

UNIVERSIDAD IBEROAMERICANA
INCORPORADA A LA U. N. A. M.
ESCUELA DE QUIMICA

**ESTUDIO SOBRE LA OBTENCION DE CELULOSA
DE PAJA DE TRIGO POR MEDIO DE FERMENTACION
CON MICROORGANISMOS DE TIPO
CLOSTRIDIUM BUTIRICUM.**

TESIS PROFESIONAL
GUILLERMO CARRO ELOSEGUI

MEXICO, D. F.

1965



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD IBEROAMERICANA
INCORPORADA A LA U. N. A. M.
ESCUELA DE QUIMICA

**ESTUDIO SOBRE LA OBTENCION DE CELULOSA
DE PAJA DE TRIGO POR MEDIO DE FERMENTACION
CON MICROORGANISMOS DE TIPO
CLOSTRIDIUM BUTIRICUM.**

T E S I S
QUE PARA OBTENER
EL TITULO DE
Q U I M I C O
P R E S E N T A
GUILLERMO CARRO ELOSEGUI

MEXICO, D. F.

1965

A MIS PADRES

A MI HERMANO

A MIS AMIGOS

**A VICENTE SANJOSE
EN SU ULTIMA FAENA**

A DON LUIS M. VERA

A "CELULOSA MAIRO S. A."
POR LAS FACILIDADES CONCEDIDAS,
SIN LAS CUALES NO HUBIESE SIDO
POSIBLE ESTE TRABAJO.

INDICE

CAPITULO I

GENERALIDADES Y DATOS HISTORICOS SOBRE
LA CELULOSA DE PAJA DE TRIGO

CAPITULO II

CARACTERISTICAS DE LOS MICROORGANISMOS
EMPLEADOS

CAPITULO III

EXPOSICION DEL METODO

CAPITULO IV

PRUEBAS DE LABORATORIO

CAPITULO V

RESULTADOS OBTENIDOS Y SU APLICACION A
LA INDUSTRIA PAPELERA

BIBLIOGRAFIA

CAPITULO I

GENERALIDADES Y DATOS HISTORICOS SOBRE LA CELULOSA DE PAJA DE TRIGO OBTENIDA POR FERMENTACION

SINTESIS HISTORICA: El papel, como se sabe, fué inventado por los chinos aproximadamente en el año 2000 A. C. De China, el papel fué avanzando hacia el Occidente a través de Asia y Persia, regiones que eran atravesadas por las caravanas hacia Europa; en Samarkanda, el secreto de la manufactura del papel pasó de los chinos a los árabes. Siguió éste la ruta de las conquistas árabes y penetró en España aproximadamente en el año de 950 D. C. Para el año 1150 un árabe notable llamado Edrisi dijo, refiriéndose a la ciudad española de Xatiba (actualmente Játiva o San Felipe de Játiva): El papel ahí manufacturado era el mejor que se encontraba en el mundo civilizado, tanto fuera al Este o al Oeste.

Para el año de 1151 inició sus operaciones en dicha población, lo que se podría llamar actualmente, la primera fábrica de celulosa en el mundo occidental, trabajando por el método de maceración (fermentación) de las materias primas, método que fué usado hasta la invención de la pila holandesa (1680).

Los materiales trabajados en esa planta era lino, algodón, paja, esparto, trapos viejos, etc. Se supone que con los reducidos métodos de investigación con que se contaba en aquellos tiempos (si es que los había) dicha fermentación se descubrió en forma accidental al ser almacenadas algunas cantidades de materia prima en terrenos en los cuales había o

había habido estiércol de caballo (en investigaciones posteriores se descubrió que en el estiércol, hay microorganismos capaces de digerir los compuestos químicos que forman parte de los forrajes). Uniéndose ésto a las condiciones de clima, surgieron fermentaciones espontáneas que fueron aprovechadas, con el objeto de aislar las fibras y aprovecharlas para la fabricación de papel.

A pesar de estos descubrimientos en el mundo occidental, no fue sino hasta el año de 1521 cuando se registró el primer uso de la paja tratada por dicho método, como materia prima para el papel, en China (cuna del papel) ésto fué debido, posiblemente, a la falta de medios de comunicación de aquellos tiempos y a que el "arte" de fabricar papel y celulosa era considerado un secreto que iba de generación en generación, normalmente dentro de la misma familia.

En el año de 1800, un investigador inglés llamado Matthias Koops inició sus experimentos en esta rama, usando madera, paja y papel desmenuado.

Koops escribió tres libros que se imprimieron en el papel fabricado por estos métodos por él descubiertos. Gran parte del trabajo de la industria papelera actual está basada en los métodos y sistemas descubiertos e implantados por él.

Ya para el año en que Koops hizo sus investigaciones, existían varias fábricas de papel (a las que se les puede llamar) que producían sus materias primas por el sistema de maceración (principalmente).

ALEMANIA (Sacro Imperio Germano)	500 fábricas, producción total 1200 ton.
ESPAÑA	200 fábricas, producción total 5000 ton.
SUECIA	24 fábricas, producción total 120 ton.
RUSIA	26 fábricas, producción total 800 ton.

(las producciones están dadas en totales anuales).

La mayor planta que existía en Rusia en esa época contaba con 28 pilas holandesas y 70 tinas, y su producción era de 1,100 resmas de papel por semana, siendo la principal materia prima que consumían, paja y trapos viejos.

En América, la primera fábrica de papel se estableció en México, en la población de Culhuacan (actualmente existen algunas ruinas de dicha fábrica). Fué fundada aproximadamente por el año de 1530 y trabajó con varias intermitencias por un espacio de casi 300 años, siendo destruída a consecuencia de las guerras civiles que acontecieron en México en los años posteriores a la Independencia. De sus actividades no se conserva un registro, ni de tipo de papel elaborado ni de la cantidad que se producía, pero es de suponer que en ella se elaboraba papel para uso del gobierno colonial.

En los Estados Unidos por el año de 1828 se instaló la primera fábrica de papel y celulosa, siendo sus materias primas principalmente paja y trapos viejos. Su propietario era William Magaw y la fábrica es -

taba ubicada en Meadville, Pennsylvania. Con el papel producido en ella se imprimió una edición del Nuevo Testamento, que se vendía al público a un precio de 5 centavos de dólar; este papel era de color amarillento (el blanqueo químico era desconocido en ese tiempo) y su precio era económico, en comparación con los papeles importados de Europa.

En ese mismo año también inició en ese país sus operaciones otra planta que también usaba paja como materia prima y estaba localizada en Chambersburg, Pennsylvania, y era capaz de producir 300 resmas por día, siendo el precio de venta de la resma tamaño imperial (56.15 cm. por 73.66 cm.) de unos ds. 2.00.

A pesar de que la paja se usó como materia prima para la fabricación del papel desde el año de 1150, el procedimiento fué cayendo en desuso, pues su fabricación era considerada un gran secreto (mencionado anteriormente); fué redescubierta como materia prima para la fabricación del papel en 1800. Tiene entre sus cualidades: fibra corta (menor que la de madera) muy resistente a la compresión y que al ser mezclada con fibras de mayor longitud, da un papel de gran resistencia tanto sea al alargamiento como al frotamiento, perforación, compresión, etc.

Al ser redescubierta la paja para su uso como materia prima del papel, el método que se siguió y que se sigue actualmente para separar la de la lignina, pentosanos y demás compuestos químicos que acompañan a la celulosa en la paja, es el sistema Kraft o sulfato en el cual se trata la materia prima (material fibroso), con sosa cáustica y altas presiones y

temperaturas, hasta formar los derivados sódicos (solubles en agua) de las materias que acompañan a la celulosa.

Sin embargo, hasta donde llegan nuestros conocimientos, no se trabaja actualmente, en escala industrial, por el método de la fermentación; en consecuencia, el objeto de esta tesis es el estudiar las posibles ventajas que se seguirían de su empleo.

CAPITULO II

CARACTERISTICAS DE LOS MICROORGANISMOS EMPLEADOS

Los microorganismos empleados son el *Clostridium butiri - cum*, que pertenece al orden primero (Eubacteriales), suborden primero (Eubacterineas), familia número trece (Bacillaceas), género número dos (Clostridium), (tomado del Manual Microbiológico de Bergey).

CLOSTRIDIUM

Bacilos frecuentemente agrandados al esporular, por lo que dan formas clostrídeas o plectrídeas. No producen catalasa. Anaerobios o micro-aerófilos; muchas especies fermentan carbohidratos, y dan origen a varios ácidos (con frecuencia también butírico) y gases (anhidrido carbónico, hidrógeno, y a veces metano). Otros ocasionan una putrefacción rápida de proteínas, con olores molestos. Se encuentran con frecuencia en el suelo y en heces humanas o animales. Algunas especies, cuando viven saprofitas en substancia vegetal corrompida o en tejidos muertos, dentro de un huésped animal, producen diversos cuerpos tóxicos y líticos, y por ello son patógenas.

Características del género Clostridium:

Estrictamente anaeróbicos

No fermentan la colulosa

No hay pigmentos característicos en sus colonias

Forman esporas con sub-terminales excéntricas o céntricas

Las esporas son de forma ovoide

Las bacterias se hinchan en la esporulación

Son móviles

Pueden o no pueden licuar a la gelatina y/o la glucosa gelificada

La glucosa es fermentada

Coagulan la leche

Producen fermentación tumultuosa o por lo menos una activa coagulación de la leche

La glicerina no es fermentada

La manilina es fermentada

Algunos almidones, lactosa y sacarosa con fermentados

El almidón de papa (patata) es fermentado; el de maíz no lo es

Clostridium butyricum. Prueba característica:

El almidón de papa es fermentado, pero el de maíz no.

CLOSTRIDIUM BUTIRICUM. Descubierto por Prazmowski en 1880. Referencia: Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bacterien-Arten, Disc. Inaug. Leipzig, 1880.

BU. TI. RI. CUM. nombre griego, que proviene de butyrum - (mantequilla); latín moderno; adjetivo: butyricus (relativo a la mantequilla); nombre: acidum butyricum (ácido butírico o sea ácido de la mantequilla).

La descripción original fué complementada con material tomado

do de Adamson (Journal Pathologic and Bacteriological, 22, 1919, 371) y de Hall (Journal of Infectious Diseases, 30, 1922, 467).

Descripción:

Bastoncillos derechos o ligeramente curvados de 0.7 por 5.0 a 7.0 micras de dimensiones, con puntas redondeadas. Se encuentran solas, en pares, en cadenas cortas y ocasionalmente en filamentos largos. Las esporas son ovoides y excéntricas, hinchándose las células hasta formas clostrídeas. Movibles en el estado clostridio; son Gram positivos; en algunos casos pasan de Gram positivos a Gram negativos.

No licúan a la gelatina ni a la glucosa gelificada.

En el agar glucosado se forman colonias superficiales (anaeróbicas); circulares o ligeramente irregulares, ligeramente levantadas, húmedas y de color blanco cremoso.

También en el agar glucosado se forman colonias profundas: biconvexas, densas, de color blanco amarillento. El agar se fragmenta rápidamente por la abundancia de gas.

En cultivos en placa de agar (anaeróbicos) el crecimiento es pequeño o nulo; en caldo plano el crecimiento también es pequeño o nulo.

En caldo glucosado el desarrollo es abundante, con turbulencia difusa y se produce mucho gas.

En leche con tornasol se produce una coagulación ácida y rápida; el tornasol es reducido. Se produce una fermentación tumultuosa y la formación de coágulos que están fermentados, pero no digeridos.

No se produce indol.

Se producen ácido y gas a partir de la xilosa, glucosa, lactosa, sacarosa, almidón, salicina, esculina y manilina. No son fermentados la amigdalina, pectina, celulosa, glicerina y el lactato de calcio.

Los productos de fermentación incluyen alcoholes butíricos, - etílicos e iso-propílicos, acetona, ácidos orgánicos, hidrógeno y anhídrido carbónico.

Los nitratos no son reducidos a nitritos

El nitrógeno atmosférico es fijado, con menos actividad que - en el caso del *Clostridium pasteurianum* (Winogradsky; Rosenblum Wilson, - Journ. Bact., 57, 1949, 413).

No licúan la albúmina coagulada

No licúan el agar con sangre

No licúan el suero sanguíneo con agar

No hay digestión ni obscurecimiento del medio de cultivo hecho a base de sesos.

Anaeróbicos

Crecen bien entre los 30 y 37 grados centígrados

No son patógenos a los conejillos de indias

Fuente de obtención: originalmente aislados del queso. Comúnmente encontrados en leche natural, en plantas ricas en almidón, fermentadas naturalmente, y en el suelo.

Habitán probablemente con gran profusión y dispersión en tierras ricas en humus.

CAPITULO III

EXPOSICION DEL METODO

El método seguido para la fermentación de la paja es muy similar al del enriado del lino y consiste en seis etapas que son las siguientes:

- 1 Corte y limpieza de la paja
- 2 Inmersión en agua y esterilización del medio
- 3 Inoculación con los microorganismos y multiplicación de los mismos.
- 4 Eliminación del exceso de agua y fermentación del material
- 5 Control microbiológico y químico del proceso
- 6 Esterilización y paso del material a los procesos empleados en la industria papelera.

1. CORTE Y LIMPIEZA DE LA PAJA

La paja, por ser un material que se puede considerar un desecho de la industria de cereales, siempre viene acompañada de materias extrañas, tales como piedras, tierra, polvo, granos (que corresponderán al cereal del cual sea la paja), cascarilla (envoltura del grano) etc. También es necesario hacer el corte a la paja, con el objeto de romper la cánula (espacio hueco comprendido entre nudo y nudo de la paja); la pared exterior

de dicha cánula y, también la de la paja, es impermeable, pues contiene una fina capa de ceras naturales sumamente resistente a la acción del agua. En cambio, la pared interior no está protegida por ningún material y es muy permeable, por lo que ese punto presenta mayor facilidad al ataque microbiológico o químico. También es prudente hacer el corte, puesto que al romperse los espacios huecos, la paja se comprimirá con mayor facilidad y ocupará un espacio mucho más reducido (en un metro cúbico caben 100 kilos de paja entera, o sea sin cortar; en cambio, con la paja cortada, caben unos 160 kilos en el mismo espacio).

La operación de corte se lleva a cabo con máquinas agrícolas de tipo Papec y las operaciones de limpieza se logran con ciclones, que por diferencias de densidad eliminan tanto los materiales ligeros como los pesados, quedando después de esta operación la paja en condiciones de pasar a la segunda etapa.

2. INMERSION EN AGUA Y ESTERILIZACION DEL MEDIO

En este segundo paso, el agua en la cual se va a sumergir el material tiene disuelto un agente humectante (Humifen BX-75 de la Antara-Chemical Co.), con una concentración del 0.1% con respecto al agua y 1% con respecto al material. El uso de este agente tiene por objeto acelerar la hidratación de la paja y subsecuentemente, acortar el tiempo del proceso. A dicha agua de remojo se le agrega un 10% de lechada de cal saturada, que tiene la propiedad, por su contenido de dos radicales (OH) oxidri-

lo de alcalinizar, y el pH logrado fluctúa entre 9 y 10. Esta alcalinidad -- inicia un débil ataque químico de las ceras, lignina y pentosanos, y al mismo tiempo, se logra una esterilización bastante efectiva del medio (al ser el pH bastante alcalino, todos los microorganismos que habitan a condiciones de alcalinidad menores, son destruídos, y es bastante posible que subsistan microorganismos del tipo que interesan para este ataque a la paja) y las condiciones que quedan son muy favorables a los microorganismos que van a ser inoculados.

Si se desea una esterilización completa, se pueden seguir varios métodos para lograrla, y éstos pueden ser los siguientes: esterilización por medio de elevación de temperatura (ebullición), por abatimiento de temperatura (enfriamiento), por acción de compuestos químicos que por sus propiedades destruyan a los microorganismos (que pueden ser, alcoholes, anhídrido sulfuroso etc.). Todos los métodos indicados, a excepción del anhídrido sulfuroso, son poco prácticos, tanto para su aplicación, como por su elevado costo, y por lo tanto se les desecha.

El uso del anhídrido sulfuroso es el método de esterilización más adecuado, ya que su precio es bastante bajo y su aplicación es muy sencilla.

Para la aplicación de este agente esterilizante se usa el burbujeo a través del material y agua en la cual éste está sumergido. El tiempo de aplicación del gas es de unos 20 a 25 minutos (para un tanque de 90000 litros es necesaria la cantidad de 90 kilos de anhídrido, lo que da --

una concentración del 0.1%); en este tiempo, si bien no se logra una esterilización completa, ésta tiene una efectividad de un 98% aproximadamente.

Una vez lograda la esterilización pueden ser inoculados los microorganismos al medio (esto se aclarará más adelante).

El objeto de la inmersión del material en agua es, primero, - el proporcionar medio de distribución a los microorganismos por todo el - material, y además, que el agua por medio de su acción física, extraiga - por disolución, todos los compuestos solubles que tiene la paja y que se lo gre un hinchamiento de las fibras (esto ocasionará el agrietamiento de la - capa de cera que cubre el exterior de las fibras, cosa que favorece el ata- que de los microorganismos).

El agua extraerá todos los compuestos que sean solubles en - ella, que son los siguientes: carbonato de potasio, carbonato de sodio, sili cato de sodio, cloruro de sodio, materias orgánicas coloridas, etc. Todos estos compuestos son los principales que existen en la mayoría de las pa - jas, y su proporción en cuanto al peso del material es de un 7% aproxima - damente. Los compuestos orgánicos coloridos, son sustancias muy ade - cuadas para la nutrición de los microorganismos, en su etapa de multipli - cación. En la fibra, el agua actúa de la siguiente manera: penetra por la - parte inferior de la cánula (esta parte, no está protegida por ceras o cual - quier otro medio de defensa y como se dijo antes esta pared ya está al den cubierto, pues el material ya fué cortado), al ser empapadas las fibras, se hinchán y al hincharse ocasionan que la lignina (que está uniendo las fibras)

se despegue de ellas. Como la lignina no es soluble, ni es afectada por el agua, permanece inalterable. (Con ésto, se logra, por medio de un fenómeno físico, que gran parte de la lignina sea parcialmente desprendida, - - pues aunque no quede separada de la fibra, su superficie de contacto aumenta notablemente, y por lo tanto aumenta su superficie de ataque a los microorganismos, y será digerida más fácilmente). Al hincharse la fibra, su pared se adelgaza y permite más fácilmente el paso de los microorganismos a su interior, donde éstos atacarán a la lignina que está dentro de la fibra. Al estar la fibra completamente hidratada, pierde sus propiedades de flotación, y se hunde en el agua, por su propio peso, poniéndose ella - - misma, en condiciones de ser atacada por los microorganismos que son - - anaeróbicos.

ESTERILIZACION DEL MEDIO

Se requiere una esterilización, si no completa, por lo menos con una efectividad de un 90 a 95%, pues es necesario impedir alguna o algunas fermentaciones espontáneas, ajenas a la que interesa.

Para dicha esterilización, como ya se dijo antes, se usa anhídrido sulfuroso, su aplicación es por medio de burbujeo del gas a través - - del material, cuando éste ya esté perfectamente hidratado (o sea que se - - hundió en el agua por su propio peso). La operación, cuando se efectúa en gran escala (tanques de 90000 litros) tiene una duración de unos 20 a 25 minutos; en las pruebas efectuadas previamente en el laboratorio se requiere

ron de 15 a 17 minutos. (Las pruebas iniciales de esterilización en el laboratorio se hicieron con cargas de 50 kilos de paja cada una, fueron sometidas a diferentes tiempos de burbujeo del gas, y la cantidad de éste que dió resultados más satisfactorios fue la de 0.1% con relación al baño, que es igual a 1% con relación a la carga).

El anhídrido sulfuroso reacciona con el hidróxido de calcio, formando bisulfito de calcio, compuesto que también logra una pequeña acción química sobre el material, adelantando el tiempo de proceso.

En el lapso de tiempo en el cual el anhídrido sulfuroso queda neutralizado, éste actúa en el medio, bajando el pH en forma bastante considerable, logrando así que sean destruídos, por variación de pH, microorganismos que resisten alcalinidades elevadas. Esto, aunado a la acción tóxica de este anhídrido, logra una esterilización bastante satisfactoria.

No es de temer ninguna acción posterior por parte del anhídrido, pues, es neutralizado por la cal.

3. INOCULACION CON LOS MICROORGANISMOS Y MULTIPLICACION DE LOS MISMOS

Se partió para los experimentos, de un cultivo de *Clostridium butyricum*, puro, que fué adquirido al Departamento de Investigaciones Microbiológicas de los Estados Unidos, sito en la ciudad de Washington.

Este cultivo, venía en tubos de ensayo (no adquirieron dos tubos) de ellos se partió para lograr cultivos en francos de 500 centímetros cúbicos, que contenían un medio de cultivo cuya composición es la siguiente:

te:

1.0% de almidón de papa

0.5% de carbonato de calcio

0.3% de sulfato de amonio

0.6% de fosfato mono ácido de amonio

6.0% de sacarosa

0.1% de agar

91.5% de agua

Consistencia del medio, semisólido

pH (antes de esterilizar) 7.0

pH (después de esterilizar) de 7.5 a 8.0

Se sometió a una temperatura de 90 grados C por espacio de 15 minutos (con objeto de solubilizar el almidón)

Esterilización lograda por acción de luz ultravioleta por espacio de dos horas (estando ya el medio en sus frascos)

Transcurridos veinte días de inoculados, se trasplantaron los microorganismos (una gran parte de ellos, se conservó una pequeña cantidad para tenerlos como reserva de microorganismos puros), a frascos de cultivo en gran escala. La capacidad de cada frasco es de 18 litros y contiene cada uno, la cantidad de 6 litros de medio de cultivo. Con los dos tu bo originales, se sembraron un total de 20 frascos de 500 centímetros cú bicos; de éstos, 18 se tomaron para proseguir los cultivos, y dos de ellos se conservaron como reserva. De los 18 frascos de 500 centímetros cú bicos

cos se sembraron en 54 frascos de 18 litros; éstos transcurridos de 25 a 30 días de sembrados, ya estaban en capacidad de ser empleados en el proceso.

Cuando la densidad microbiana en los frascos de cultivo en gran escala, llega a 4,000 millones de microorganismos por centímetro cúbico, están los frascos en condiciones de ser empleados en el proceso.

Todos los frascos empleados están equipados con una válvula de Bunsen, pues como los microorganismos producen gases en forma bastante notoria, es necesario permitir la salida de estos gases sin que se permita la entrada al aire exterior, y ésto es logrado con toda facilidad por una de estas válvulas.

Todos los cultivos puros en pequeña o en gran escala, tienen como medio nutritivo, el medio cuya fórmula de composición está dada previamente, y todas las esterilizaciones se llevan a cabo con luz ultravioleta, siendo el tiempo de exposición a ella 2 horas en todos los frascos de cultivo.

Con un frasco de cultivo grande (frasco de 18 litros) se procede a inocular una carga de material (9,000 kilos de paja en 90,000 litros de agua) que ya ha sido previamente esterilizada. Para ésto se vuelca completamente el contenido del frasco, en el tanque en el cual está el material, ya perfectamente hidratado; se lava el frasco de la mejor forma posible, con el objeto de pasar todos los microorganismos al tanque.

Se permite que los microorganismos se multipliquen, hasta -

llegar a una densidad microbiana de 400 millones de microorganismos por centímetro cúbico; esta multiplicación se logra en un espacio de 7 a 10 - días, dependiendo ésto de las fluctuaciones que tenga la temperatura, tanto sea la ambiente, como la del interior del tanque.

Se trata de mantener una temperatura de aproximadamente - 34 a 36 °C, pero como los microorganismos generan calor, esta temperatura se eleva, y durante las horas del día, el tanque absorbe calor solar, - que favorece la elevación de la temperatura. Esto es compensado en parte por el abatimiento de la temperatura en las horas de la noche, horas en las cuales falta el calor solar, pero si a pesar de esto la temperatura tiende a subir, es necesario proporcionar refrigeración al tanque; para lograrla, - se usa un sistema de refrigeración convencional, en el cual el serpentín - está sumergido en el líquido.

Cuando la densidad microbiana llega al punto indicado, se procede a eliminar el agua excedente del tanque que se logra por medio de los orificios que tiene un falso fondo, del cual está equipado el tanque; estos - orificios, están limitados por unas válvulas, que al ser abiertas, permi-ten el paso del líquido excedente. La cantidad de agua que es eliminada es de 28,000 a 32,000 litros.

Esta agua eliminada, tiene una gran cantidad de microorganismos vivos y éstos, por su alta concentración, pueden llegar a ser peligrosos y ocasionar perjuicios, tanto sea en los tubos de drenaje como a los - ríos o canales (según sea por donde se elimine) es necesario destruir, la

mayor cantidad posible de microorganismos y esto se puede lograr (y se logra) por medio de burbujeo de aire atmosférico a través del tanque en el cual vayan a parar las aguas mencionadas, este burbujeo se logra usando aire comprimido, que es proporcionado, por una pequeña compresora de aire, se permite el burbujeo del aire, por espacio de unas 24 horas, al cabo del cual se ha logrado la destrucción de la mayor parte de microorganismos vivos, según lo demuestra el resultado de cuentas, llevadas a cabo en el material.

Cantidad inicial de microorganismos 400,000.000 por ml.

Cantidad final de microorganismos 20,000 por ml.

(Estos números, son de microorganismos vivos)

Con la densidad microbiana, que se tiene después de este paso se puede eliminar el agua, por medio de cualquier vía de drenaje y puede descartarse el temor de contaminaciones de parte de ellos.

El aire atmosférico, es bastante letal, para estos microorganismos, y logra que sean destruidos por intoxicación aerobia.

Como su densidad microbiana, es bastante baja, al ser introducidas estas aguas, en los sistemas de drenaje, que tienen una flora microbiana muy elevada y diversa, son destruidos o bloqueados, y dejan de ser peligrosos.

4. ELIMINACION DEL EXCESO DE AGUA Y FERMENTACION DEL MATERIAL

La operación de eliminar el agua, del tanque en el cual se - -

efectuó la inoculación y se permitió multiplicar a los microorganismos, es una operación sumamente sencilla, al tanque en el cual estaba depositada la paja y el agua que la embebe, se le han instalado previamente unas rejillas en el fondo (que forman un falso fondo) y únicamente con abrir las válvulas de que está provisto el tanque, basta para que el agua salga.

La cantidad de agua que sale de un tanque de 90,000 litros - que tiene una carga original de paja de 9,000 kilos, es de 28,000 a 32,000 litros, quedando el faltante, embebido en la paja, esta cantidad de agua es la que va a permitir la fermentación del material.

Una vez efectuada esta operación, el material es sacado del tanque y apilado en un solo montón de forma cónica, este montón es protegido por una lona o cualquier otro tipo de material que se le asemeje, lo que tiene por objeto proteger al material que se está fermentando, de las inclemencias del tiempo, y del ataque de agentes extraños (por ejemplo: microorganismos, cuyas esporas arrastre el aire, y que podrían ocasionar fermentaciones espontáneas).

Estando el material en los montones, es cuando realmente, va a ser fermentado, y esta fermentación se manifiesta por una elevación fuerte de la temperatura y el desprendimiento de cantidades considerables de gases de los cuales algunos son fétidos.

En estas condiciones el material permanece por espacio de unos 20 días. Este lapso de tiempo, varía de acuerdo con las estaciones del año, pues en la temporada en la cual hace calor, el proceso de fermen

tación se lleva a cabo en 18 días, y en cambio la temporada en la cual hace algo de frío, el proceso se llevará a cabo en 22 días.

Una vez llegado el ataque microbiano hasta el punto deseado, se puede pasar a los procesos siguientes, de la manufactura de celulosas, pasando previamente por la esterilización.

5. CONTROL MICROBIOLOGICO Y QUIMICO DEL PROCESO

El control que se va a aplicar a este proceso, es bastante sencillo - -
consistiendo de varias etapas, que son las siguientes:

Cultivos puros

Cultivos en escala intermedia

Cultivos en gran escala

Cuenta de los microorganismos al ser inoculados

Cuenta de los microorganismos en la etapa de multiplicación-
de los mismos

Cuenta de los microorganismos, en las aguas o lejías que van
a ser desechadas.

Cuenta de los microorganismos en el material ya terminado

Determinación del grado de cocimiento del material ya terminado. (número de permanganato).

Cultivos puros: Estos cultivos, como ya se indicó antes, fueron adquiridos, en su cepa original, en los Estados Unidos, a una casa que

se dedica a la venta de microorganismos, en forma de cultivos puros.

De esta cepa, se adquirieron dos tubos de microorganismos.

Cultivos en escala intermedia; los dos tubos de microorganismos se disolvieron en suero fisiológico (Cloruro sódico en agua con una concentración de 8.5 gramos por litro de agua, lo que da una normalidad de 0.2 N) De estas dos soluciones preparadas, se sembraron con cada una, 10 frascos (matraces Erlenmeyer) de 500 centímetros cúbicos cada uno (el total de frascos sembrados fué de 20). Se les permitió a los microorganismos reproducirse, hasta que adquirieron una densidad microbiana de 1000 millones de microorganismos por centímetro cúbico, esto se sabe cuando llega, haciendo cuentas periódicas de los microorganismos.

CUENTA DE MICROORGANISMOS AL SER INOCULADOS

La técnica de estas cuentas es la siguiente: se toma un centímetro cúbico de la muestra, y se pone en un tubo de ensaye, a esto se le agregan 99 centímetros cúbicos de solución salina 0.2 N (con esto se tiene una solución 1:100) de esta solución se toma un centímetro cúbico y se pone en un tubo de ensaye, se completa el volumen a 10 centímetros cúbicos, con solución salina, y se tiene una solución 1:1000, se sigue esta técnica hasta llegar a una solución de 1:1000,000,000 de esta solución se toma un centímetro cúbico, y se le pone poco a poco en un porta objetos que está puesto en un baño de arena a una temperatura moderada, lo cual va secando la muestra y al mismo tiempo fijándola al porta objetos, y ya en él se

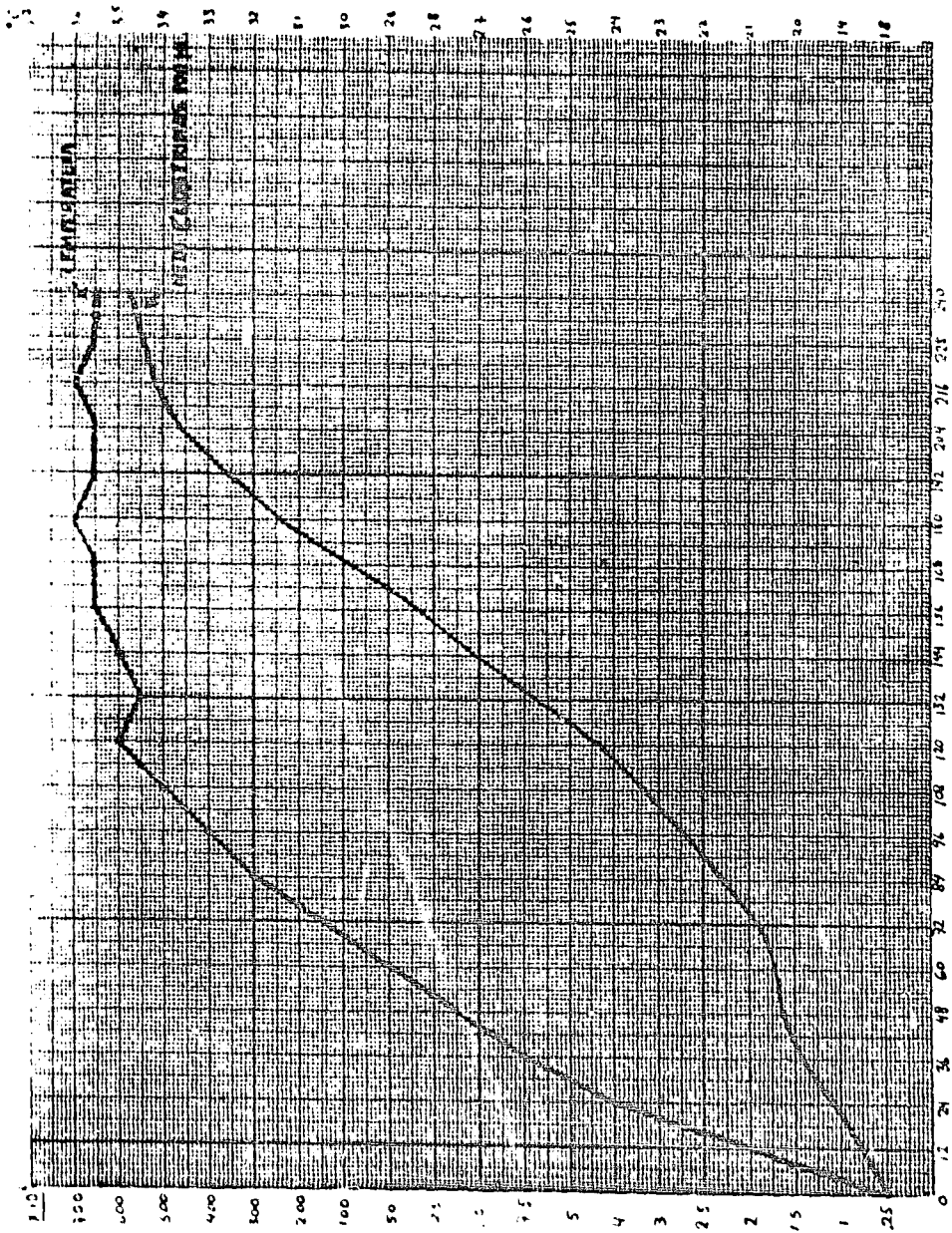
les hace una coloración de Gram, (en esta coloración se usó como colorante de contraste, fucsina fenicada diluída), al resultado de esta cuenta se les multiplica por 100,000,000 y se tiene un resultado bastante aproximado, se repiten estas cuentas varias veces, con el objeto de promediar varias de ellas, y tener el resultado lo más exacto posible (esta técnica es la seguida en todas las cuentas, con el variante de que, según el caso, las diluciones se harán menores o mayores, la dilución mayor que fué hecha fué la de 1:100,000,000, todas las demás diluciones, fluctúan de 1:10,000 a 1:10,000,000) la cuenta debe de dar 40 microorganismos por centímetro cúbico (en la última dilución) esto multiplicado por 100,000,000 da un resultado final de 4,000,000,000 de microorganismos por centímetro cúbico, llegado a esta densidad microbiana se puede emplear el cultivo.

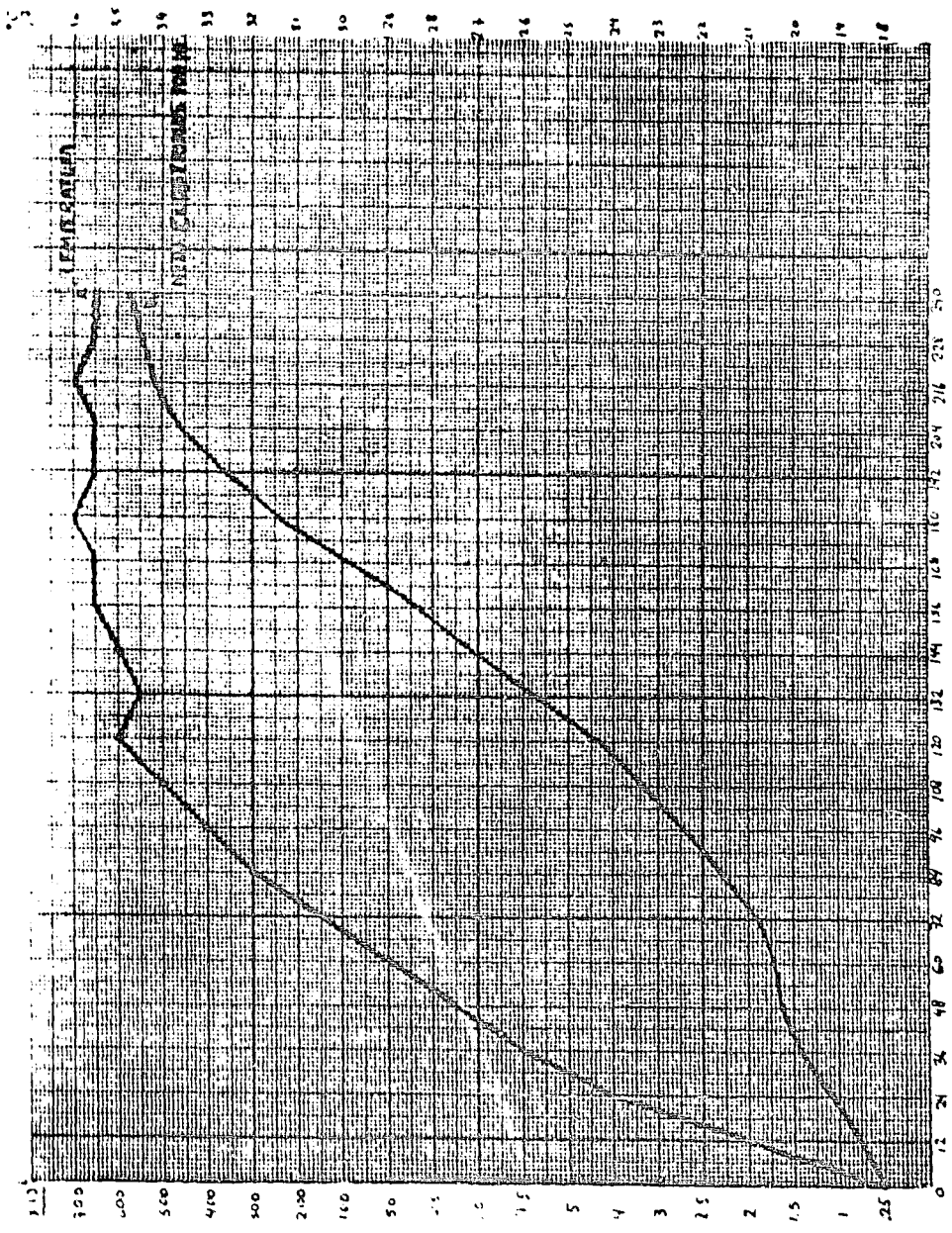
En la etapa de inoculación y multiplicación de los microorganismos se hacen conteos cada 12 horas, dando el resultado de tales cuentas la siguiente gráfica:

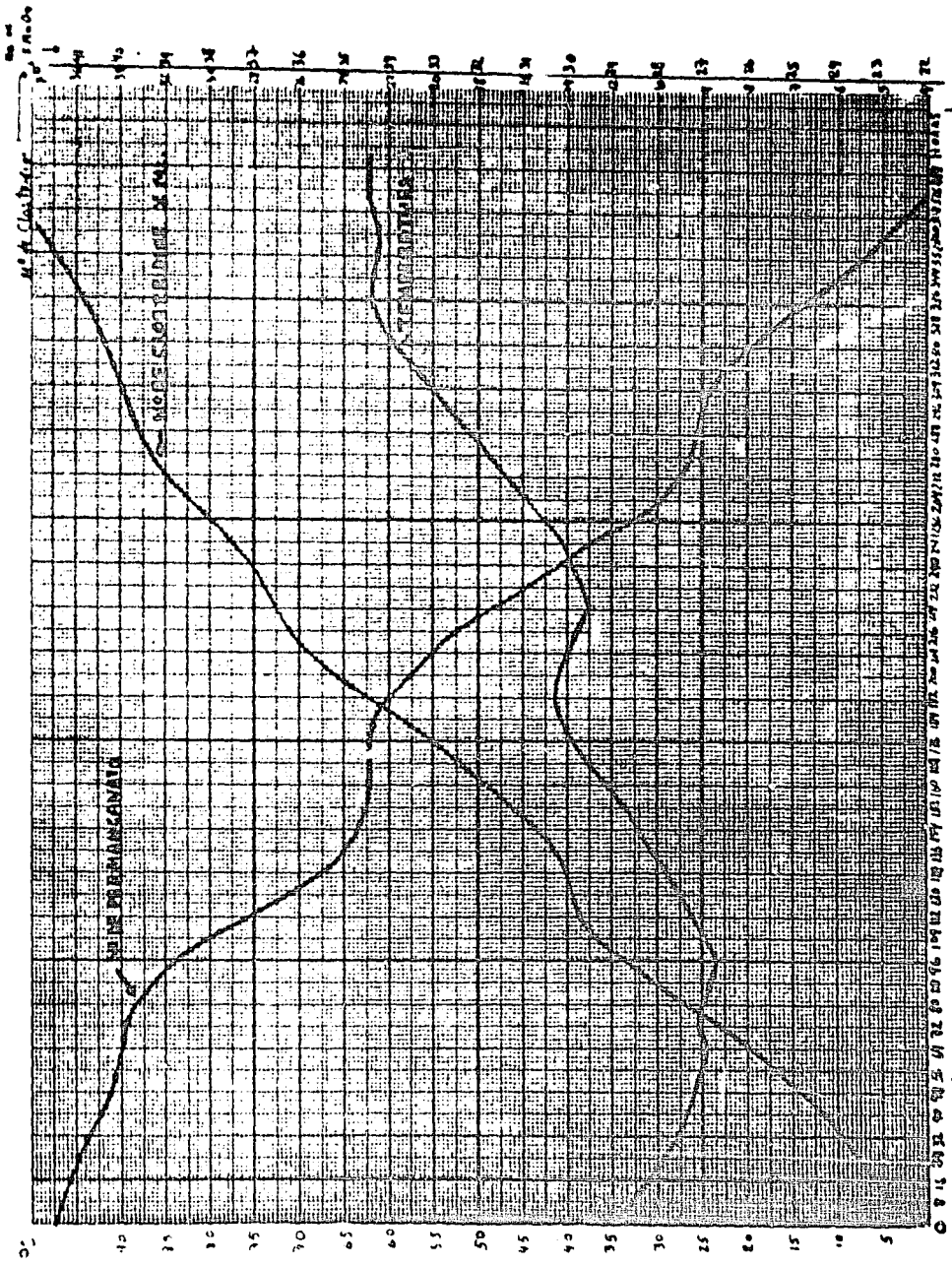
Se grafican número de microorganismos y temperatura a la que están contra tiempo.

También se registraron las temperaturas y con esos registros se formó la curva que corresponde a las temperaturas.

En la etapa de fermentación del material, el control que se llevó a cabo, fué también a base de cuentas de microorganismos y de los registros de temperaturas, anexándose como prueba complementaria la denominada "número de permanganato", lo cual formó la siguiente gráfica:







En ella se grafican: Contra tiempo, temperatura, "número de permanganato" y número de microorganismos por centímetro cúbico.

El número inicial de microorganismos por centímetro cúbico es originalmente de unos 400,000,000 y se multiplican hasta llegar a una densidad microbiana de unos 3,650,000,000 microorganismos por centímetro cúbico.

El número de permanganato o sea el que indica el grado de cocimiento del material está inicialmente en 41.5 (que corresponde al material crudo) y va descendiendo gradualmente hasta llegar a un margen que fluctúa entre 21 y 23 (dentro de esos límites se considera en la industria papelera, que la paja está en condiciones de ser empleada).

También la temperatura en el proceso se graficó y dió como resultado un descenso inicial que fué seguido por un aumento progresivo hasta llegar a la temperatura límite (62 grados centígrados) esta curva será explicada más ampliamente en el capítulo siguiente.

Cuenta de los microorganismos en las aguas o leñas que van a ser desechadas: es necesario llevar un control de los microorganismos vivos, que son eliminados por los medios usuales de drenaje, existiendo el peligro de contaminar, no sólo drenajes, sino poder llegar a ocasionar problemas mayores a elemento humano, a cultivos, etc.

Es necesario destruir el mayor número posible de microorganismos pues, siendo ellos patógenos, no es prudente dejarlos vivos, para destruirlos se usa aire atmosférico (indicado anteriormente). Las cuentas

En ella se grafican: Contra tiempo, temperatura, "número de permanganato" y número de microorganismos por centímetro cúbico.

El número inicial de microorganismos por centímetro cúbico es originalmente de unos 400,000,000 y se multiplican hasta llegar a una densidad microbiana de unos 3,650,000,000 microorganismos por centímetro cúbico.

El número de permanganato o sea el que indica el grado de cocimiento del material está inicialmente en 41.5 (que corresponde al material crudo) y va descendiendo gradualmente hasta llegar a un margen que fluctúa entre 21 y 23 (dentro de esos límites se considera en la industria papelera, que la paja esté en condiciones de ser empleada).

También la temperatura en el proceso se graficó y dió como resultado un descenso inicial que fué seguido por un aumento progresivo hasta llegar a la temperatura límite (62 grados centígrados) esta curva será explicada más ampliamente en el capítulo siguiente.

Cuenta de los microorganismos en las aguas o lejías que van a ser desechadas: es necesario llevar un control de los microorganismos vivos, que son eliminados por los medios usuales de drenaje, existiendo el peligro de contaminar, no sólo drenajes, sino poder llegar a ocasionar problemas mayores a elemento humano, a cultivos, etc.

Es necesario destruir el mayor número posible de microorganismos pues, siendo ellos patógenos, no es prudente dejarlos vivos, para destruirlos se usa aire atmosférico (indicado anteriormente). Las cuentas

se llevan a cabo por los métodos que se han venido usando, y como medida de precaución, de la última dilución que se prepara y en ella la cuenta - (usando el microscopio) de esta misma última dilución, se toma un centímetro cúbico de ella y se siembra en una caja petri, que tiene una capa del medio de cultivo que se ha venido usando en todos los cultivos, se incuba por espacio de 24 horas y el número de colonias que se hayan formado, indicará el número de microorganismos vivos. Este resultado que fluctúa de 18 a 22, se multiplica por mil ya que para hacer esta última cuenta las diluciones que se hicieron son de 1:1000. Si el número de microorganismos vivos por centímetro cúbico es de 18,000 a 22,000 ya esas aguas de desecho no encierran peligros, y pueden ser eliminadas.

Cuenta de los microorganismos en el material ya terminado:-

Esta cuenta es de gran importancia, pues por medio de ella se puede saber, si el material que ya va a ser entregado, podrá o no permanecer almacenado cierto tiempo o ha de ser empleado inmediatamente. La esterilización del producto final, es llevada a cabo por medio de oxigenaciones, que son logradas en las diferentes máquinas que muelen, laminan y en general procesan el material, con esto la población microbiana activa disminuye en forma considerable. Posteriormente en la fábrica de papel, al ser manufacturado éste, en el proceso de secado del mismo, es sometido el papel, húmedo primero a una temperatura bastante elevada y por espacio de unos 60 a 120 segundos (atando calor húmedo, la humedad la proporciona el papel), y la temperatura llega a elevarse hasta unos 120 ó 130 grados centígra

dos) se logra una esterilización completa del material, y puede sin peligro ser enviado al cliente.

La cuenta que se lleva a cabo en la planta de fermentación es con el objeto de poder indicar al cliente dentro de qué límites de tiempo ha de usar el material (dentro de este límite el material conservará las especificaciones indicadas).

Determinación del número de permanganato: Esta determinación es la más usada en la industria papelera, cuando se desea saber el grado de cocimiento de un material (se entiende por grado de cocimiento, la mayor o menor cantidad de lignina, pentosanos, etc. que han sido eliminados de la materia prima, ya sea madera, trapos, bagazo de caña, pajas o cualquier otro material fibroso que se emplea en la industria papelera).

La determinación se hace de la siguiente manera:

Se toma un gramo del material (base seca) y se diluye en 500 mililitros de agua destilada, a esto se le agregan 40 mililitros de solución 0.1 N de Permanganato de potasio, y 40 mililitros de solución 0.1 N de Yodo, se pone a agitar por espacio de dos minutos, y pasado este lapso de tiempo, se procede a titular la solución, usando para esto una solución 0.1 N de tiosulfato de sodio y solución de almidón como indicador.

Se titula hasta que desaparece la coloración azul del yoduro de almidón, en ese momento se toma la lectura del número de centímetros cúbicos de tiosulfato consumidos, siendo esa lectura el llamado número de permanganato, para la paja el número es de 23 a 21.

La gráfica anterior indica los números de permanganato tomados al material en fermentación, en espacios de ocho horas, se inicia en 41.5 que es el número de permanganato de la paja cruda y se termina en 22 que es el número que corresponde a la paja ya cocida o digerida.

6. ESTERILIZACION DEL MATERIAL Y SU PASO A LOS PROCESOS USADOS EN LA INDUSTRIA PAPELERA

La esterilización del material, se logra a base de aireaciones del mismo, dichas aireaciones se llevan a cabo en las diferentes etapas por las cuales pasa el material dentro de la misma planta de celulosas, y son las siguientes: Molienda; Hidropulpers y pilas holandesas.

Depuración: Depuradores

Laminado: Máquinas cartoneras

En la molienda, ya sea en los hidropulpers y en las pilas holandesas, el material es agitado violentamente por piezas metálicas y una gran cantidad de aire es incorporado al material fermentado, como los microorganismos son anaeróbicos una gran parte de ellos es destruída por este medio en estos aparatos.

En la depuración, el material pasa por zarandas muy finas y de poco fondo, estando nuevamente en contacto con el aire, que es letal a los microorganismos.

Si se desea una esterilización más perfecta, puede usarse aire comprimido, y burbujeado a través del material por espacio de varias

horas (en este tiempo, el material permanece en tanques de almacenamiento).

En la última etapa, dentro de la fábrica de celulosas, o sea el laminado, el material, es privado de gran cantidad de agua y llevado en forma de una hoja fina, por encima de un fieltro siendo prensado y convertido en láminas (grosor de ellas 9 a 12 mm) y puesto en tarimas, para su entrega al cliente. En estos pasos nuevamente está en contacto con el aire, que logra mayor destrucción de los microorganismos.

El material ya en la fábrica de papel, es sometido a los diversos métodos de molienda y acabado, con lo cual se logra el papel o cartón que se desee producir.

En el caso de que aun subsistieran vivos algunos microorganismos éstos son destruídos completamente, por medio de calor húmedo, que como se dijo antes, se tiene en el momento del secado del material.

En pruebas llevadas a cabo, con papel elaborado por este sistema se vió que, en varias muestras que fueron incubadas en atmósfera húmeda y a condiciones de temperatura, que fluctuaban de 35 a 37 grados centígrados, no se desarrolló ninguna colonia de clostridios (elimina la posibilidad de microorganismos remanentes del proceso de fermentación). Se llegaron a formar algunas colonias de mohos, siendo su presencia debida a que posiblemente, se adherieron al papel, una vez que estaba ya manufacturado, y es posible que sus esporas hayan sido arrastradas por el aire.

CAPITULO IV

PRUEBAS DE LABORATORIO

En total se llevaron a cabo veinticinco pruebas (con el objeto, de obtener resultados promedio), en una escala piloto. Cada prueba fué -- llevada a cabo con cargas de 100 kilos de paja tal y como es surtida por -- los proveedores.

Como primer paso, se limpia la paja de todas las impurezas- que pueda tener, tales como: grano remanente, cascarilla, polvo y cual- - quier otro tipo de material extraño.

Análisis de la paja antes de ser limpiada.

Cascarilla	10%
Grano	2.5%
Polvos	2.0%
Humedad	12.5%
Otras impurezas	3.0%
Paja limpia	<u>70.0%</u>
T o t a l: .	100.0%

Todas las cargas se trataron de la misma manera, y fué como sigue:

Se cortó la paja en un molino Ensilador Papec de 12.5 H.P. - Este molino tiene una cuchilla que gira en forma de hélice y en el sitio de -

la alimentación tiene su contra fija, el material una vez cortado, pasa por una criba que sólo permite el paso a material que tenga 2.5 centímetros o menos de tamaño.

De ahí el material pasó a los tanques de empapado, cada tanque tiene una capacidad de 1000 litros de agua (más un margen de 500 litros que se dá como seguridad) por cada 100 kilos de paja se pusieron 1000 litros de agua. Esta agua ya tiene disuelto el humectante (Humifen - BX-75) en cantidad de 1000 gramos por cada 1000 litros de agua, lo que dá una concentración de 0.1% con respecto al baño y 1% con respecto al material. Luego a ésto se le agregó la cantidad de 100 litros de lechada de cal (10% con respecto al baño) saturada, esta lechada viene conteniendo aproximadamente 22 kilos de Hidróxido de Calcio, por carga.

El material se sumergió en el agua, en un tiempo de unas tres horas, esta operación fué hecha sin ayuda externa (como poner materiales pesados en la superficie del material a hidratar con objeto de acelerar su hidratación).

Una vez hechas estas operaciones, se procedió a esterilizar el material, se burbujeó Anhidrido sulfuroso a través del tanque por espacio de unos 15 minutos, bastando este tiempo para lograr una esterilización bastante satisfactoria, la cantidad de anhídrido que se empleó en ésto fué de 1000 gramos (0.1% con respecto al baño y 1% con respecto al material).

Con todas las operaciones previas, llevadas a cabo, el si -

guiente paso fué la inoculación de los microorganismos, para ello se tomó, de los frascos de cultivo grandes (18 litros c/u) la cantidad de 2.5 litros de medio de cultivo (este medio ya tiene en habitación los microorganismos a una densidad microbiana de 1,000.000,000 por centímetro cúbico.

Al ser diluidos los microorganismos en el medio, su concentración baja a 250,000 por centímetro cúbico, iniciándose de ahí en adelante su multiplicación.

Pasado el período de multiplicación de los microorganismos y la acción física del agua, se practicaron análisis, tanto químicos como microbiológicos, que dieron los siguientes resultados:

Paja (tomando en cuenta, la base seca)

Materias colorantes, (solubles en agua) sales inorgánicas (también solubles en agua), etc. 38.4%

Paja restante 61.6%

(Es de notar que estos últimos porcentajes, están dados, tomando como 100%, a los 70 kilos de paja limpia con que se empezó). (O sea que en este momento queda 43.2 kilos de paja seca).

Microorganismos: Densidad microbiana en este momento:

400,000,000 de microorganismos por centímetro cúbico.

Se eliminó el agua, que estaba en exceso, siendo eliminados un total de 300 a 350 litros, esta agua pasó a esterilización y posteriormente al drenaje.

Se puso el material a fermentar, y con los datos obtenidos -

en esa operación se preparó la gráfica triple (gráfica número 2) en la cual se puede notar lo siguiente:

Temperaturas: La temperatura inicial (35 grados C) fué descendiendo, hasta llegar a la temperatura mínima en el proceso (23.5 grados C) de ahí fué gradualmente ascendiendo, con algunas bajas pequeñas, hasta llegar a la temperatura máxima que se desarrolla, en el proceso, ésta es de 62 grados C. y cuando es alcanzada, indica que el proceso ha llegado a su fin, en ese punto es donde ya se suspende la fermentación.

El número de microorganismos, que inicialmente es de - - - 400,000,000 por centímetro cúbico, va ascendiendo gradualmente hasta llegar a una cantidad que anda por los 3600,000.00 de microorganismos por centímetro cúbico. Esto es logrado por el hecho, de que los microorganismos, siguen reproduciéndose al mismo tiempo que llevan a cabo la digestión del material. Cuando la densidad microbiana, llega a números superiores a los 3,000,000,000 es señal de que el material ya está cercano a quedar listo.

La mejor señal de que el material va cocinándose la proporciona el llamado número de permanganato, que se puede considerar la prueba más fiel y aceptada en toda la industria papelera.

Mientras mayor es la temperatura y asimismo el número de microorganismos, el número de permanganato descenderá con mayor rapidez y llegando a 23, el material ya está listo para ser pasado a otras etapas del proceso.

En la fermentación se desprenden gases, vapores, etc., el balance o análisis final del producto, al ser suspendida la fermentación es el siguiente:

Lignina fermentada	31.5%
Lignina no fermentada	18.2%
Celulosa	34.3%
Acido acético (como acetato de calcio)	1.15%
Acido butírico (como butirato de calcio)	2.5%
Alcohol etílico	0.4%
Alcohol butírico	0.5%
Anhidrido carbónico	4.4%
Hidrógeno	0.2%
Metano	0.65%
Gases variados	1.2%
Hidróxido de calcio (parte como sulfito)	5.0%

En total la suma de los diferentes compuestos que se forman en el proceso de 100.0%.

El pH final del producto, varía de 6.5 a 7.5

Este pH final, es perfectamente aceptable, en la industria papelera.

CAPITULO V

RESULTADOS OBTENIDOS Y SU APLICACION A LA INDUSTRIA PAPELERA

El material ya terminado, es una fibra que reúne las siguientes cualidades.

Corta y entera (2 a 4 mm)

Resistente a la compresión (3 a 9 Kg/cm² en papel con ella -
manufacturado)

Suave y de fácil molienda

Comunica al papel que se elabora con ella, gran resistencia, -
tanto sea a la tensión como a la compresión y dobleces.

Drenaje fácil (es decir, que al hacer el papel, el material, va
mezclado con agua, y ésta al estar en los cedazos, no tiene
dificultad para separarse por drenaje).

EN CONCLUSION:

El material obtenido por fermentación, puede ser usado, sin
ningún inconveniente por las fábricas de papel que elaboren papeles que re-
quieran para su manufactura.

Cabe hacer posteriormente, un estudio económico del proce-
so y material, y ver sus ventajas o desventajas, en comparación con otros
métodos, completamente químicos.

Es asimismo necesario un estudio del tiempo con el objeto de ver su duración y si es posible acortarlo en algún o algunos puntos.

BIBLIOGRAFIA

1. - PAPER MAKING

ALFRED A. HUNTER

KNOPF INC. N. Y.

1947

2. - PULP AND PAPER

CASEY

INTERSCIENCE PUBLISHERS, N. Y.

1952

3. - ENCYCLOPEDIA AMERICANA

AMERICANA CORPORATION

1961. WASHINGTON

4. - BACTERIOLOGIA

A. J. SALLE

EDIT. GUSTAVO GILI S. A.

BARCELONA

1957

5. - MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL

PRESCOTT Y DUNN

AGUILAR EDICIONES

MADRID

1958

5. - INFORMACION PERSONAL

SR. GUILLERMO CAJRO HERRERA

DIRECTOR GENERAL

"CELULOSAS MAIRO S. A."

1962

