

# EFECTO DEL PRETRATAMIENTO QUÍMICO Y ENZIMÁTICO EN LA DESLIGNIFICACIÓN DE BIOMASA AGROINDUSTRIAL TÍPICA DEL CAUCA

## EFFECT OF PRETREATMENT CHEMICAL AND ENZYMATIC ON DESLIGNIFICATION OF TYPICAL AGROINDUSTRIAL BIOMASS OF DEPARTMENT CAUCA

## EFEITO DO PRÉTRATAMENTO QUÍMICO E ENZIMÁTICO SOBRE DESLIGNIFICAÇÃO DO TÍPICO BIOMASSA AGRO DE CAUCA

ALVARO JAVIER PANTOJA-MATTA<sup>1</sup>, MILTON FERNANDO CUATIN-INGUILÁN<sup>2</sup>, DEYANIRA MUÑOZ-MUÑOZ<sup>3</sup>

### RESUMEN

*La deslignificación de biomasa lignocelulósica constituye un paso fundamental hacia la obtención de monosacáridos a partir de macromoléculas como la celulosa y hemicelulosa. Diferentes procesos físicos, químicos y biológicos, han sido empleados con el fin de alterar y modificar la matriz de diversas materias primas vegetales, por la presencia de lignina, uno de los componentes más recalcitrantes en su estructura. En esta investigación, se caracterizó biomasa lignocelulósica de bagacillo de caña (M1), polvillo de fique (M2) y de afrecho de yuca (M3) y la mezcla en iguales proporciones de los tres materiales (M4). Se realizó pretratamiento químico a la biomasa, usando bisulfito de sodio comercial al 4% p/p y pretratamiento enzimático con enzima lacasa al 1% p/p. El primero redujo la mayor cantidad de lignina, generando una deslignificación*

**Recibido para evaluación:** 11 de Agosto de 2014. **Aprobado para publicación:** 6 de Mayo de 2015.

- 1 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Agroindustria, Grupo Diseño Procesos y Energía. Ingeniero Agroindustrial. Popayán, Colombia.
- 2 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Agroindustria, Grupo Diseño Procesos y Energía. Ingeniero Agroindustrial. Popayán, Colombia.
- 3 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Agroindustria, Grupo Diseño Procesos y Energía. Msc en Ingeniería énfasis ingeniería Sanitaria y Ambiental. Popayán, Colombia.

**Correspondencia:** pantojalvaro@gmail.com

del 32,26% en M1 y de 62,72% en M2, mientras el pretratamiento enzimático generó el 67,91% de deslignificación en la mezcla M4. En todos los residuos, el rango de deslignificación de 19,46% al 67,91% produjo un incremento de celulosa en un rango del 25,57% al 200,12%. De la investigación se concluyó que el pretratamiento químico generó mayor deslignificación mientras que el pretratamiento enzimático, mayor incremento de celulosa.

## ABSTRACT

*Delignification of lignocellulosic biomass is an essential step towards obtaining monosaccharides from macromolecules such as cellulose and hemicellulose. Different physical, chemical and biological processes have been employed to alter and modify the array of different plant materials, by the presence of lignin, one of the most recalcitrant components in its structure. In this research, lignocellulosic biomass sugarcane bagasse (M1), sisal dust (M2) and cassava bran (M3) and the mixture of equal proportions of the three materials (M4) was characterized. Chemical pretreatment was performed biomass using sodium bisulfite commercial 4% w/w laccase enzyme pretreatment with 1% w/w. The first reduced as much lignin, generating 32,26% in delignification of M1 and M2 62,72%, while the enzyme pretreatment resulted in 67,91% of the mixture M4 delignification. In all residues delignification range 19,46% to 67,91% of cellulose was an increase in the range of 25,57% to 200,12%. The investigation concluded that the chemical pretreatment resulted in increased delignification while the enzymatic pretreatment, greatest increase in cellulose.*

## PALABRAS CLAVES:

Residuos, Procesos, Lignocelulosa,

## KEY WORDS:

Residues, Processes, Lignocellulose.

## PALAVRAS-CHAVE:

Resíduos, Processos, Lignocelulose.

## RESUMO

*Deslignificação de biomassa lignocelulósica é um passo essencial para a obtenção de monossacarídeos de macromoléculas, como celulose e hemicelulose. Física diferente, processos químicos e biológicos têm sido utilizados para alterar e modificar a matriz de diferentes materiais de plantas, pela presença de lignina, um dos componentes mais recalcitrantes em sua estrutura. Nesta pesquisa, biomassa lignocelulósica bagaço de cana (M1), pó de sisal (M2) e farelo de mandioca (M3) e da mistura de partes iguais de três materiais (M4) foi caracterizado. Pré-tratamento químico foi realizado utilizando biomassa de bissulfito de sódio comercial 4% w/w de pré-tratamento da enzima lacase com 1% w/w. O primeiro reduzido tanto lignina, gerando 32,26% em deslignificação de M1 e M2 62,72%, enquanto que o pré-tratamento da enzima resultou em 67,91% da mistura M4 deslignificação. Em todos os resíduos de deslignificação variam 19,46% a 67,91% de celulose foi um aumento na gama de 25,57% a 200,12%. A investigação concluiu que o pré-tratamento químico resultou em aumento da deslignificação enquanto o pré-tratamento enzimático maior aumento em celulose.*

## INTRODUCCIÓN

En Colombia, los sectores industriales, institucionales y académicos, trabajan en conjunto para estudiar mecanismos de aprovechamiento óptimo de todas las formas de biomasa, con el propósito de generar alternativas eficientes para la producción de biocombustibles y de energía.

Las plantas fijan carbono atmosférico por el proceso de fotosíntesis para sintetizar polímeros. La biomasa vegetal se refiere a los tejidos vegetales presentes en residuos agrícolas y agroindustriales, ricos en polisacáridos de celulosa y hemicelulosa, que representan un alto potencial para su transformación en monosacáridos como la glucosa y xilosa. En general la composición de celulosa está entre 25 y 55%, de hemicelulosa entre 20 y 50% y lignina entre 5 y 30% [1,2,3]. Adicionalmente, la biomasa lignocelulósica contiene gran variedad de compuestos orgánicos como (grasas, ceras, alcaloides, proteínas, fenoles simples y complejos, entre otros) y compuestos inorgánicos, como las cenizas, que corresponden al 2% del peso seco [3].

La presencia de lignina en estos tejidos, genera una barrera que impide la exposición adecuada de la celulosa para los procesos de hidrólisis enzimática. La lignina es un biopolímero aromático tridimensional complejo, variable e hidrofóbico que confiere rigidez y alto nivel de compactibilidad a la pared celular de las plantas [4, 5].

El costo de producción de etanol a partir de biomasa lignocelulosa puede ser alto cuando se aplica pretratamiento para reducir la recalcitrancia del sustrato, conferido por la lignina, biopolímero aromático tridimensional complejo que le confiere la rigidez y alto nivel de compactibilidad a la pared celular de las plantas [3,4,5].

La separación de la celulosa de la lignina es uno de los muchos obstáculos técnicos que deben superarse para que los biocombustibles puedan ser producidos económicamente a partir de celulosa que contienen los residuos. El pretratamiento representa la etapa de mayor costo en la conversión de biomasa a etanol, por lo cual en la actualidad las investigaciones se enfocan a desarrollar pretratamientos de deslignificación, tecnologías limpias y metodologías de innovación que mejoren los procesos de sacarificación y fermentación [6, 7, 8, 9, 10, 11].

De acuerdo a las estadísticas reportadas por el Anuario Estadístico, 2011, la superficie cosechada, la producción y los rendimientos para los cultivos típicos en el departamento del Cauca son: para el cultivo de caña, 34.937 ha, 40.338 ton y 1.151 Kg/ha; para el cultivo de fique, 7.755 ha, 8.976 ton y 9.226 Kg/ha; y para el cultivo de yuca: 3.412 ha, 31.419 ton, 9.226 Kg/ha [12]. Lo anterior evidencia un volumen considerable de generación de residuos lignocelulósicos que pueden ser aprovechados.

Estos residuos resultantes de la etapa de desmedulado del bagazo de caña, del peinado de la fibra larga de fique y del tamizado de la lechada del almidón de yuca en las rallanderías son desaprovechados en el departamento del Cauca y se convierten en inconvenientes para la sostenibilidad de las cadenas productivas de estos cultivos.

El propósito de este trabajo es evaluar, el efecto del pretratamiento químico y enzimático en la deslignificación de los residuos agroindustriales provenientes del departamento del Cauca bagacillo de caña, polvillo de fique, afrecho de yuca.

## MÉTODO

### Obtención de muestras de biomasa

En esta investigación, se empleó biomasa de residuos agroindustriales típicos de los departamentos del Valle del Cauca y Cauca: bagacillo de caña, suministrado por la empresa Ingenio Riopaila; polvillo de fique, suministrado por la empresa Empaques del Cauca y afrecho de yuca, de la rallandería Almidones La Zelandia, del corregimiento de Mondómo (Santander de Quilichao).

### Preparación de muestras de ensayo

Para efectos de este estudio, los tres residuos agroindustriales fueron identificados así: 100% bagacillo de caña (M1); 100% polvillo de fique (M2) y 100% afrecho de yuca (M3). Estos residuos fueron adecuados mediante secado, reducción de tamaño y tamizado. Se trabajó con un tamaño de partícula inferior al tamiz N°. 40. Se utilizó el procedimiento de la guía No. 4: "Reducción de Tamaño y Tamizado" del laboratorio de Operaciones Unitarias I, de la Universidad del Cauca. Se usó un juego de tamices ASTM (10, 16, 20, 30, 40, 50, 60 y 70), y Tamiz Tyler 16, balanza electrónica y

molino de martillos. Finalmente, la muestra de biomasa M4, se obtuvo a partir de la mezcla de los residuos M1, M2 y M3 previamente adecuados.

### Cuantificación de biomasa lignocelulósica

Existen diferentes métodos de cuantificación de celulosa, hemicelulosa y lignina como los procedimientos establecidos por la norma TAPPI (Technical Association of the Pulp and Paper Industry) y los protocolos NREL/TP-510-42618, establecido por el Laboratorio Nacional de Energía Renovable de Estados Unidos, (NREL). [13,14].

Otra técnica de caracterización corresponde al método de dosificación de las fibras insolubles de Van Soest, el cual determina holocelulosa,  $\alpha$ -celulosa y lignina fraccionando la pared celular de las fibras [13]. Este método fue el empleado en la caracterización de las muestras de biomasa residual en este estudio.

Se cuantificó la proporción de Fibra Detergente Neutra (FND) mediante la acción de un detergente sobre la muestra para separar la fracción fibrosa de la fracción soluble, la Fibra Detergente Ácida (FDA) y Lignina total expresada como Lignina Ácido Detergente (LAD). Los contenidos de celulosa y hemicelulosa se calcularon con las siguientes expresiones [15,16]:

$$\% \text{ Celulosa} = \% \text{ FDA} - \% \text{ LAD}$$

$$\% \text{ Hemicelulosa} = \% \text{ FDN} - \% \text{ FDA}$$

$$\% \text{ Solubles} = 100\% - \% \text{ FDN}$$

Los análisis composicionales de la biomasa lignocelulósica de M1, M2, M3 y la mezcla (M4), se realizaron, mediante servicio técnico contratado con el Laboratorio de Calidad de Forrajes del Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT, ubicado en el municipio de Palmira, departamento del Valle del Cauca.

### Pretratamiento químico de la biomasa

En los pretratamientos químicos se emplean agentes químicos para alterar la estructura lignocelulósica y solubilizar los azúcares. Un procedimiento es la deslignificación que emplea sulfito para recubrimiento recalcitrante de lignina, (SPORL), el cual disminuye sustancias inhibitoras derivadas de la lignina. Aplicado en paja de arroz, mostró alta proporción de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  en el licor del pretratamiento,

mejor deslignificación (53,4%) y sulfonación de la lignina, y conservación de polisacáridos (91,4%) [5, 17, 18, 19].

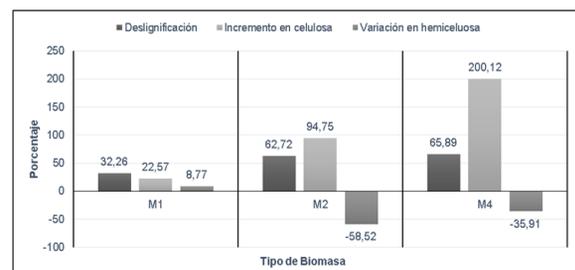
El pretratamiento químico utilizado en la deslignificación de las muestras M1, M2 y M4, empleó el efecto oxidante del bisulfito de sodio  $\text{Na}(\text{SO}_3)_2$ , para lograr la desintegración de la lignina que recubre las fibrillas celulósicas de la pared celular [5]. Para ello, se empleó un licor de bisulfito de sodio al 4% p/p, para generar la redistribución de la lignina acompañada de una baja producción de inhibidores. Se utilizó una relación sólido-líquido del 6% p/v [18,19] y se aplicó un proceso de reflujo o digestión en paralelo (figura 1).

### Pretratamiento enzimático de biomasa

En los pretratamientos biológicos, la biomasa se somete a la acción de microorganismos como los hongos o enzimas (lacasas) que degradan en forma aeróbica, la lignina. En procesos de biopulpeo enzimático, los pretratamientos que usan mediadores como el HBT (1-hidroxibenzotriazol) o el ABTS (2,2- azinobis (3-etilbenzotiazoline-6sulfonato), disminuyen lignina en su totalidad manejando tiempos cortos de 2 a 8 horas, pero su uso es restringido por el alto costo y biodegradabilidad limitada [17, 20].

En el pretratamiento enzimático para la deslignificación de las muestras del estudio M1, M2 y M4, se consideró las propiedades lignolíticas de la enzima lacasa comercial ECOFADE LT 100 de la empresa MERQUIAND LTDA. El uso de este pretratamiento conlleva a la baja producción de inhibidores y el bajo impacto ambiental y económico [20]. Se empleó una carga enzimática del 1% p/p respecto al material, a condición de 20 °C y 150 rpm por un periodo de 12 horas.

**Figura 1.** Modificación de celulosa y hemicelulosa por pretratamiento químico



**Cuadro 1.** Composición lignocelulósica y de material inorgánico de los residuos

Tipo de Biomasa	Lignina Ácido Detergente LAD (%)	Hemicelulosa (%)	Celulosa (%)	Diferencial Δ(%)	Cenizas (%)	Nitrógeno no proteico (%)
M1	14,54	19,50	42,00	23,96	6,83	0,28
M2	14,86	3,64	21,35	60,15	8,37	0,88
M3	1,06	23,00	21,35	54,59	1,64	0,18
M4	19,82	12,81	16,24	51,13	5,85	0,44

M1: 100% Bagacillo de caña; M2: 100% Polvillo de fique; M3: 100% Afrecho de yuca; M4: 33,33% Bagacillo de caña; 33,33% Polvillo de fique; 33,33% Afrecho de yuca

### Cuantificación de lignina, celulosa y hemicelulosa

Las muestras de biomasa M1, M2 y M4, pretratadas química y enzimáticamente, se caracterizaron calcularon los porcentajes de deslignificación y las variaciones porcentuales en celulosa y hemicelulosa.

### RESULTADOS

El diferencial obtenido en la composición de los residuos, Δ(%), (cuadro 1), corresponde al porcentaje de sustancias solubles en los diferentes detergentes usados en el método Van Soest, como proteínas, nitrógeno no proteico, lípidos, pigmentos, azúcares, ácidos orgánicos y pectinas.

Las muestras M1, M2 y M4 presentaron el mayor contenido de lignina y requieren pretratamientos para la remoción del polímero y modificación de la estructura de la fibra, antes de ser empleados en procesos de hidrólisis enzimática, mientras que el afrecho de yuca (M3), no los requiere por el bajo contenido de lignina (1,06%) y por la inversión costo/energética en que se incurre.

Los residuos presentaron una composición de hemicelulosa más heterogénea, el mayor contenido se presentó en el afrecho de yuca con un 23%, por lo tanto tiene mayor potencial para la obtención de pentosas y hexosas, a diferencia del polvillo de fique que presentó el 3,64%. En la muestra M4, el contenido de lignina fue de 19,82%, mayor a lo esperado, considerando que los residuos M1, M2 y M3 son sus componentes y registraron valores de 14,54%, 14,86% y 1,06% en lignina respectivamente.

Es necesario aclarar que durante la cuantificación por el método de Van Soest, el resultado fue alterado por

la presencia de otros componentes como sílice (cenizas), cutina y nitrógeno no proteico. En este caso, el polvillo de fique fue el mayor aportante de cenizas según los análisis elemental y proximal (cuadro 1). Este es el componente que más afectó la determinación de lignina mientras el efecto de los otros componentes fue despreciable.

La presencia del afrecho de yuca en M4, afectó los contenidos de celulosa y hemicelulosa, debido a que la interferencia del almidón, incrementa el porcentaje de fibra detergente neutra en la mezcla M4, de acuerdo a resultados previamente obtenidos [21].

### Efecto del pretratamiento químico

La composición de los residuos tras ser sometidos a pretratamiento químico, se indica en el cuadro 2. El mayor porcentaje de remoción de lignina en las fibras, se presentó en la muestra M4 con un valor de 65,89%, a pesar de tener inicialmente la mayor proporción de este componente. Lo anterior muestra el beneficio de utilizar el pretratamiento con bisulfito de sodio a rango de pH de 5-9 [18], para obtener la mayor exposición

**Cuadro 2.** Composición de residuos pretratados químicamente.

Tipo de biomasa	Lignina Ácido Detergente LAD (%)	Hemicelulosa (%)	Celulosa (%)
M1	9,85	21,21	51,48
M2	5,54	1,51	41,58
M4	6,76	8,21	48,74

M1: 100% Bagacillo de caña; M2: 100% Polvillo de fique; M4: 33,33% Bagacillo de caña; 33,33% Polvillo de fique; 33,33% Afrecho de yuca

de la estructura de las fibras al ataque enzimático en un proceso de hidrólisis.

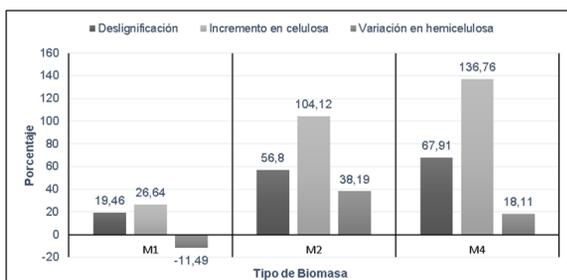
El pretratamiento químico no afectó negativamente la proporción de celulosa en cada residuo (figura 1), por lo tanto permitió la modificación de las fibras con una limitada formación de inhibidores derivados de la degradación de celulosa, tal como se reporta por otros investigadores [5].

El bagacillo de caña (M1) presentó el mayor contenido de celulosa después del pretratamiento (51,48%), mientras que la muestra de biomasa M4, presentó un contenido final de celulosa (48,74%), menor a M1, aunque la presencia del afrecho de yuca (M3) favorece el incremento de celulosa después de la deslignificación, por encima del 100%.

Se observa sólo incremento positivo de hemicelulosa en M1 (figura 2), mientras en los residuos M2 y M4 se presentaron pérdidas de hemicelulosa. La variación negativa del contenido de hemicelulosa para el polvillo de fique (M2) y la muestra de biomasa M4, se puede asociar a una disposición más susceptible del polisacárido a la solubilización provocada por el medio ácido generado en el licor de pretratamiento, ocasionando pérdidas del polisacárido, por el bajo grado de polimerización, estructura amorfa y ramificada al azar [5].

Considerando los resultados reportados para bagazo de caña pretratado usando celulasas a partir de *Penicillium funiculosum* y *Trichoderma harzianu*, sometido a diferentes concentraciones de NaOH, la deslignificación del bagazo de caña fue de 52,06%, la pérdida de hemicelulosa de 58,8% y el incremento de celulosa del 99,4%. Estos resultados son comparables con los obtenidos para el polvillo de fique pretratado químicamente, donde se logró un porcentaje de deslignificación del 62,72%, disminución de hemicelulosa de 58,5% e incremento en celulosa del 94,75% [22].

**Figura 2.** Modificación en celulosa y hemicelulosa del pretratamiento enzimático sobre los residuos



**Cuadro 3.** Residuos pre-tratados enzimáticamente.

Residuo o Biomasa	Lignina Acido Detergente LAD (%)	Hemicelulosa (%)	Celulosa (%)
M1	11,71	17,26	53,19
M2	6,42	5,03	43,58
M4	6,36	15,13	38,45

M1: 100% Bagacillo de caña; M2: 100% Polvillo de fique; M4: 33,33% Bagacillo de caña; 33,33% Polvillo de fique; 33,33% Afrecho de yuca

Se ha estudiado la deslignificación alcalina de bagazo de caña (35,5% de celulosa y 21,3% de lignina) [23]. La máxima deslignificación (48,7%) fue obtenida con la mayor concentración de álcali (5% NaOH por 24 horas). Al comparar estos resultados, con los obtenidos para el bagacillo de caña pretratado con bisulfito de sodio, se encuentra que a pesar de que el tratamiento alcalino es más fuerte, el grado de deslignificación es comparable, teniendo en cuenta un tiempo de reacción menor y un agente químico menos agresivo como el bisulfito de sodio.

### Efecto del pretratamiento enzimático

La composición lignocelulósica de los residuos pre-tratados enzimáticamente, se indica en el cuadro 3. En todas las muestras después del pretratamiento de deslignificación con la enzima lacasa, se observó incremento de celulosa y reducción de lignina respecto a los contenidos iniciales. Solo en bagacillo de caña (M1) se redujo la fracción de hemicelulosa.

La figura 2 resume los porcentajes de deslignificación de los residuos, después del pretratamiento enzimático. El residuo M4, presentó la mayor reducción de lignina, alcanzando un valor de 67,91%, que comparado con el 65,89% obtenido en el pretratamiento químico, resulta superior, indicando que la acción enzimática fue más eficiente y específica en la degradación de lignina en una mezcla de residuos como M4.

Sin embargo, se puede interpretar como un efecto homogéneo diferenciado por las condiciones de los procedimientos utilizados en cada uno de ellos. En el pretratamiento químico se requirió de 3 horas mientras en el enzimático, de 12 horas, lo cual incide en el consumo energético. Además, el proceso enzimático generó una baja carga de residuos químicos mientras que el proceso químico donde se usó bisulfito de so-

dio, generó residuos que deben ser neutralizados por presentar niveles de pH inferiores a 6.

El bagacillo de caña (M1) presentó el menor incremento de celulosa, después del pretratamiento enzimático, mientras los residuos M2 y M4 aumentaron la fracción de celulosa de forma significativa.

El mayor contenido de hemicelulosa después del pretratamiento, se registró en M1, pero se produjo pérdida del 11,49% en el contenido final, significando un efecto negativo del proceso lignolítico, en la fracción hemicelulósica al estar ligada a la fracción de lignina. Evaluando en conjunto los resultados del pretratamiento enzimático, el porcentaje de disminución de lignina alcanzado en la deslignificación, evidencia que la enzima lacasa favoreció la deslignificación en residuos lignocelulósicos como M2 y M4.

Iqbal *et al.*, (2012) estudiaron la deslignificación enzimática de bagazo de caña, para exponer polímeros de celulosa para la sacarificación y producción de bioetanol. Se empleó un extracto enzimático con las siguientes actividades lignolíticas: lignina peroxidasa, manganeso peroxidasa y lacasa, para la deslignificación del bagazo con contenidos de 35,5% en celulosa y 21,3% en lignina. La mayor reducción de lignina y el máximo porcentaje de deslignificación alcanzado, fue del 33,5%.

Este porcentaje de reducción es superior al obtenido por el pretratamiento enzimático sobre el bagacillo de caña M1 (19,46%), a pesar de que este residuo, presentó un porcentaje de lignina menor, lo cual permite analizar un mayor efecto en la deslignificación de un tipo de biomasa recalcitrante como el bagazo de caña usando un complejo con mayor especificidad y un mayor tiempo de proceso (48 horas), con respecto a lo generado por la enzima lacasa en un tiempo de proceso reducido (12 horas), sobre bagacillo de caña.

Salcedo *et al.*, (2011) estudiaron la deslignificación enzimática de residuos de cosecha de caña de azúcar (hojas y cogollos) empleando la enzima comercial Suberasa® (Novozyme). Se alcanzó un porcentaje de deslignificación del 41,3% y la proporción de celulosa se incrementó considerablemente. En cuanto al bagacillo de caña, la deslignificación enzimática no fue eficiente respecto a lo encontrado en los residuos de cosecha de caña de azúcar, reflejando mayor recalcitrancia y complejidad de la estructura de las fibras asociadas al tallo de la planta, con respecto a las fibras

asociadas a tejidos, presentes en hojas y cogollos. Así mismo, la complejidad de la enzima usada influye de forma positiva sobre los resultados del estudio de residuos de cosecha de caña de azúcar.

## CONCLUSIONES

Del estudio del efecto del pretratamientos químico y enzimático en la deslignificación de residuos lignocelulósicos, se concluye que en un rango de deslignificación entre el 19,46% al 67,91%, se obtuvo un incremento en celulosa entre el 25,57% y el 200,12% para los residuos M1, M2 y M4.

El pretratamiento químico permitió mayor deslignificación y el enzimático, mayor incremento de celulosa. Entre ambos, el pretratamiento químico fue el más eficiente para modificar la composición lignocelulósica de los residuos del estudio e incrementar el porcentaje de celulosa.

En M1, el incremento de celulosa en el proceso enzimático (26,64%) fue comparable al químico (22,57%), por lo tanto se presentó mayor actividad específica de la enzima lacasa para oxidar la lignina, a pesar que el pretratamiento químico ofreció mayor efecto en la deslignificación.

La deslignificación química del bagacillo de caña, usando bisulfito de sodio resultó comparable a lo reportado en otros estudios con pretratamientos más severos. Sin embargo es necesario investigar en la modificación de la fibra, la alteración de la cristalinidad de la celulosa y la recalcitrancia de la lignina de un residuo como el bagazo de caña.

El pretratamiento enzimático con la enzima lacasa presentó menores efectos en la deslignificación y modificación de la fibra, respecto a otros estudios donde se reporta el uso de mecanismos enzimáticos para el pretratamiento de biomasa. Es necesario la aplicación de complejos lignolíticos de amplio espectro y especificidad, así como el uso de mediadores de origen natural o químico para incrementar la eficiencia de la enzima y su acción sobre la lignina.

El método de dosificación de fibras insolubles de Van Soest, empleado para la caracterización de los residuos de la investigación, no permitió obtener resultados confiables y coherentes en la composición lignocelulósica de los residuos, debido a la presencia de

almidón y sílice en los residuos, lo cual influye en la precisión y estimación de las fracciones de fibra detergente neutra y lignina ácido detergente. La caracterización química requiere de técnicas más precisas para estimar las proporciones de celulosa y hemicelulosa.

## AGRADECIMIENTOS

Al grupo de investigación: Diseños, Procesos y Energía de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad del Cauca, por los recursos financieros aportados en la ejecución de la metodología. Al grupo de investigación ASUBAGROIN, director y todos sus integrantes, por sus valiosas asesorías en el desarrollo del estudio.

## REFERENCIAS

- [1] GUARNIZO, F.A., MARTINEZ, Y.P.N. y PINZON, B.M.L. Azúcares del pseudotallo de plátano: una opción para la obtención de alcohol de segunda generación. *Revista Bistua*, 10 (1), 2012, p. 39-51.
- [2] PHITSUWAN, P., SAKKA, K. and RATANAKHANOKCHAI, K. Improvement of lignocellulosic biomass in plant: A review of feedstocks, biomass recalcitrance, and strategic manipulation of ideal plants designed for ethanol production and processability. *Biomass and Bioenergy* XXX, 1-16, 2013. p. 2.
- [3] SUESCA-DÍAZ, A. Producción de enzimas celulolíticas a partir de cultivos de *Trichoderma sp.* con biomasa lignocelulósica [M.Sc. Tesis Ingeniería Química]. Bogotá, D.C (Colombia): Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, 2012, p. 5-10.
- [4] ABRIL, A. y NAVARRO, E.A. Etanol a partir de biomasa lignocelulósica [online]. Disponible en: [http://www.researchgate.net/publication/241216642\\_Etanol\\_a\\_partir\\_de\\_biomasa\\_lignocelulsica/file/9c96051c8409028b93.pdf](http://www.researchgate.net/publication/241216642_Etanol_a_partir_de_biomasa_lignocelulsica/file/9c96051c8409028b93.pdf) [citado 15 de marzo de 2014].
- [5] LIMAYEN, A. and RICKE, S. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. *Progress in Energy and Combustion Science*, 38, 2012, p. 449-467.
- [6] SÁNCHEZ-RIAÑO, A., GUTIÉRREZ-MORALES, A., MUÑOZ-HERNÁNDEZ, J. y RIVERA-BARRERO, C. Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos. *Revista Tumbaga*, 1(5), 2010, p. 65-67.
- [7] DOHERTY, W., MOUSAVIOUM, P. and FELLOWS, C. Value-adding to cellulosic ethanol: Lignin polymers. *Industrial Crops and Products*, 33, 2010, p. 259-276.
- [8] LÓPEZ, F., GARCÍA, J., FERIA, M., ZAMUDIO, M. y PÉREZ, A. Biorrefinería de materiales lignocelulósicos: *Eucalyptus globulus* [online]. Disponible en: [http://www.uhu.es/cideu/Boletin/Boletin8\\_9/BolInf8-9CIDEU75-82.pdf](http://www.uhu.es/cideu/Boletin/Boletin8_9/BolInf8-9CIDEU75-82.pdf) [citado 20 de abril de 2013].
- [9] AGUILAR V.D. Producción de etanol a partir de bagazo de caña panelera mediante un sistema híbrido de fermentación y pervaporación [Tesis Ingeniería Química]. Manizales (Colombia): Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería y Arquitectura, p. 6-11, 2011.
- [10] JUÁREZ-BARRIENTOS, J.M., RAMÍREZ-RIVERA, E.J., RAMÍREZ-FIGUEROA, E., RAMÓN-CANUL, L.G. y RODRIGUEZ-MIRANDA, J. Aplicación y comparación de pretratamientos totalmente libres de cloro en residuos de piña y zapote mamey para la obtención de carboximetilcelulosa. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 2 (1), 2011, p.108-126.
- [11] REQUEJO, A., RODRIGUEZ, A., COLODETTE, J.L. and JIMENEZ, L. TCF bleaching sequence in kraft pulping of olive treep runing residues. *Bioresource Technology*, 4 (84), 2012, p. 117-123.
- [12] COLOMBIA. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL (MADR). Anuario Estadístico Agropecuario y Pesquero. Resultados y Evaluaciones Agropecuarias Municipales. Bogotá (Colombia): 2012.
- [13] SUÁREZ, O.G. Evaluación de la calidad de la fibra de los subproductos del fruto del zapote (*Matisia cordata*) y su aplicación en la elaboración de productos fibrosos [Tesis Químico]. Popayán (Colombia): Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la Educación, Popayán, 2009, p. 20-25
- [14] ÁLVAREZ R.A., PIZARRO G.C. y FOLGUERAS D.M. Caracterización química de biomasa y su relación con el poder calorífico [Tesis M.Sc. Ingeniería Energética]. Oviedo (España): Universidad de Oviedo, Departamento de Energía, 2012, 12 p.
- [15] COLOMBIA. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL (CIAT). Informe de carac-

- terización de residuos agroindustriales. Palmira (Colombia): Laboratorio de Forrajes, 2013
- [16] PERNALETE, Z., PIÑA, F., SUAREZ, M., FERRER, A. y AIELLO, C. Fraccionamiento del bagazo de caña de azúcar mediante tratamiento amoniacal: efecto de la humedad del bagazo y la carga de amoníaco. *Bioagro*, 20(1), 2008, p. 3-10.
- [17] GARCÍA, M. Biorrefinerías: Situación Actual y Perspectivas de Futuro. Informe de Vigilancia Tecnológica. Madrid (España): Fundación Española para el Desarrollo de la Investigación en Genómica y Proteómica. Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas, 2008.
- [18] YANG, L., CAO, J., MAO, J. and JIN, Y. Sodium carbonate sodium sulfite pretreatment for improving the enzymatic hydrolysis of rice straw. *Industrial Crops and Products* 43, 2013, p. 711–717.
- [19] WU, M., PANG, J., LU, F., ZHANG, X., CHE, L., XU, F. and SUN, R. Application of new expansion pretreatment method on agricultural waste. Part I: Influence of pretreatment on the properties of lignin. *Industrial Crops and Products*, 50, 2013, p. 887–895.
- [20] ÁVILA, M., PALECHOR, J. y VALENCIA, E. Biopulpeo por vía enzimática de fibras de fique usadas para el desarrollo de matrices moldeadas con harina de yuca [Tesis Ingeniería Agroindustrial]. Popayán (Colombia): Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, 2013.
- [21] COLOMBIA. UNIVERSIDAD DEL CAUCA. VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIONES. Potencial energético de la mezcla de bagacillo de caña, polvillo de fique y afrecho de yuca para obtener bioetanol. Popayán (Colombia): Informe Final de Investigación, 2013.
- [22] MAEDA, R., SERPA, V., LIMA, V., ALVES, R., MELO, L., MACHADO DE CASTRO, A., DRIEMEIR, C., PEREIRA, N. and POLIKARPOV, I. Enzymatic hydrolysis of pretreated sugar cane bagasse using *Penicillium funiculosum* and *Trichoderma harzianum* cellulases. *Process Biochemistry*, 46, 2011, p. 1196-1201.
- [23] IQBAL, H., ASGHER, M. and AHMAD, Z. Alkali and enzymatic delignification of sugarcane bagasse to expose cellulose polymers for saccharification and bio-ethanol production. *Industrial Crops and Products*, 44, 2012, p. 488-495.
- [24] SALCEDO, M.J., LÓPEZ-GALÁN, J. y FLÓREZ-PARDO, L. Evaluación de enzimas para la hidrólisis de residuos (hojas y cogollos) de la cosecha de caña de azúcar. *Dyna*, 78(169), 2011, p. 182-190.