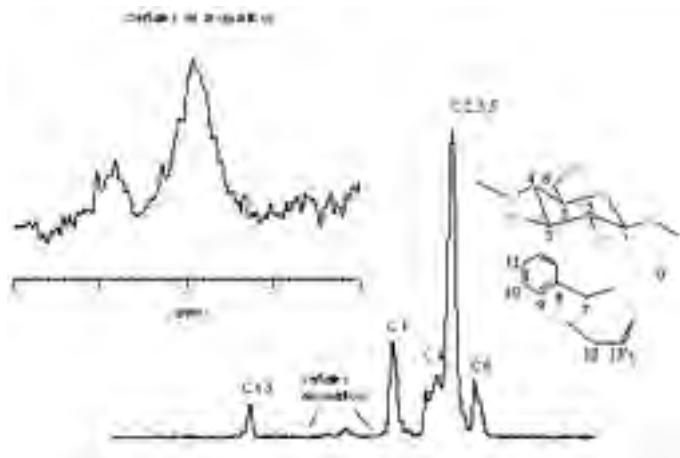


Figura 3. Espectro RMN CP/MAS ^{13}C del CMBz.

Tabla 1. Asignación de los corrimientos químicos en el espectro del CMBz

δ (ppm)	
Carbono	Señal
C_1	105,2
$\text{C}_{2,3,5}$	74,8
C_4	82,7
C_6	62,9
C_{13}	178,5
C_{9-11}	129,2
C_8	138,0- 140,0

Análisis cualitativo por DRX

Celulosa y CMBz

Los difractogramas de la celulosa de partida y la modificada con los dos grupos funcionales difieren en la distribución de los picos, tal y como se refleja en la figura 4. El producto obtenido presenta dos picos de similar intensidad en la región correspondiente a los ángulos de Bragg 20° y 22° , mientras que en el material de partida no se aprecia el desdoblamiento en el pico principal a 23° y aparecen otras dos señales de menor intensidad en 15° y 35° .

Estos resultados son análogos a los reportados en la literatura (17) donde se refieren como principales planos cristalinos para la celulosa I las difracciones próximas a 2θ : 23° (plano 002), 15° (plano 101), 35° (plano 040)

y para la celulosa II, las difracciones en ángulos 23° (plano 002) y 20° (plano 101), las cuales tienen intensidades semejantes. Además, se reporta que debe aparecer también el pico a 15° , cuya identificación puede dificultarse por la difracción difusa que causa la parte amorfa, como ocurre en nuestro caso.

El paso de celulosa I a II está justificado por el tratamiento de la celulosa con hidróxido de sodio para garantizar la activación de los grupos hidroxilos previo a las reacciones de esterificación. El índice de cristalinidad no se afecta considerablemente después de la derivatización.

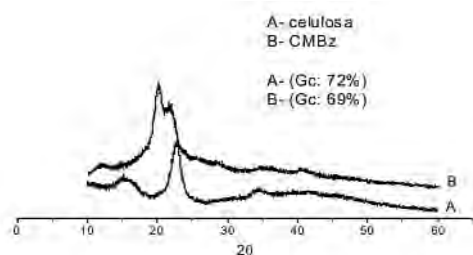


Figura 4. Difractogramas de la celulosa y CMBz.

Comportamiento viscosimétrico

La viscosimetría es una de las técnicas más usadas para la caracterización de los polímeros. A través de las propiedades de flujo de las soluciones poliméricas diluidas se puede obtener información acerca del comportamiento macromolecular en solución. La figura 5 muestra el cambio en la viscosidad reducida con el pH de las soluciones preparadas a las dos fuerzas iónicas estudiadas. La CMC manifiesta un comportamiento polielectrolítico típico. Al aumentar el pH, los grupos carboxilatos (COO^-) se ionizan y contribuyen a incrementar el volumen hidrodinámico por las interacciones electrostáticas entre ellos. Cuando la fuerza iónica aumenta (NaCl 0,1 M), se reducen dichas interacciones por efecto del apantallamiento sobre las cargas, lo que conduce a que la viscosidad disminuya bruscamente.

Se ha informado (10) que en los copolímeros, en presencia de sales, se pueden presentar dos efectos que contribuyen a que ocurra la contracción en la macromolécula: apantallamiento de las interacciones electrostáticas e interacciones hidrofóbicas intramoleculares.

En nuestro caso, al observar los gráficos para el CMBz se aprecia que el comporta-

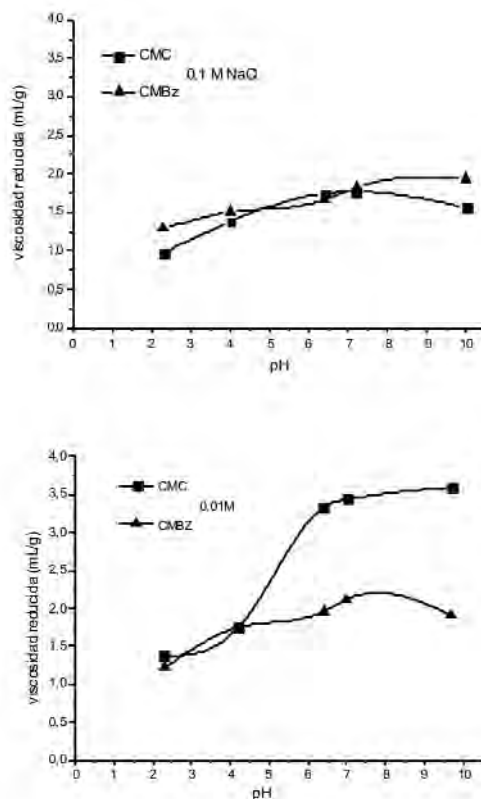


Figura 5. Viscosidad reducida vs. pH: arriba 0,1 M NaCl, abajo 0,01 M NaCl.

miento es similar. Al incrementar la fuerza iónica no hay variación dramática en la viscosidad como ocurre con el CMC. Se pudiera decir entonces, que predominan las interacciones hidrofóbicas intramoleculares por encima de las repulsiones electrostáticas y que el efecto de apantallamiento sobre las cargas, cuando aumenta la fuerza iónica, no se asocia con un cambio en la viscosidad.

Por otra parte, la menor viscosidad del CMBz con relación a la CMC (NaCl 0,01M) se explica de igual forma: el predominio de las interacciones hidrofóbicas intramoleculares provoca que el polímero se enrolle, el volumen hidrodinámico disminuya y por lo tanto la viscosidad también.

CONCLUSIONES

Se propone un método para funcionalizar la celulosa con grupos carboxilos iónicos y bencilos hidrófobos que le confieren a la macromolécula propiedades *sui generis*. La sustitución se corroboró por espectroscopía FT-IR y RMN CP MAS ^{13}C al realizarse

la asignación de las señales en los espectros correspondientes. Se obtuvo un G.S de grupos carboxilos de $0,75 \pm 0,10$. Por DRX se identificaron los principales planos cristalinos para la celulosa I y II. Se comprobó además, que el porcentaje de cristalinidad no se afecta por la derivatización.

La viscosidad reducida experimenta una variación que depende marcadamente de la fuerza iónica del medio para el caso del CMC, no siendo así para el derivado con los dos grupos funcionales donde el comportamiento es similar, independientemente de la fuerza iónica del medio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lukyanov, A. N.; Torchilin, V.P. Micelles from lipid derivatives of water-soluble polymers as delivery systems for poorly soluble drugs. *Adv Drug Delivery Rev*, 56 (9): pp. 1273-1289, 2004.
2. Zhou, G.; Xie, M; Liu, M.; Wu, H; Long, X.; Yu, P. Dissolution characteristics of hydrophobically associating polyacrylamide in stirred tanks. *Chinese J Chem Eng*, 18 (1): pp.170-174, 2010.
3. Karlson, L.; Joabsson, F; Thuresson, K. Phase behavior and rheology in water and in model paint formulations thickened with HM-EHEC: influence of the chemical structure and the distribution of hydrophobic tails. *Carbohydr Polymers*, 41 (1): pp. 25-35, 2000.
4. Khutoryanskiy, V.V. Synthesis and solution properties of hydrophobically modified polysaccharides. *Eurasian Chem Tech JI (Kazakhstan)*, 7: pp. 99-113, 2005.
5. Sarko, A. What is the crystalline structure of cellulose? *TAPPI J* 61 (2): pp. 59-61, 1978.
6. Donges, R. Non-ionic cellulose ethers. *British Polymer J*, 23 (4): pp. 315-326, 1990.
7. Siepmanna, J., Peppas, N.A. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). *Adv Drug Delivery Rev*, 48: p. 139, 2001.
8. Cai, X., Luan, Y., Dong, Q., Shao, W., Li, Z., Zhao, Z. Sustained release of 5-fluorouracil by incorporation into sodium carboxymethylcellulose sub-micron fibers. *Int J Pharmaceutics*, 419: pp. 240- 246, 2011.
9. Hernández, Y.; León, V. Fragosó, A. MenéndezCuesta, I.; Bordallo, E. Obtención de celulosa esférica, carboxi-
metilación, entrecruzamiento e inmovilización de monoaminociclodectrina. *ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar*. 45 (2), 2011.
10. Vidal, R.; Balaban, R.; Borsali, R. Amphiphilic derivatives of carboxymethylcellulose: Evidence for intra and intermolecular hydrophobic associations in aqueous solutions. *Polym Eng Sci* 48 (10): pp. 2011-2026, 2008.
11. Stuart, M.A.; Fokkink, R.G.; Van der Horst, P.M.; Lichtenbelt, J.W. The adsorption of hydrophobically modified carboxymethylcellulose on a hydrophobic solid: effects of pH and ionic strength. *Colloid Polym Sci (Steinkopff Verlag)* 276: pp. 335- 341, 1998.
12. Yang, Fang; Li, G.; Yan-Gang, H.; Ren, F.X, Wang G. X. Synthesis, characterization, and applied properties of carboxymethyl cellulose and polyacrylamide graft copolymer. *Carbohydr Polymers*, 78: pp. 95-99, 2009.
13. Capitania, D.; Porrob, F; Segrea, A.L. High field NMR analysis of the degree of substitution in carboxymethylcellulose sodium salt. *Carbohydr Polymers*, 42: pp. 283-286, 2000.
14. Oliveira, G. Tesis para optar por el grado de Máster en Ciencias e Ingeniería de Materiales. Universidad de São Paulo, Brasil. 2000.
15. Tasker, S. Badyal; JP; Backson, S.C. Hidroxyl accessibility in celluloses. *Polymer*, 35 (22): pp. 4717-4719, 1994.
16. Bailey, AV; Honold E. Skau E.L. Topochemical mechanisms involved in the preparation and deacetylation of partially acetylated cottons. *Textile Res J*, 28 (10): pp. 861-873, 1958.
17. Browning B.L. *Methods of Wood Chemistry*. Wiley, J. Intersci Publisher (USA), pp. 499-518, 1967.
18. León, V. Tesis para optar por el grado de Máster en Química y Física de Polímeros. UH, Cuba. 2003.
19. Heinze, T.; Rensing, S.; Koschella, A. Starch derivatives of high degree of functionalization. 13. Novel amphiphilic starch products. *Starch/Stärke*, 59: pp. 199-207, 2007.
20. Ramos, L.A., Frollini, E., Koschella, A., Heinze, T. Benzylolation of cellulose in the solvent dimethylsulfoxide/tetrabutylammoniumfluoride trihydrate. *Cellulose*, 12: pp. 607-619, 2005.

Obtención de celulosa microcristalina a partir del bagazo de la caña de azúcar

Lucia García-García, Eduardo Bordallo-López, Daisy Dopico-Ramírez,
Dolores Cordero-Fernández

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar
Vía Blanca 804 y Carretera Central, San Miguel del Padrón, La Habana, Cuba
lucia.garcia@icidca.edu.cu

RESUMEN

Se presentan los resultados de la obtención de celulosa microcristalina (MCC) a partir del bagazo de la caña de azúcar para usos farmacéuticos. El bagazo de la caña de azúcar fue desmedulado en suspensión, prehidrolizado en fase acuosa, pulpeado en presencia de NaOH y blanqueado con una secuencia dióxido-extracción-dióxido, con el objetivo de obtener una pulpa blanqueada que permita aislar la fracción cristalina de la celulosa. Se obtuvo una pulpa cruda con un número de permanganato de 8,5 y una pulpa blanqueada con una brillantez de 89,3 Elrepho y contenido de α -celulosa de 92,5 %. La hidrólisis parcial controlada de la celulosa, con ácido clorhídrico, permitió obtener la fracción cristalina de la celulosa con un contenido del 97 % en celulosa y un grado de polimerización entre 180-200 con grado farmacéutico adecuado. Los diferentes productos fueron caracterizados por las normas TAPPI y por las normas Farmacopea. Se llevaron a cabo ensayos de rayos X al producto final. El producto cumplió con los requerimientos de calidad exigidos por las diferentes normas. En el difractograma de rayos X se identificaron los mismos picos que en celulosa microcristalina obtenida a partir de madera.

Palabras clave: fibra dietética, celulosa de elevada pureza, grado farmacéutico.

ABSTRACT

This paper presents the results of the production of microcrystalline cellulose (MCC) from sugar cane bagasse for pharmaceutical uses. Sugar cane bagasse was depithed in suspension, prehydrolyzed in aqueous phase, pulped with NaOH and bleached with a sequence chlorine dioxide- extraction- chlorine dioxide, with the objective of obtain a bleached pulp to isolate the cellulose crystalline fraction. A raw pulp is obtained with a permanganate number of 8,5 and a bleached pulp with an Elrepho brightness of 89,3 and α -cellulose content of 92,5 %. The controlled partial hydrolysis of cellulose, with hydrochloric acid, yields the cellulose crystalline fraction of with a content of 97% cellulose and a polymerization degree between 180 - 200, which, matched pharmaceutical grade. The different products were characterized by the TAPPI Standards, the Pharmacopoeia standards and the final product was examined by X-ray. The product meets the quality requirements demanded by pharmacopoeia standards and their X-ray diffraction pattern identifies the same peaks as microcrystalline cellulose obtained from wood.

Keywords: cellulose of elevated purity, pulping, dietary fiber, pharmaceutical grade.

INTRODUCCIÓN

La celulosa (55 % de la fibra del bagazo fórmula molecular $(C_6H_{10}O_5)_n$), es un polímero de alto peso molecular, lineal y polidisperso. Sin embargo, sus cadenas tienen una alta tendencia a formar agregados altamente ordenados, como consecuencia de su constitución química y de su capacidad para formar enlaces de hidrógeno inter e intramoleculares entre los grupos hidroxilo de las unidades de anhidroglucosa (u.a.g), durante la biosíntesis (1) (figura 1).

Los enlaces de hidrógeno son los responsables de la alta cohesión molecular en la celulosa, lo que aparejado a la ausencia de ramificaciones, origina que las cadenas puedan alinearse en grupos, formando zonas ordenadas (cristalinas) unidas a regiones desordenadas (amorfes). El resultado es una macromolécula semicristalina en un 60 %, con un carácter esencialmente hidrofílico pero insoluble en agua, con todos los grupos hidroxilo comprometidos en la formación de enlaces de hidrógeno (3).

El aislamiento y purificación (4) de la fracción cristalina de la celulosa se ha estudiado mediante la hidrólisis parcial controlada con ácidos minerales, a partir de diferentes materias primas, tales como: linter de algodón, diferentes tipos de maderas y, en menor medida, a partir de plantas anuales y residuos, bambú, cáscara de trigo, papeles de desecho, cáscara de nuez, bagazo de la caña de azúcar y otras.

Cuando la celulosa se aísla de otros componentes, se puede obtener en forma de cristal por medios químicos (5). Debido a la menor reactividad frente a los agentes químicos de las regiones cristalinas, o más ordenadas, se explica fácilmente la posibilidad de aislar la fracción cristalina de la celulosa por hidrólisis controlada con ácidos minerales. En el transcurso de la hidró-

lisis se atacan preferentemente las áreas amorfas y se produce una disminución del GP promedio (grado de polimerización medio) con el tiempo, pero dependiendo de las condiciones de esta, al cabo de cierto período se obtiene una constancia en su valor y una celulosa llamada "grado de polimerización nivelado" o "celulosa GP". El valor de dicho GP permanece invariable, aunque prosiga ulteriormente el proceso de hidrólisis (6).

Se concluye que la celulosa microcristalina (MCC) es un derivado de la α -celulosa despolimerizada y purificada a partir de plantas fibrosas. Esta constituye la fracción sólida de bajo peso molecular, resistente a la hidrólisis parcial controlada de la celulosa en medio ácido (7). Es un producto blanco, inodoro, libre de contaminantes orgánicos e inorgánicos, insoluble en agua, solventes orgánicos y ácidos diluidos y parcialmente soluble en álcalis diluidos. Contiene no menos del 97 % de celulosa de alta cristalinidad calculada sobre base seca.

La naturaleza química de este producto (celulosa de elevada pureza) y su estructura física (con gran desarrollo superficial) han hecho surgir una amplia gama de posibilidades de aplicación, partiendo de la forma pulverulenta o de la suspensión coloidal.

En particular, la MCC se utiliza como excipiente en la industria farmacéutica como agente de compactación y desintegración en el tableteo farmacéutico; es utilizado también, en cápsulas, como portador del color y el sabor.

Entre las fuentes más abundantes de fibra dietética insoluble (carbohidrato no digerible por el hombre), se destaca la celulosa, el carbohidrato más abundante en la naturaleza, ya que constituye una parte significativa de la masa de las plantas. Diferentes autores destacan la importancia que tiene el consumo de las fibras para la

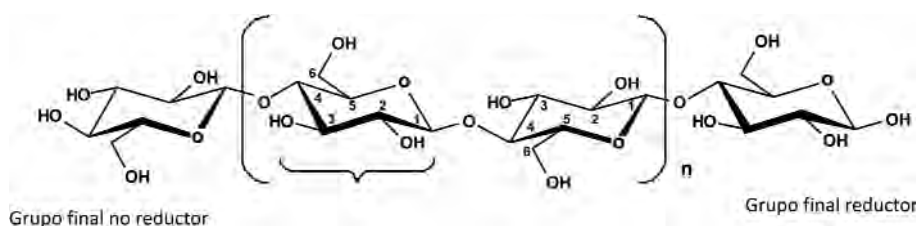


Figura 1. Estructura química de la celulosa (2).

salud del hombre. Las fibras influyen en la función del intestino grueso, pues reducen el tiempo de tránsito, aumentan el peso y la frecuencia de las deposiciones y diluyen el contenido intestinal mediante su fermentación por la microflora, que habitualmente se haya presente en él.

Uno de los productos más comunes de ella es la celulosa microcristalina, que se utiliza como sustituto de harina y azúcar en alimentos de bajas calorías (8). Como resultado del trabajo conjunto con la industria alimenticia, se investigó la cantidad de MCC más recomendable a utilizar como aditivo en algunos alimentos, tales como, en la producción de helados, queso amarillo, queso crema, yogurt y otros.

En la actualidad, en nuestro país, la celulosa microcristalina se utiliza como terapéutico para la absorción de los ácidos biliares en las heces fecales de los pacientes con cáncer de colon y pólipos adenomatosos y a nivel de jugo gástrico, en los casos de gastritis alcalina por reflujo duodenogástrico (se caracteriza por la inflamación de la mucosa acompañada, o no, de alteraciones de la arquitectura glandular). Esta investigación se realizó en el Instituto Nacional de Gastroenterología, por los doctores M. Paniagua Estévez, F. Piñol Jiménez y otros investigadores con Celulosa Microcristalina importada y con MCC producida en nuestra institución (9, 10).

El hecho de no existir un tratamiento verdaderamente efectivo para la gastritis alcalina por reflujo duodenogástrico, así como los avances recientes en el estudio de las fibras dietéticas, constituyeron los fundamentales incentivos para desarrollar esta investigación en la búsqueda de una terapéutica más eficaz en el manejo de la enfermedad.

El objetivo fundamental de esta investigación fue obtener pulpa blanqueada, a partir del bagazo de la caña de azúcar y su hidrólisis parcial para lograr la fracción cristalina de la celulosa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Procedimiento para la obtención de pulpa de alta pureza a escala de planta piloto

La celulosa se aisló y purificó utilizando la tecnología de la UIP CUBA 9 (11). Fue uti-

lizado bagazo integral del central “Manuel Fajardo”, de la zafra de 2010. Este fue remojado durante 24 horas y desmedulado en suspensión. Posteriormente, se realizó la prehidrólisis a 2 kg de bagazo desmedulado (50 % humedad) en fase acuosa en un digestor rotatorio de acero inoxidable de 18 L de capacidad, con calentamiento indirecto por resistencia eléctrica a una temperatura de 170 °C durante 45 minutos y un hidromódulo de 1:7.

El producto se lavó hasta neutralidad con agua tratada y posteriormente fue sometido a un proceso de cocción a la soda, utilizando un 16 % de Na₂O sobre pulpa, en el mismo digestor utilizado anteriormente a una temperatura de 160 °C, tiempo de 45 minutos e hidromódulo de 1:6. La pulpa cruda se lavó hasta neutralidad con agua tratada, y se depuró en un clasificador se centrifugó hasta obtener un 50 % de humedad. La pulpa es blanqueada utilizando el esquema dióxido, extracción, dióxido (DED), que se describe en el Manual la Industria de los Derivados de la Caña de Azúcar (12).

Procedimiento para la obtención de celulosa microcristalina

En un reactor esmaltado de 132 L de capacidad, la pulpa de elevada pureza de bagazo blanqueada se somete a la acción del ácido clorhídrico, a temperatura de 100 °C y agitación esporádica durante 60 minutos (13 - 15). La suspensión de celulosa microcristalina obtenida se centrifuga y lava con agua desionizada hasta pH neutro y libre de cloruros. La masa húmeda se seca entre 55-60 °C. Finalmente, el producto se muele y envasa.

Caracterización de la pulpa y la celulosa microcristalina

El contenido de α -celulosa (16), la viscosidad y el grado de polimerización se determinaron mediante la norma TAPPI (17). La brillantez, el acondicionamiento y la preparación de las muestras se realizaron según la NC-ISO (18, 19). La celulosa microcristalina fue evaluada por la norma Farmacopea (20).

Difracción de rayos-X

Los análisis de difracción de rayos X se realizaron en un equipo Rigaku Geigerflex

CN2013, empleando un generador de rayos X de Cu y un goniómetro. Las condiciones de operación fueron: un voltaje de 30 kV y una corriente de 30 mA. La emisión K β del cobre se eliminó con un filtro de níquel. Se usó un detector proporcional (21). La velocidad de barrido fue de 4°/min, y se fijó un tiempo constante de 1 segundo. Los mate-

riales para el análisis tuvieron un tamaño de partícula de 100 mesh.

DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

El bagazo es el residuo fibroso de la molida de los tallos de la caña de azúcar. Está compuesto de celulosa, hemicelulosas o pentosanos y lignina como principales polímeros naturales. Presenta, además, pequeñas cantidades de otros compuestos clasificados de conjunto como componentes extraños. La composición química para las diferentes fracciones es informada por la literatura (22) y se corresponden con el bagazo utilizado en esta investigación. Los resultados se muestran en la tabla 1. El bagazo tiene la característica de ser una materia prima renovable anualmente con un alto contenido de celulosa aprovechable.

Cuando el bagazo integral se desmedula en suspensión, se enriquece la fracción de fibra útil, además de disminuir el meollo, los contenidos de iones metálicos y otros contaminantes (tabla 2).

En la tabla 3 se muestran los resultados de los procesos de prehidrólisis y cocción alcalina. La prehidrólisis se realiza con el fin de reducir el contenido de pentosanos y cenizas del bagazo, para lograr una mejor eficiencia en el proceso posterior de extracción de lignina en la cocción alcalina. Se destaca una reducción del 75 % de los pentosanos (6 %) y las cenizas (0,5 %).

En la tabla 4 se muestran los resultados promedios del proceso de blanqueo DED realizados a la pulpa cruda en cuatro corridas experimentales. Se obtuvo una pulpa blanca con valores medios, para la brillantez de 89,3 unidades y para el contenido de α -celulosa de 92,5 %. El contenido de pentosanos alcanzó un valor de 5,9 % y el grado de polimerización viscosimétrico de las pulpas obtenidas fue de 1335.

Tabla 1. Propiedades del bagazo inicial y desmedulado

Propiedades	Bagazo integral	Bagazo desmedulado
Celulosa, %	47,0 \pm 0,3	52,0 \pm 0,3
Pentosanos, %	27,4 \pm 0,3	26,8 \pm 0,3
Lignina, %	22,0 \pm 0,3	20,8
Cenizas, %	3,0 \pm 0,01	1,0 \pm 0,01

Tabla 2. Contenido de fibra, meollo, finos y solubles del bagazo inicial y desmedulado

Fracciones	Bagazo integral	Bagazo desmedulado
Contenido de fibra, %	55,0 \pm 0,3	84,0 \pm 0,3
Contenido de meollo, %	34,0 \pm 0,3	10,0 \pm 0,3
Finos y solubles, %	10,0 \pm 0,3	6,0 \pm 0,3

Tabla 3. Propiedades de la pulpa cruda

Propiedades	Valores
α -Celulosa, %	85-90 \pm 0,3
Grado de polimerización	1000-1300 \pm 20
Brillantez, Elrepho	45-50 \pm 0,2
Pentosanos %	6 \pm 0,3
No. de permanganato	6-9 \pm 0,3
Cenizas %	> 0,5 \pm 0,01

Tabla 4. Características de la pulpa blanqueada a partir de bagazo de caña de azúcar

Exp.	α - Celulosa (%)	GP	Viscosidad (cp)	Pentosanos (%)	Brillantez Elrepho
F1	93,2 \pm 0,3	1250 \pm 20	14,8 \pm 0,3	5,3 \pm 0,3	88,8 \pm 0,2
F2	93,5 \pm 0,3	1545 \pm 20	22,2 \pm 0,3	5,0 \pm 0,3	89,5 \pm 0,2
F3	91,2 \pm 0,3	1370 \pm 20	16,8 \pm 0,3	6,8 \pm 0,3	89,9 \pm 0,2
F4	91,9 \pm 0,3	1175 \pm 20	12,4 \pm 0,3	6,5 \pm 0,3	88,8 \pm 0,2

Estos resultados corresponden con los exigidos para una pulpa de celulosa de alta pureza para la obtención de derivados químicos de la celulosa (23).

La celulosa pura se somete a un proceso de hidrólisis ácida en medio acuoso. En la tabla 5 se comparan las propiedades de la celulosa microcristalina producida y las especificaciones de calidad reportadas en las normas de la Farmacopea; se constató que se encuentran dentro los rangos reportados para este producto.

En el transcurso de la hidrólisis se ataca, preferentemente, las zonas amorfas y se produce una disminución en el grado de polimerización medio en el tiempo, hasta un valor límite, es decir, desde 1545 que posee la pulpa de alta pureza hasta 180-200 que alcanza la MCC obtenida. Aunque prosiga ulteriormente el proceso de hidrólisis, los valores alcanzados en el GP no varían, siempre y cuando se mantengan las condiciones de hidrólisis moderadas (6).

Otras de las propiedades más importantes son el contenido de celulosa con una pureza de 97 % y un contenido de cenizas menor al 0,05 %.

Además, se realizó el ensayo de brillo de la celulosa microcristalina obtenida y la de referencia (marca Blanver, Brasil). Estos fueron de 90,9 y 98,9, respectivamente. Este valor de menor brillo depende del tipo de pulpa y blanqueo utilizado y no afectan las características del producto final.

El producto fue caracterizado por difracción de rayos X, con el objetivo de demostrar que lo obtenido es celulosa microcristalina. En el difractograma (figura 2) se obser-

va que la celulosa microcristalina de madera y la obtenida a partir del bagazo presentan los máximos en la misma región, la intensidad del pico Ia se identifica con la fracción cristalina de la celulosa. El pico Ib ancho y deformado corresponde a la fracción amorfa de la misma, aún presente en el material. El porcentaje de cristalinidad de la celulosa microcristalina, a partir de la pulpa de madera y pulpa de bagazo, fue 83,57 y 82,83 %, respectivamente; calculado a partir de la siguiente relación:

$$\% \text{ de cristalinidad} = \frac{I_a - I_b}{I_a}$$

donde:

I_a = Intensidad del pico cristalino

I_b = Intensidad del pico amorfo

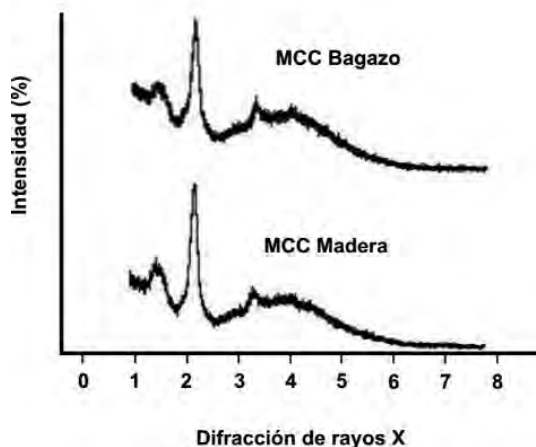


Figura 2. Difractograma de la MCC de bagazo y la MCC de madera.

Tabla 5. Propiedades de la MCC obtenida y las especificaciones de calidad reportadas en las normas de la Farmacopea

Propiedades	MCC obtenida	Normas Farmacopea
Distribución del tamaño de partículas (%)	+ 60 mesh < 1,0 + 200 mesh < 30,0	+ 60 mesh < 1,0 + 200 mesh < 30,0
pH	6,0- 7,0	5,5-7
Pérdida por desecación (%)	4.5-0-5	< 5,0
Residuos de ignición (%)	< 0,05	< 0,05
Contenido de hierro (ppm)	< 10	< 10
Sustancias solubles en agua (mg/5g)	< 12	< 12 (0,24%)
Contenido de almidón (%)	negativo	negativo
Contenido de celulosa (%)	97-100	97-100
Grado de polimerización medio (GP)	180-200	< 350

CONCLUSIONES

Combinando la prehidrólisis acuosa con un pulpeo químico a la soda con un esquema de blanqueo DED, se logró obtener pulpa de alta pureza, a partir del bagazo de la caña de azúcar.

A partir de la pulpa pura y mediante hidrólisis ácida, se logró obtener celulosa microcristalina con una pureza de 97 %, una brillantez de 90,9 y un grado de polimerización entre 180 y 200 unidades. Las propiedades físico-químicas de la celulosa microcristalina obtenida a partir del bagazo están dentro de los rangos reportados por la norma Farmacopea. Es semejante en calidad con otros productos importados de diferentes firmas. Además, ha sido ensayado en diferentes aplicaciones como son: la fabricación de alimentos, en función de relleno y fibra dietética; en salud pública, como terapéutico en el tratamiento de la gastritis alcalina por reflujo biliar, y en la industria farmacéutica en la producción de tabletas medicinales. En todos los casos se han obtenido buenos resultados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Klemm, D.; Heublein, B.; Fink, H.P.; Bohn, A. Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angew. Chem. Int. Ed.* 44, pp. 2-37, 2005.
2. Ranby, B.G.; Rydholm, S.A. IX Cellulose and Cellulose Derivatives. En *High Polymers. Vol. X, Polymers Processes*. Schildknecht, C.E, Ed. Interscience Publishers INC., New York. pp. 351, 1963.
3. Klemm, D.; Philipp, B.; Heinze, T.; Heinze, U.; Wagenknecht, W. *Comprehensive Cellulose Chemistry. Vol. 1, Fundamentals and Analytical Methods*. Wiley-Vch. 2001.
4. FAO. Microcrystalline cellulose. [Online] <www.fao.org/docrep/w6355e/w6355e01.htm> [Consulta 5-3-2012].
5. National Research Development Corporation Microcrystalline Cellulose FRO. Microcrystalline cellulose from groundnut shells. India. p. 1-3, [Online] 2003 <<http://www.info@nrdcindia.com>>.
6. Qian, Y.Y; Lee, O; Robert, T. Heterogeneous Aspects of Acid

Hydrolysis of -Cellulose. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 105-108: pp. 505-514, 2003.

7. Fernández, L.; Fernández, R. Celulosa Microcristalina. *Memorias ATCP 32a, Reunión Anual*, D.F. México. (1992).
8. Abril, A.; Valdéz, M.; García, L. Fibra dietética para el consumo humano a partir del bagazo de la caña de azúcar. *Libro Memorias del VII Congreso, Diversificación 2002. Tomo I*, pp. 108-110.
9. Paniagua Estévez, P; Jiménez F. Nueva Terapéutica de la gastritis alcalina. pp. 61-73, 1998. La Habana 10200, Cuba, 199.
10. Barzaga, P. G.; Vega, R.; Tillán, J.; De la Paz, N. Actividad antiulcerosa y toxicidad aguda oral de celulosa microcristalina suspensión al 12 %. *Rev. Cubana de Farmacia* 38(2), 2004.
11. Bambanaste, R.; Fernández, J.; Pérez, M. En: Instituto Cubano de Investigaciones de la Caña de Azúcar. *Manual La Industria de los Derivados de la Caña de Azúcar 1ra. Ed.* La Habana, 1986. pp. 212-214.
12. Fernández, N.; Sabatier, J.; Barquinero. En: Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar. *Manual La Industria de los Derivados de la Caña de Azúcar 1ra. Ed.* La Habana, 1986. p. 226.
13. García, L.; Bordallo, E.; Cordero, D. Celulosa Microcristalina. *Revista Cubana de Química Vol. XVIII (1)*: pp. 115-117, 2006.
14. García, L.; Islen, P.; Bordallo, E.; Villamil, G.; Cordero, D. Celulosa microcristalina En: Instituto Cubano de Investigaciones de la Caña de Azúcar. *Manual de los Derivados de la Caña de Azúcar 3ra. Ed.* La Habana, 2000. pp. 107-109.
15. Braunstein, Edit L. (Rochester, NY), Dostie, Robert L. (Penfield, NY) Germano, Keith H. (Webster, NY). *Crystalline cellulose production*. United States Patent 5346589, 2004.
16. Norma TAPPI Standard T 203 os 74. Alpha, Beta and Gamma Cellulose in Pulp.
17. Norma TAPPI Standard. T 230 Om 82. Viscosity of Pulp (Capillary Viscometer Method).

18. Norma Cubana NC-ISO187:1999, Preparación y acondicionamiento de muestras.
19. Norma ISO 2470:1999. Determinación de Brilantez Elrepho.
20. U. S. Pharmacopeias National Formulary, USP XXIII. NF 17, 2000.
21. Lewin, M.; Guttman, H.; Saar, N. Modification of the fine structure of cellulose by halogen and heat treatments. Appl. Poly. Symp. 28, p. 791, 1976.
22. Gastón, C.; Bambanaste, R.; Correa J.L.; Alfonso, G. Bagazo. En: Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar. Manual de los Derivados de la Caña de Azúcar. 3ra. Ed. La Habana, 2000. pp. 31-43.
23. Romero, N.; Socarrás, A.; Martínez, M. Pulpa para disolver. En: Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados la Caña de Azúcar. Manual de los Derivados de la Caña de Azúcar. 3ra. Ed. La Habana, 2000. p. 75-77.

FitoMas es un cóctel natural de sustancias orgánicas intermediarias complejas de alta energía, especialmente seleccionadas del conjunto mejor representado en la mayor parte de las especies botánicas a las que pertenecen los cultivos económicos, por lo que permite superar las situaciones estresantes sin perjudicar la producción de alimentos y productos útiles. FitoMas no es tóxico ni a las plantas ni a los animales.



Con su acción, FitoMas facilita la interacción suelo-planta, por lo que propicia el desarrollo de la rizosfera, la cual elabora hormonas de crecimiento y otras muchas sustancias útiles al

FITOMAS (H)

Potenciador de la acción herbicida cuando se mezcla con estos lo cual permite una sensible reducción de sus dosis. Incrementa el área radicular y mejora la floración cuando se aplica a dosis entre 0.2 y 1 l/ha, al inicio de la floración en frutales y después del ahijado en cereales.

FITOMAS (E)

Es un sustituto parcial de la fertilización convencional porque propicia el desarrollo de la rizosfera (microorganismos simbióticos que viven en las raíces), los que fijan nitrógeno atmosférico y movilizan otros nutrientes minerales.



FITOMAS (M)

Madurador de la caña por excelencia, facilita el engorde y cuajado de los frutos cuando se aplica un mes antes de la cosecha a tubérculos o raíces, en frutales y cereales.



FitoMas



Producto Natural
Antiestrés

instrucciones a los autores

Las contribuciones enviadas deben abordar la temática de todo lo concerniente al procesamiento de la caña de azúcar y sus derivados.

Se aceptarán contribuciones de los siguientes tipos:

1. Memorias Científicas Originales.
2. Comunicaciones.
3. Reseñas.
4. Trabajos de carácter teórico o descriptivo.

Se aceptarán solamente contribuciones inéditas. El envío de éstas supone el compromiso del autor de no someterlas a la consideración de otras publicaciones y de ceder sus derechos a la revista.

Los artículos se someterán al sistema de revisión por pares, en la modalidad abierta al editor asociado, manteniendo el anonimato. Este recurso es inapelable.

Presentación de las contribuciones:

Se entregará una copia digital o se enviará por correo electrónico a: revista@icidca.edu.cu. También se remitirá una copia en papel. Se escribirán en español o en inglés, a dos espacios y en Arial 12 puntos, con una extensión máxima de 25 páginas. El formato a utilizar debe ser 8,5 x 11", los márgenes laterales, superior e inferior deben ser de 2 cm. Las tablas y figuras se insertarán en el lugar exacto y se acompañarán de su correspondiente título y pie de figura. El procesador de texto a utilizar será Microsoft Word. Las tablas deben crearse en este mismo software. Las figuras (fotografías, gráficos, esquemas) deben entregarse en formato JPG o TIF con una resolución de 300 dpi. Las unidades de medida deberán ser las especificadas en el Sistema Internacional de Unidades.

Estructura de las contribuciones:

- Título (en español e inglés): Conciso e informativo.
- Autor(es): Nombres completos y dos apellidos (resaltar en rojo responsable de la correspondencia)
- Institución donde labora(n) el(los) autor(es). Dirección de ésta.
- Correo electrónico del autor o los autores (imprescindible para enviar la copia electrónica del artículo en formato PDF)
- Resumen (en español e inglés): Los informativos son apropiados para las contribuciones del tipo 1 y 2; incluir el propósito de la investigación, así como los principales métodos, resultados y conclusiones. Las contribuciones del tipo 3 y 4 admiten la preparación de un resumen indicativo que exprese el tipo de artículo, los temas fundamentales, y la forma en que son tratados; debe utilizarse la forma impersonal con la partícula se y el verbo en tiempo presente. Se pueden combinar elementos de ambos y el resumen sería indicativo-informativo. El máximo de palabras a emplear debe ser de 200 y deben aparecer en un sólo párrafo.
- Palabras claves (en español e inglés): Términos o frases que describen aspectos fundamentales del contenido del artículo y no deben ser más de cinco.
- Introducción: Situación problemática. Problema de investigación e importancia. Estado del arte del que parte el autor para su aporte.
- En cuanto al desarrollo del artículo:
 - Para las contribuciones de los tipos 1 y 2 resulta más apropiado el esquema Materiales y Métodos, Resultados, y Discusión; las de los tipos 2 y 3 admiten otros subtítulos o epígrafes.
 - Materiales y Métodos: Explicar cómo se procedió.