

Tesis de Posgrado

Hidrólisis, sacarificación y fermentación alcohólica de la madera

Rappaport, Carlos

1951

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Química de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Rappaport, Carlos. (1951). Hidrólisis, sacarificación y fermentación alcohólica de la madera. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0689_Rappaport.pdf

Cita tipo Chicago:

Rappaport, Carlos. "Hidrólisis, sacarificación y fermentación alcohólica de la madera". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1951. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0689_Rappaport.pdf

Carlos Rappaport

**HIDROLISIS, SACARIFICACION Y FERMENTACION ALCOHOLICA
DE LA MADERA.**

**Tesis presentada para optar al título de doctor en química.
Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.
Universidad Nacional de Buenos Aires.**

1951

TE 111:689

Vaya mi gratitud de alumno al profesor
doctor Carlos Gini Lacarte, y mi
agradecimiento por su gentil apoyo.

Agradece asimismo la colaboración
del doctor Fermín Sánchez,
de la Dirección Forestal
y de los laboratorios de esta Facultad.

PADRINO DE TESIS
DOCTOR CARLOS GINI LACORTE.

ANTECEDENTES

PRODUCCION DE AZUCAR DE MADERA EN ALEMANIA; SU CONVERSION A ALCOHOL

La Joint Intelligence Objectives Agency, Washington D.C., investigó los progresos hechos en Alemania en la producción y utilización de azúcar de madera obtenida por hidrólisis ácida de la madera. Las investigaciones se limitaron a la zona francesa, inglesa y norteamericana de ocupación.

Fueron visitadas las siguientes plantas:

- | | |
|--|-------------------|
| 1. Tornesche Holzucker und
Futterhefe Fabrik. | Tornesch-Hamburg. |
| 2. Holzverzuckerungs
Gesellschaft m.b.H. | Holzminde |
| 3. Suddenteche Holzversuckerungs
Werke A.G. | Regensberg. |
| 4. Deutsche Bergin A.G. für
Holzhydrolyze. | Rheinau-Manheim. |
| 5. Zellstoffabrik Waldhof
Werk Manheim. | Waldhof-Manheim. |
| 6. Zellstoffabrik Waldhof
Werk Kostheim. | Kostheim. |

La producción y utilización de azúcar de madera representaba un papel importante en la economía bélica alemana. Las plantas que producían alcohol por el proceso Scholler, del licor de sulfito tenían una capacidad de 10.000000 y 25.000000 de litros por año, respectivamente. La capacidad total de las plantas para la producción de levaduras era más de 25.000 toneladas métricas por año. Plantas adicionales para la producción de levaduras a partir del licor de sulfito se hallaban en construcción al finalizar las hostilidades.

Contrariamente a las amplias publicaciones, el proceso Scholler no

estuvo muy expandido durante la guerra. No se encontraron procesos significativos en la técnica de la producción de azúcar de madera pero la fermentación de azúcar de madera a alcohol fué llevada a cabo por un proceso rápido y continuo de suministro de levadura.

Las dos plantas Bergius en Alemania para la producción de azúcar de madera, usaban la misma técnica descrita en la literatura química antes de la guerra. Se trata de un proceso técnicamente muy interesante, pero sus requerimientos en cuanto a los equipos y necesidades químicas, lo hacen impracticable.

Azúcares de madera para los procesos industriales, se obtenían en Alemania durante la guerra, de las siguientes fuentes:

1. El proceso Scholler; 2. El proceso Bergius; 3. Licor del sulfito;
4. La prehidrólisis con ácido diluido de paja y desechos de madera para ser utilizado en el proceso Bergius o en la producción de pulpa;
5. "Schlempe" o residuos de la fermentación alcohólica de la madera.

Actualmente existen tres plantas Scholler en Alemania, Tornesch, Hozminden y Dessau. Por otra parte existe una en Kores, una en Ems, Suiza y otra cerca de Florencia, Italia.

Los fundamentos del proceso Scholler fueron presentados en la literatura Alemana desde 1930 a 1940 por Scholler, Luers, Karsch y otros. Ultimamente un grupo de investigadores bajo la dirección de Harris, en los U.S. Forest Products Laboratories contribuyeron en este campo.

La planta de Tornesch industrializaba de 700 a 800 toneladas de madera por mes en tres digestores; una de 18 metros cúbicos, una de 40 metros cúbicos y una de 50 metros cúbicos. Los materiales requeridos para la producción de una solución de azúcar de madera neutra, eran los siguientes:

Peso de la madera**por ciento**

H₂SO₄	11
CaCO₃	12-14
CaO	1
Carbón	90

El rendimiento de azúcar registrado era de 50 por ciento sobre el peso de la madera y el de alcohol de 20 a 22 litros por 100 kg. Esta planta tenía un exceso de capacidad para producir levaduras y alcohol empleando una parte de azúcar de melaza y dos partes de azúcar de madera.

HIDROLISIS Y SACARIFICACION

SACARIFICACION CUANTITATIVA DE LA MADERA.

R E S U M E N

Se ha desarrollado un método analítico rápido para la hidrólisis de materias celulósicas hasta la obtención de azúcares reductores en una forma aproximadamente cuantitativa.

El método comprende el tratamiento de la materia celulósica con ácido sulfúrico de 72 por ciento durante 45 minutos a una temperatura de 80° C, seguido por una hidrólisis secundaria durante una hora a 15 libras de presión en una autoclave o durante 4 horas y media a temperatura de ebullición.

Los resultados obtenidos demuestran que el rendimiento en azúcares reductores varía según las condiciones en que se hacen las determinaciones.

I N T R O D U C C I O N

En el trabajo experimental de la hidrólisis de la madera se desea determinar el porcentaje de azúcares totales y de azúcares potencialmente fermentables contenidos en una muestra de madera o en un residuo de la madera hidrolizada. De acuerdo a las técnicas existentes, esto se puede hacer por medio de la determinación de la celulosa y de pentosanos, pero ambas son comparativamente operaciones largas y lentas.

La sacarificación cuantitativa de la madera fué investigada por la U.S. Forest Products Laboratory, en colaboración con la Office of Production Research and Development of the War Production Board, en un esfuerzo de lograr una rápida y conveniente técnica para determinar azúcares potencialmente reductores, como azúcares, más bien que indirectamente como celulosa, o bien por diferencia después de la determinación de la lignina. Un cierto número de trabajos se ha realizado en este campo usando métodos esencialmente similares al de Klason o Vilstätter para la determinación de la lignina (4), excepto

que los hidrolizados fueron analizados para azúcares reductores. Kiesel y Semiganovsky describen un método (5) para la sacarificación cuantitativa usando ácido sulfúrico de 80 por ciento. Ritter hace un estudio de los factores que afectan la conversión a azúcar de la celulosa aislada de la madera (6). Los investigadores recientes señalan que grandes cantidades de azúcar se pueden obtener de materias celulósicas.

DESCRIPCION DE LOS EXPERIMENTOS - CONDICIONES PARA LA HIDROLISIS CON ACIDO SULFURICO CONCENTRADO.

En el presente trabajo sobre la sacarificación cuantitativa de la madera se partió de la base de la determinación de la lignina mediante ácido sulfúrico. Este método, de acuerdo con un procedimiento ampliamente aceptado, consiste en mezclar ácido sulfúrico de 72 por ciento con la materia celulósica a 20°C durante dos horas, diluyendo a 5 por ciento e hidrolizando a temperatura de ebullición durante cuatro horas. El principal criterio para una correcta determinación de la lignina es que la lignina debe ser obtenida en cantidad mínima. Las condiciones deben ser suficientemente severas para remover todos los carbohidratos, pero no tan severas como para causar su recondensación en materias insolubles. Los investigadores en el campo de la química de la lignina parecen estar de acuerdo que el ácido sulfúrico con la concentración de 72 por ciento es la más satisfactoria para el análisis de la lignina desde el punto de vista de la rapidez y exactitud. Por esta razón, esa concentración de ácido sulfúrico se usó para los trabajos de sacarificación.

Para reducir el tiempo requerido para el análisis, es deseable mantener la temperatura del ácido sulfúrico de 72 por ciento tan elevada como sea posible, sin causar excesiva descomposición de la materia celulósica. Ritter y otros muestran que la cantidad de lignina a partir de la madera

tratada con ácido sulfúrico de 72 por ciento, daba un valor aproximadamente constante y pequeño cuando la temperatura se variaba de 15°C a 30°C. (7) Estos mismos investigadores señalan que con tratamiento de dos horas de ácido sulfúrico de 72 por ciento se obtenía una máxima conversión de celulosa a azúcares reductores a 35°C.

Por estas razones se consideraba conveniente empezar las experiencias sobre la sacarificación de la celulosa usando una temperatura de 30°C.

CONDICIONES PARA LA HIDROLISIS SECUNDARIA

De acuerdo con los diferentes métodos de análisis de la lignina con ácidos fuertes, una hidrólisis secundaria es llevada a cabo a la temperatura de ebullición después de haber diluido el ácido fuerte con agua. Llevando a cabo esta hidrólisis secundaria a 15 libras de presión de vapor, el tiempo necesario para completar la hidrólisis es reducido.

Antes de realizar esta modificación, por supuesto, se preparó una solución de glucosa, en una solución de ácido sulfúrico de 4 por ciento, de una concentración similar a la del azúcar presente durante la hidrólisis secundaria.

La descomposición de esta solución fue determinada después de un calentamiento durante diferentes períodos de tiempo a 100°C y a 121°C en una autoclave. Después del calentamiento las muestras se agitaron con exceso de hidróxido de calcio y después de filtrar se dosaron los azúcares mediante el micrométodo H.R.Stiles, W.H.Petersen y E.B.Fred.

La concentración de azúcar en la muestra inicial y final se indican en la tabla 1.

La tabla 1 indica que la descomposición de azúcar en soluciones mantenidas a 100°C durante tres horas era comparable a las que se tuvieron a

121°C durante una hora. Aunque era difícil determinar las pequeñas variaciones en la concentración del azúcar, los valores dados en la tabla 1 señalan que aparentemente no hay ninguna desventaja en llevar a cabo la hidrólisis secundaria en autoclave.

FORMACION DE AZUCARES REDUCTORES A PARTIR DE LA MADERA

Se llevaron a cabo varias experiencias en las cuales cinco mililitros de ácido sulfúrico de 72 por ciento, se hicieron reaccionar durante varios períodos de tiempo con una muestra de 0,5 gramos de sauce flamo. Este árbol junto con el sauce, sauce llorón, flamo y el flamo mussolini constituyen la riqueza forestal de las islas del Delta del Paraná del país.

Las muestras fueron diluidas con diferentes cantidades de agua y colocadas en autoclaves a 15 libras de presión de vapor durante períodos de 15, 30 y 60 minutos.

Se dosaron los azúcares después de neutralizar con hidróxido de calcio. Los resultados se indican en la tabla 2.

De los valores obtenidos en la tabla 2 se desprende que existe una gran posibilidad para elegir las condiciones para la sacarificación cuantitativa de la madera. Grandes cantidades de azúcares reductores se obtienen con los siguientes tratamientos:

- (1) 40 minutos de hidrólisis primaria y 60 minutos de hidrólisis secundaria con 4 por ciento de ácido sulfúrico.
- (2) 85 minutos de hidrólisis primaria y 60 minutos de hidrólisis secundaria con 4 por ciento de ácido sulfúrico.
- (3) 120 minutos de hidrólisis primaria y 60 minutos de hidrólisis secundaria con 2 por ciento de ácido sulfúrico.

De la tabla 3 se desprende que la exactitud para determinar las óptimas condiciones de los métodos analíticos para la determinación de azúcares, es difícil de lograr; la hidrólisis primaria durante 45 minutos y la secundaria durante 60 minutos, parecen ofrecer suficiente amplitud como para asegurar la reproducibilidad de los valores dentro de la limitación del análisis de los azúcares.

Los métodos de sacarificación fueron aplicados a la pulpa alfa y a muestras de glucosa (8), para determinar cuán próximamente el método era cuantitativo y dónde se producía la mayor parte de las pérdidas.

Una muestra de glucosa sometida a una hidrólisis primaria de 45 minutos y a una hidrólisis secundaria de 60 minutos, mostraba un "contenido potencial de azúcar" de 96,9 por ciento. Una muestra similar fué colocada en autoclave con 4 por ciento de ácido sulfúrico pero no fué tratada con ácido sulfúrico 72 por ciento mostrando la presencia 97,5 por ciento de azúcar potencial. Ello indica que la hidrólisis secundaria es más destructiva que la primaria en la que se usa ácido sulfúrico 72 por ciento. Varias muestras de celulosa de la madera y extraída del algodón, señalan la presencia de 105,0 hasta 108,0 por ciento de azúcar potencial; el rendimiento teórico de azúcares reductores a partir de la celulosa pura es de 111,1 por ciento.

Para comparar esta técnica con otra, Jerome F. Saeman (8), determinó el contenido de azúcar potencial presente en dos muestras del Douglas-fir con el método propuesto y el método desarrollado por Kiesel y Semiganovsky en el cual se usó ácido sulfúrico de 80 por ciento para la hidrólisis primaria, y la hidrólisis secundaria fué llevada a cabo a la temperatura de ebullición por un espacio de cinco horas después de una dilución con 15 volúmenes de agua.

Los valores obtenidos fueron los siguientes:

EL METODO DE KISEL Y SEMIGANOVSKY:

Muestra I. 68,5 por ciento

Muestra II. 64,4 por ciento

SAEMAN CON EL METODO PROPUESTO:

Muestra I. 71,4 por ciento

Muestra II. 68,0 por ciento

De estos datos resulta obvio que el método propuesto proporciona rendimiento más alto en azúcares que el método de Kiesel y Semiganovsky. Si bien ni este método, ni cualquier otro da valores realmente cuantitativos de azúcares, es adecuado para el presente propósito.

Si se requiere más exactitud, se puede usar un factor determinado experimentalmente, para corregir la descomposición de los azúcares durante el proceso.

**METODO RECOMENDADO PARA LA SACARIFICACION CUANTITATIVA DE
MATERIAS CELULOSICAS**

El método recomendado para la sacarificación cuantitativa de materias celulósicas, es el siguiente:

- La muestra de aserrín tiene que pasar por una malla 50.
- Después se seca a bajo contenido de humedad y la humedad se determina.
- Una cantidad de material suficiente como para contener aproximadamente 0,55 gramos de celulosa se pasa en un vaso de precipitado de 50 mililitros.
- Se agregan 5 mililitros de ácido sulfúrico de 72 por ciento que previamente

77

- se enfrió a 15°C.

- Se mezcla a continuación cuidadosamente con una varilla de vidrio y se coloca en un baño maría a 30°C. Esta temperatura se mantiene durante 45 minutos y mientras tanto la mezcla se agita a intervalos de cinco o diez minutos.

Usando madera es mejor agregar todo el ácido de 72 por ciento a la vez. Usando algodón o pulpa, es preferible hacer previamente una mezcla homogénea con un mililitro de ácido de 72 por ciento y después agregar los cuatro mililitros restantes. Después de un tiempo total de 45 minutos se pasa la mezcla del vaso de precipitados a un erlenmeyer con 140 mililitros de agua. La solución diluida se coloca en autoclave a 15 libras de presión de vapor durante una hora. Finalizado este período de tiempo, la muestra se enfría, se diluye exactamente a 250 mililitros y se dosan los azúcares reductores mediante el micrométodo de H.R.Stiles, W.H.Petersen y E.B.Fred.

Mientras el uso de autoclave es preferido para la hidrólisis secundaria, el mismo rendimiento en azúcares reductores, se obtiene manteniendo la muestra durante cuatro horas y media a la temperatura de ebullición a presión atmosférica.

Tabla 1.- CONCENTRACION DE AZUCAR EN MUESTRA DE GLUCOSA DESPUES DE CALENTAMIENTO A 100°C y A 121°C EN AUTOCLAVE.

<u>Muestra</u>	<u>Período de calentamiento</u>	<u>Temperatura</u>	<u>Concentración de azúcar.</u>
	<u>Minutos</u>	<u>°C</u>	<u>Miligramos por mililitro.</u>
1	0	121	1,50
2	5	121	1,50
3	10	121	1,48
4	30	121	1,45
5	60	121	1,45
6	4	100	1,50
7	12	100	1,49
8	20	100	1,47
9	60	100	1,46
10	120	100	1,45

**Tabla 2.- AZUCARES REDUCTORES A PARTIR DE MUESTRAS DE SAUCE ALAMO
HIDROLIZADAS BAJO VARIAS CONDICIONES.**

Tiempo de hidrólisis primaria a 30°C.	Tiempo de hidrólisis secundaria a 121°C.	Hidrólisis secundaria con 1% de ácido.	Hidrólisis secundaria con 2% de ácido.	Hidrólisis secundaria con 4% de ácido.
<u>Minutos</u>	<u>Minutos</u>	<u>por ciento</u>	<u>por ciento</u>	<u>por ciento</u>
40	15	22,2	51,4	48,0
	30	29,1	47,9	59,1
	60	49,8	58,2	63,2
85	15	29,1	38,6	49,1
	30	38,2	56,4	59,8
	60	50,5	61,1	62,2
120	15	32,1	41,3	55,2
	30	41,6	52,2	63,8
	60	47,2	64,2	61,3

77

Tabla 3.- AZUCARES REDUCTORES DE MUESTRA DE SAUCE ALAMO SOMETIDA A DIFERENTES PERIODOS DE TIEMPO DE HIDROLISIS PRIMARIA Y SECUNDARIA.

Tiempo de hidrólisis primaria a 30°C con 72 % de ácido.	Tiempo de hidrólisis secundaria con cuatro por ciento de ácido.	Azúcares reductores.
<u>Minutos</u>	<u>Minutos</u>	<u>Por ciento</u>
30	30	62,9
30	60	63,0
30	120	61,2
45	30	61,8
45	60	63,5
45	120	62,0
60	30	63,4
60	60	63,5
60	120	61,2

**DOSAJES. AZUCARES REDUCTORES. AZUCARES FERMENTESCIBLES.
ALCOHOL.**

INTRODUCCION

El trabajo experimental de la sacarificación de la madera, requiere métodos para análisis de azúcares reductores, azúcares fermentecibles y alcohol que estén relacionados, sean rápidos y que permitan determinaciones en gran cantidad.

Se ha usado un micrométodo volumétrico para el dosaje de azúcares reductores debido a Stiles, Petersen y Fred.

Saeman y Harris recomiendan un método de titulación electrométrica cuando se desean realizar muchas determinaciones en un tiempo lo más corto posible (9).

Los azúcares fermentecibles se determinan por la cantidad de azúcar sorbido por las levaduras en una solución de 1,5 miligramos por mililitro mediante una suspensión de levaduras de cinco por ciento.

La concentración de alcohol se determina con la balanza de Mohr Westphal. Se ha encontrado que el error debido a la tensión superficial sobre el alambre que soporta el buzo, puede ser eliminado agregando una pequeña cantidad de un agente mojante.

DOSAJE DE AZUCARES REDUCTORES POR EL METODO DE H.R. STILES- W.H. PETERSEN Y E.B. FRED.

Se ha encontrado que este método da buenos resultados para fluidos biológicos y productos de fermentación.

- REACTIVOS:

a) Microreactivo cúprico combinado.

Sulfato de cobre ($SO_4Cu, 5H_2O$)	5	gr/litro
Acido tartárico	7,5	gr/ "
Carbonato de sodio anhidro	40,0	" "
Yoduro de potasio	10,0	" "
Yodato de potasio	0,7	" "
Oxalato de potasio ($C_2O_4K_2H_2O$)	18,4	" "

El carbonato de sodio se disuelve en 400 cc de agua caliente, el sulfato de cobre y ácido tartárico se disuelven en 150 cc de agua y se mezcla esta solución con la anterior.

El yoduro, yodato y oxalato de potasio se disuelven en 250 cc de agua caliente, se mezcla esta solución con la solución alcalina de cobre y se lleva a 1 litro.

b) Solución N de ácido sulfúrico.

27 cc de ácido sulfúrico concentrado, se llevan a 1 litro con agua destilada y se ajusta luego a N.

c) Solución de tiosulfato de sodio N/10.

25 gramos de tiosulfato de sodio puro y un gramo de hidróxido de sodio se disuelven en agua y llevan a un litro, obteniéndose una solución de título mayor que N/10. Para llevarla al título exacto debe previamente valorarse con solución standard de bicromato de potasio N/10; esta solución se prepara secando bicromato de potasio p.a. a 110°C, pesando luego 4,9033 gramos que se disuelven en agua destilada y se lleva a un litro.

La valoración se efectúa colocando 25 cc de la solución de bicromato en un erlenmeyer de un litro agregando tres gramos de yoduro de potasio 10 cc de ácido clorhídrico concentrado diluyendo a 500-600 cc con agua destilada y agregando solución de hiposulfito hasta que el color azul debido a la reacción entre el yodo y la solución indicadora de almidón, que se agrega al final de la titulación, vire al verde claro.

Determinado el título de la solución, por la valoración con la solu-

ción de bicromato, se lleva a N/10 por dilución con agua. Para preparar la solución N/200, o sea 0,005 N empleada en el micro método, se diluyen 25 cc de la solución N/10 a 500 cc en matraz aforado. Esta solución conserva su título pocos días.

DETERMINACION

Se coloca cinco mililitros del microreactivo en tubo de ensayo Pirex de 50 cc de capacidad, agregan de 1 a 5 mililitros de la muestra (depende de la cantidad de azúcar presente). Si se agregan menos de 5 mililitros de la muestra debe completarse el volumen a 10 mililitros con agua. Al mismo tiempo se prepara un testigo con cinco mililitros del reactivo y cinco mililitros de agua.

Tapar ambos tubos con tapones sueltos, para evitar la oxidación del cobre reducido, por el aire. Se calientan durante 15 minutos en baño de agua hirviendo. Se enfría con agua, agrega cinco mililitros de la solución de ácido sulfúrico N, agita bien y se deja en reposo unos minutos. Se titula con solución de tiosulfato 0,005 N, empleando almidón como indicador. La solución de almidón debe agregarse cuando la solución vira a color paja claro que es cuando quedan aún trazas de yodo.

La cantidad de glucosa presente en la muestra, se establece hallando la diferencia entre los mililitros de solución de hiposulfito empleados en la valoración del ensayo en blanco y los empleados en la titulación de la muestra y estableciendo mediante las tablas confeccionadas por los autores del método a qué cantidad de glucosa corresponden.

TABLA PARA AZUCARES CORRESPONDIENTE A LA DIFERENCIA ENTRE EL TESTIGO Y LA MUESTRA

0,006 N		0,005 N		0,005 N		0,005 N	
Tiosulfato,	Azúcar	Tiosulfato,	Azúcar	Tiosulfato,	Azúcar	Tiosulfato,	Azúcar
cc.	mgm.	cc.	mgm.	cc.	mgm.	cc.	mgm.
0,3	0,067	4,1	0,622	8,1	1,159	12,1	1,649
0,4	0,086	4,2	0,634	8,2	1,175	12,2	1,662
0,5	0,105	4,3	0,647	8,3	1,186	12,3	1,674
0,6	0,125	4,4	0,660	8,4	1,198	12,4	1,687
0,7	0,142	4,5	0,672	8,5	1,211	12,5	1,700
0,8	0,157	4,6	0,685	8,6	1,244	12,6	1,715
0,9	0,173	4,7	0,698	8,7	1,257	12,7	1,728
1,0	0,191	4,8	0,715	8,8	1,249	12,8	1,742
		4,9	0,729	8,9	1,262	12,9	1,756
		5,0	0,745	9,0	1,275	13,0	1,770
1,1	0,210	5,1	0,759	9,1	1,288	13,1	1,785
1,2	0,229	5,2	0,772	9,2	1,300	13,2	1,800
1,3	0,247	5,3	0,784	9,3	1,313	13,3	1,813
1,4	0,263	5,4	0,797	9,4	1,326	13,4	1,827
1,5	0,279	5,5	0,810	9,5	1,339	13,5	1,842
1,6	0,294	5,6	0,822	9,6	1,354	13,6	1,856
1,7	0,306	5,7	0,837	9,7	1,368	13,7	1,871
1,8	0,319	5,8	0,852	9,8	1,382	13,8	1,885
1,9	0,332	5,9	0,868	9,9	1,397	13,9	1,899
2,0	0,344	6,0	0,882	10,0	1,411	14,0	1,915
2,1	0,357	6,1	0,892	10,1	1,424	14,1	1,928
2,2	0,370	6,2	0,902	10,2	1,435	14,2	1,942
2,3	0,382	6,3	0,911	10,3	1,446	14,3	1,956
2,4	0,395	6,4	0,926	10,4	1,457	14,4	1,971
2,5	0,408	6,5	0,940	10,5	1,469	14,5	1,984
2,6	0,421	6,6	0,955	10,6	1,480	14,6	1,997
2,7	0,434	6,7	0,969	10,7	1,491	14,7	2,010
2,8	0,446	6,8	0,983	10,8	1,502	14,8	2,022
2,9	0,461	6,9	0,997	10,9	1,513	14,9	2,035
3,0	0,477	7,0	1,010	11,0	1,524	15,0	2,048
3,1	0,493	7,1	1,023	11,1	1,535		
3,2	0,507	7,2	1,036	11,2	1,547		
3,3	0,520	7,3	1,048	11,3	1,558		
3,4	0,532	7,4	1,061	11,4	1,569		
3,5	0,545	7,5	1,074	11,5	1,580		
3,6	0,558	7,6	1,088	11,6	1,591		
3,7	0,571	7,7	1,102	11,7	1,602		
3,8	0,583	7,8	1,116	11,8	1,613		
3,9	0,596	7,9	1,130	11,9	1,624		
4,0	0,609	8,0	1,145	12,0	1,636		

DETERMINACION DEL PODER REDUCTOR DE DIFERENTES AZUCARES RESPECTO DEL REACTIVO

El azúcar de madera es una mezcla que contiene principalmente glucosa mezclada con pequeñas cantidades de xilosa, manosa, galactosa y arabinosa. La cantidad relativa de estos azúcares varía con las especies.

En los trabajos de hidrólisis, todos los azúcares de madera se expresan en términos de d-glucosa, sin tener en cuenta diferencias en el poder reductor respecto del reactivo. Glucosa tiene el más elevado poder reductor de los azúcares investigados a pesar de que las pantosas tienen un porcentaje mayor de grupos reductores. En el trabajo de Harris, Saeman y Kline, se encontraron los siguientes valores (9):

Azúcar	cantidad de muestra uti- lisada.	Poder reductor.
d-glucosa	1,000 gramo	1,000
d-xilosa	1,000 "	0,928
d-arabinosa	1,000 "	0,760
d-manosa	1,000 "	0,927
d-galactosa	1,000 "	0,815

DETERMINACION DE AZUCARES FERMENTECIBLES MEDIANTE SORPCION POR LEVADURA

La muestra en la que se quieren investigar azúcares fermentecibles, se diluye aproximadamente hasta 1,5 miligramos de azúcares fermentecibles por mililitro. Se determinan azúcares reductores por el método descrito anteriormente.

Se agrega ácido sulfúrico a la solución diluida de una micro-

bureta aproximadamente en la proporción de 0,1 mililitro por cien mililitros. Veinte mililitros de esa solución se llevan a un tubo de treinta mililitros y se agrega suficiente hidróxido de calcio como para dejar un pequeño exceso sin disolver.

Aproximadamente un gramo de levadura prensada de panadería (*Saccharomyces cerevisiae*) se agrega a continuación; se tapan los tubos y se agitan durante una hora a 30°C. Al cabo de ese tiempo, se centrifugan los tubos y el líquido sobrenadante se retira con una pipeta y se determinan los azúcares remanentes. Si se utiliza levadura sin lavar, el valor obtenido se corrige restando del valor aparente el obtenido en una determinación en blanco.

La diferencia en el contenido de azúcares antes y después del tratamiento por levaduras, corresponde al azúcar fermentable presente.

Se hizo una comparación de la fermentabilidad del mosto de azúcar de madera utilizando muestras de sauce álamo, por fermentación y absorción de levaduras.

Muestra N°	Fermentabilidad por fermentación	Fermentabilidad por absorción.
	<u>Por Ciento</u>	<u>Por Ciento</u>
1	73,2	75,6
2	71,2	74,8
3	72,2	75,0

DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DEL ALCOHOL EN LOS DESTILADOS DEL MOSTO DE AZUCAR DE MADERA FERMENTADO

Al desarrollar un procedimiento para el análisis de soluciones diluidas de alcohol, es importante saber cual es el porcentaje mínimo del mosto que hay que destilar para remover cuantitativamente el alcohol,

Mediante las ecuaciones de Virtanen y Pulkki, se demuestra (10) que destilando el 45 por ciento del volumen inicial del mosto, se logra remover el 99,9 por ciento del alcohol.

Numerosas técnicas son adecuadas para la determinación del alcohol en soluciones diluidas. La determinación del peso específico, del índice de refracción, la cantidad de dicromato requerida para oxidar el alcohol a ácido acético se han utilizado satisfactoriamente.

En los trabajos de azúcar de madera, el uso del índice de refracción se abandonó debido a la interferencia del furfural. La diferencia entre el índice de refracción del furfural y el agua es ocho veces más grande que la diferencia entre el índice de refracción del alcohol y el agua. El error debido a sustancias extrañas en la determinación del índice de refracción, es muy elevado.

El método de oxidación con el dicromato para la determinación del etanol, es útil para cantidades pequeñas y concentraciones bajas, pero este método requiere más tiempo que el de peso específico.

En el presente trabajo se determinó la concentración del alcohol utilizando las normas oficiales del ministerio de hacienda que rigen para la determinación de la concentración del alcohol en los destilados del vino.

Se procedió en la siguiente forma: 100 mililitros del mosto de madera fermentado, medidos a temperatura ambiente, se destilaron hasta recoger aproximadamente unos 50 mililitros, y se completaron hasta el volumen primitivo, con agua destilada en iguales condiciones de temperatura. Se llevó el líquido destilado a 15°C y se tomó su densidad por medio de la balanza Mohr-Westphal; dicha densidad da, aplicando las tablas que figuran en las normas, la proporción centesimal en volumen de alcohol que existe en el mosto fermentado.

15

EL PESO ESPECIFICO DE LAS MEZCLAS DE ALCOHOL Y AGUA A ° C

15

<u>grado</u>	<u>densidad</u>	<u>grado</u>	<u>densidad</u>
0,0	1,00000	5,0	0,99277
0,1	0,99984	5,1	0,99263
0,2	0,99968	5,2	0,99250
0,3	0,99952	5,3	0,99237
0,4	0,99937	5,4	0,99224
0,5	0,99921	5,5	0,99210
0,6	0,99905	5,6	0,99197
0,7	0,99890	5,7	0,99184
0,8	0,99874	5,8	0,99171
0,9	0,99859	5,9	0,99158
1,0	0,99844	6,0	0,99145
1,1	0,99829	6,1	0,99132
1,2	0,99814	6,2	0,99119
1,3	0,99799	6,3	0,99106
1,4	0,99784	6,4	0,99093
1,5	0,99769	6,5	0,99080
1,6	0,99754	6,6	0,99067
1,7	0,99739	6,7	0,99054
1,8	0,99724	6,8	0,99041
1,9	0,99709	6,9	0,99029
2,0	0,99695	7,0	0,99016
2,1	0,99680	7,1	0,99003
2,2	0,99665	7,2	0,98990
2,3	0,99651	7,3	0,98978
2,4	0,99636	7,4	0,98965
2,5	0,99622	7,5	0,98952
2,6	0,99608	7,6	0,98940
2,7	0,99594	7,7	0,98928
2,8	0,99580	7,8	0,98915
2,9	0,99566	7,9	0,98903
3,0	0,99552	8,0	0,98891
3,1	0,99538	8,1	0,98879
3,2	0,99524	8,2	0,98867
3,3	0,99510	8,3	0,98854
3,4	0,99496	8,4	0,98842
3,5	0,99482	8,5	0,98830
3,6	0,99468	8,6	0,98818
3,7	0,99454	8,7	0,98808
3,8	0,99440	8,8	0,98794
3,9	0,99426	8,9	0,98782

<u>grado</u>	<u>densidad</u>	<u>grado</u>	<u>densidad</u>
4,0	0,99413	9,0	0,98770
4,1	0,99399	9,1	0,98758
4,2	0,99385	9,2	0,98746
4,3	0,99371	9,3	0,98734
4,4	0,99356	9,4	0,98722
4,5	0,99344	9,5	0,98711
4,6	0,99330	9,6	0,98699
4,7	0,99317	9,7	0,98687
4,8	0,99303	9,8	0,98675
4,9	0,99290	9,9	0,98664

El grado expresa el porcentaje de alcohol etílico en volumen.

FERMENTACION DEL MOSTO DE AZUCAR DE MADERA OBTENIDO

RESUMEN

La fermentación del mosto de azúcar neutralizado es dificultosa excepto bajo condiciones especiales. La presencia de productos de descomposición y la falta de factores de crecimiento contribuyen a esa dificultad. La neutralización de los hidrolizados ácidos en presencia de pequeñas cantidades de sustancias reductoras a 138°C, seguida de un período de decantación relativamente grande antes de filtrar, da un mosto que puede ser fermentado anaeróbicamente en 14 a 20 horas con dos por ciento en volumen del destilable.

INTRODUCCION

En la preparación y fermentación de los azúcares de madera en las plantas de Fullerton y Georgetown de los Estados Unidos de Norte América (11), los hidrolizados ácidos fueron aireados y neutralizados a un pH levemente superior al que se usa para fermentaciones comunes. Una fuente nitrogenada y un factor de crecimiento fueron suministrados, y una técnica de alimentación lenta fué utilizada para llenar los fermentadores. Frecuentemente se requerían 96 horas para producir dos por ciento de alcohol en peso.

Patentes sobre el proceso de preparación de azúcares de madera admiten esa dificultad y en los procedimientos de laboratorio se han empleado varios recursos para inducir una fermentación más rápida (12,13). Todas las investigaciones sobre la hidrólisis de madera para la producción de azúcares han sido conducidas con miras de obtener un mosto más fácilmente fermentecible. (14). La fermentación se halla dificultada por el carácter antibiótico de los hidrolizados que deriva de la naturaleza de la materia prima y de las condiciones drásticas de hidrólisis.

Hay cuatro fuentes potenciales de sustancias tóxicas: equipo, descomposición de hidratos de carbono, descomposición de la lignina por el ácido, calor o ambos, descomposición de sustancias extrañas y sustancias extractivas.

Las tres clases de sustancias activas son los terpenos, aldehidos y polihidrocianarómáticos. Generalmente los terpenos son fisiológicamente los más activos contra las levaduras.

Existen tres métodos de pretratamiento de los Hidrolizados de madera para mejorar la fermentación: reducción fitoquímica; uso de sustancias reductoras; la producción de sustancias reductoras; la producción de sustancias reductoras por caramelización o degradación por álcalis.

La velocidad de fermentación depende grandemente de la concentración de levadura activa.

FACTORES QUE AFECTAN LA FERMENTACION.- INFLUENCIA DEL METODO DE NEUTRALIZACION

La neutralización de los hidrolizados ácidos a pH 4,5 ó 5,0 comúnmente usada para la fermentación por levaduras no da resultados satisfactorios, mientras un pH 6,0 ó 6,5 la favorece. Cuando existen sustancias que contrarrestan la acción tóxica, la fermentación generalmente se realiza a pH 5,6 a 6,0.

En la planta de Fullerton los hidrolizados fueron neutralizados a 80°C ó 90°C, mientras en los trabajos corrientes de laboratorios la neutralización se llevó a cabo a 100°C, dando un mosto más fácilmente fermentable que el neutralizado a 25°C. También se notó que los mostos esterilizados a 121°C fermentaron mejor que los no tratados.

Para operaciones industriales se aconseja que los hidrolizados se

neutralicen a elevada temperatura y que se filtre inmediatamente con el objeto de separa todo sulfato de calcio posible. Se ha encontrado que cuando la neutralización se lleva a cabo alrededor a 100°C, la cristalización del sulfato de calcio es rápida y se consigue prácticamente la eliminación del ión sulfato soluble.

MEDIOS PARA CONTRARRESTAR LA TOXICIDAD

Se supone que la acción desfavorable para las levaduras se debe a elevados potenciales de óxido reducción, de los medios. Se encontraron diferencias de potenciales comprendidos entre +250 y +200 milivoltios, cuando el pH del medio se ajustó a 5,0. Durante el curso de la fermentación, va variando el potencial de óxido-reducción del medio.

Una acción favorable se logra agregando Na_2SO_3 , NaHSO_3 , $\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, KHSO_3 , Na_2S , licor de sulfito, productos de degradación alcalina de los azúcares, ácido ascórbico, cisteína e iones reducidos. La cantidad ^{de sustancias} reductoras depende de la temperatura a la que se ha sometido previamente el medio como se indica en la tabla 1. Cuando los hidrolizados neutralizados se someten a una temperatura superior a los 138°C, se nota una disminución notable en la demanda de sustancias reductoras. La acción favorable del calentamiento se debe a la degradación alcalina de los azúcares formándose sustancias reductoras.

NUTRIENTES: El mosto de azúcar de madera es pobre en cuanto a los nutrientes para las levaduras. Excepto inositol y ácido para-amino-benzoico, faltan los demás factores de crecimiento para las levaduras. Se vio la necesidad de agregar una fuente nitrogenada. Unos pocos por ciento de urea sobre el peso del mosto dieron resultados favorables. No se está de acuerdo sobre la necesidad de agregar fosfatos para la fermentación alcohólica; en general se utiliza de 0,005 a 0,01 por ciento de fosfato.

La cebada de malta germinada demostró ser una de las mejores fuentes de ~~factores~~ de los factores de crecimiento cuando se trabaja con pequeña cantidad de inóculo; pero para cantidades de inóculo grandes, tales como dos por ciento en volumen de levadura, se encontró que 0,02 por ciento de malaza de caña da un satisfactorio incremento en la producción de alcohol.

TIPOS DE MICROORGANISMOS: El conocimiento sobre las cepas adecuadas para la fermentación de los mostos de azúcar de madera, es escaso. Si bien la bibliografía alemana recomienda el uso de la *Torula*, un número grande de estas levaduras fueron comparadas con el *Saccharomyces*, encontrándose que las cantidades de alcohol producidas eran comparables, pero que la fermentación era más lenta con la *Torula*, *S. ellipsoideus* que con el *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis* y *Saccharomyces anomensis*. No se encontraron levaduras capaces de producir alcohol de pentosas en una fermentación an^aeróbica. *Fusarium lini* se encontró capaz de producir alcohol tanto de hexosas como de pentosas, pero la fermentación era muy lenta. Una cepa de *Fusarium lini* formó 1,6 por ciento de alcohol en siete días con 45 por ciento de conversión, lo cual indica que existe una buena posibilidad para investigación futura.

Estudios en la Universidad de Wisconsin (U.S.A.), sobre diferentes cepas de levaduras de destilería, indicaron que el *Saccharomyces cerevisiae* n^o 49, daba los mejores resultados. Subcultivando levaduras de 30 a 50 veces en azúcar de madera, no produjo ningún efecto favorable de aclimatación, al contrario los cultivos se debilitaron progresivamente en cuanto al poder fermentativo.

Mientras la fermentación de granos y malazas da un incremento en el número de células de 10 a 20 veces, en la fermentación de los mostos de azúcar de madera el aumento en el número de células es apenas el doble; la velocidad de fermentación en este último medio es por consiguiente lenta.

Si bien en mostos de granos, 500 a 1000 células por mililitro son suficientes para iniciar la fermentación, mostos de azúcar de madera en los que no se había contrarrestado la toxicidad, requieren cien millones de células para iniciar la fermentación.

Dentro de límites razonables, la velocidad de fermentación depende de la cantidad de levadura utilizada. Con grandes cantidades de levaduras se requiere agitación para mantenerlas en suspensión.

En la Tabla 2. se puede ver el efecto de la cantidad de inóculo en la producción de alcohol. Se utilizaron 250 mililitros del medio formado por 5,24 gramos de azúcar de madera de sauce álamo, tratados a 121°C en autoclave durante media hora, con 0,015 gramos de urea y 0,006 gramos de NaH_2PO_4 por cien mililitros, con una duración de fermentación de 24 horas. Se puede notar una baja conversión. Usando un litro de mosto y agitación más frecuente, la conversión es mejor.

UN METODO DE FERMENTAR AZUCAR DE MADERA

Un método para fermentar azúcares de madera que dió buenos resultados es el siguiente: neutralizar el hidrolizado ácido con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ hasta un pH 5,0 aproximadamente a temperatura ambiente; filtrar y agregar el equivalente de 0,03 por ciento en peso de SO_2 en la forma de Na_2SO_3 , $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, u otras sales similares; calentar la mezcla en autoclave durante 15 minutos a 135°C; sacar y enfriar el mosto a fermentar a una temperatura de 30°C; ajustar el pH a 5,8 con NaOH y agregar 0,02 por ciento de urea y 0,006 por ciento de NaH_2PO_4 en peso, inocular con 2,0 por ciento de levadura fresca y agitar. En esta forma se puede obtener una fermentación completa en menos de 20 horas cuando la concentración de azúcares como glucosa es inicialmente de 5,0 a 7,0 gramos por ciento.

- CONCLUSIONES:**
- 1.- El pH favorable para la fermentación de azúcares de madera por medio de levaduras es de 5,6 a 5,8.
 - 2.- La mejor forma de contrarrestar la acción tóxica de los hidrolizados de la madera es agregar sustancias reductoras.
 - 3.- El calentamiento de la solución neutra produce el mismo resultado que el agregado de sustancias reductoras.
 - 4.- La cantidad de CaSO_4 disuelto disminuye por neutralización a 140°C , cristalizando y filtrando. Hay una pequeña pérdida de azúcares con este procedimiento.
 - 5.- El arrastre a vapor elimina componentes tóxicos de los hidrolizados.

Tabla 1. EFECTOS DE SUSTANCIAS REDUCTORAS SOBRE LA CANTIDAD DE AZUCARES FERMENTADOS.

<u>NaHSO₃</u> por ciento	Cantidad de azúcares fermentados, por ciento	
	<u>con esterilización</u>	<u>sin esterilización</u>
0,00	0,0	—
0,03	52,0	—
0,30	69,0	0,0
0,91	—	9,0
1,36	—	12,0
2,28	—	72,0
11,40	—	7,0

Tabla 2. EFECTOS DE LAS CANTIDADES DE INOCULO SOBRE LA PRODUCCION DE ALCOHOL.

<u>levadura</u> <u>S.cerevisiae</u>	<u>volumen</u>	<u>azúcar fermentado</u>	<u>alcohol</u> <u>conc.gr/100 ml.</u>
<u>por ciento</u>	<u>mililitros</u>	<u>por ciento</u>	<u>por ciento</u>
1,6	250	69	1,24
2,5	1000	72	1,48
3,1	250	73	1,50
5,0	1000	72	1,60

PROCESO SCHOLLER-TORNESCH.- CON ACIDO SULFURICO DILUIDO Y A ALTAS TEMPERATURAS.

En contraste con el proceso Bergius (ácido alcohólico de 40%) el Scholler emplea ácido diluido, a temperaturas elevadas y vapor a presión, no requiere secar la madera, ni recuperar el ácido. Además da directamente azúcar fermentescible.

Quando se hidroliza ^{la celulosa y} la glucosa resultante se deja en contacto con ácido a altas temperaturas y presiones ~~en alta~~, es parcialmente descompuesta. Las plantas viejas usaban digestores en carga con vapor a considerable presión, así que la glucosa primariamente formada, se dejaba en contacto con la solución ácida algún tiempo.

Scholler ha mejorado la producción por substitución del cocido en carga por la percolación a presión, de modo que el azúcar es rápidamente separado y enfriado antes de que pueda descomponerse. La planta comercial puesta en operación en 1930 en Tornesch (Holstein), se ilustra en el esquema.

Los percoladores son tres, de forma cilíndrica de 14 metros de alto y 2,4 metros de diámetro y 50 metros cúbicos de capacidad de material, recubiertos de ladrillos a prueba de ácidos. Se cargan por la parte superior con madera demanzada. El ácido que sirve para la percolación, ácido sulfúrico al 0,2 a 0,4% se obtiene en un aparato de mezcla donde se agrega ácido sulfúrico de 40%, al agua caliente obtenida del intercambiador a 150°C luego calentada a 180°- 190°C por medio de vapor. Esta mezcla se inyecta por cañerías de distribución en la parte superior y fluye a través de los percoladores a una presión de 8 a 10 atmósferas.

Después que la mezcla hidrolizante ha pasado, ya en serie o en paralelo a través de los percoladores y ha absorbido el azúcar formado, entra

al filtro en forma de mosto azucarado y pasa luego al neutralizador. Este neutralizador está relleno con fosfato granulado ordinario y cal cruda; ésta neutraliza al mosto durante su pasaje. El mosto neutralizado entra ahora al calentador en contra corriente calentando el agua fresca que se emplea para mezclar con el ácido sulfúrico. Se pasa este mosto frío al recipiente de mosto. La disolución de azúcar al 4% se hace fermentar. Se descarga la lignina de los percoladores desde abajo. Se obtiene ésta no descompuesta y se saca mediante inyección de vapor. La lignina con 50% de humedad se usa como combustible para las calderas. La combustión de la lignina proporciona la mayor parte de la energía requerida.

No se ha tratado de preparar glucosa por este proceso, porque la solución es muy diluida. Todo el azúcar se fermenta y transforma en alcohol.

Como se ve en este proceso, lo importante es el rápido pasaje del agua acidulada bajo presión a través de la madera. Se controla la elaboración regulando la temperatura, la concentración del ácido, el tiempo de reacción y la relación de flujo.

A partir de 100 kg. de madera blanda (coníferas, sauce álamo) seca resultan 40 kg de azúcar fermentable (teóricamente 66) y 24 litros de alcohol al 100%, 20 kg. CO_2 y 60 kg. de lignina al 50% de humedad.

CALCULO DE COSTO.

Incidencia de la materia prima sobre costo de producción del alcohol obtenido a partir del maíz, melaza y materias celulósicas.

<u>Materia prima</u>	<u>Cantidad necesaria p/obtener 1 litro de alcohol de 95°</u>	<u>Costo de la materia prima p/ litro de alcohol de 95°</u>
Maíz	2,5 kg	mfn \$,75
melaza	3 "	" 0,18-0,42(1)
Materias celulósicas (deshechos)	4 "	" 0,16

(1) El valor está dado para la melaza en Tucumán y transportada a Buenos Aires.

Rendimiento en alcohol teórico para 100 kgs.

<u>Hidrato de carbono</u>	<u>Alcohol en peso</u>	<u>Alcohol en volumen</u>
glucosa	51,11	64,38
disacáridos	53,80	67,77
almidón, celulosa	56,79	71,53

<u>Materias primas</u>	<u>% de almidón o celulosa</u>	<u>rendimiento teórico en alcohol</u>	<u>rendimiento práctico</u>
maíz	54-65	38,6-46,5	37
papa	16	11,4	10
trigo	65	46,4	35
madera(celulosa)	55-60	39-42	24

Madera(deshechos)	1 tonelada	m\$u	40,-
ácido sulfúrico	60 kgs	"	60,-
cal	45 kgs	"	15,-
agua	15 m ³	"	3,-
levadura		"	<u>15,-</u>
y nutrientes		m\$u	133,-

El costo de 1 litro de alcohol teniendo en cuenta únicamente la materia prima y los productos químicos, resulta 0,63 \$.

El costo de las Plantas de Hidrólisis de la madera, no se ha publicado por las autoridades alemanas. En un artículo del Journal of Forestry Ottawa, Mayo 1938, se estima el costo de la planta Scheller destinada para 100.000 metros cúbicos de madera por año, en 3,5 millones de marcos.

Rapport

G. J. E.

13 de Diciembre de 1951

- (1) Gini Lacorte C., Química Industrial.
- (2) Valverde J.C., Tesis 512
- (3) Sahovaler I., Tesis 574.
- (4) Wise L., Wood Chemistry.
- (5) Doré Ch., Les methodes de la chimie de la cellulose.
- (6) Ritter, G.J., Michel, R.L., Seborg, R.M., J. Chem. Am. Soc. 55, 2989-91 (1933).
- (7) Ritter G.J. Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 4, 202-4 (1932).
- (8) Saeman J.F., Bube J.L., Harris E., Forest Products Laboratory
Wisconsin, no. R 1458 (1944).
- (9) Saeman, Harris, Kline, Forest Products Laboratory,
Wisconsin, no. R. 1459 (1944).
- (10) Virtanen A.I., Pulki L.J., Am. Chem. Soc. 50, (5138) (1928)
- (11) Kressman, University of Wisconsin, Bulletin N° 983 (1922)
- (12) Luers H., Spiritusind 60, 7 (1937)
- (13) Peterson W.H., Ind. Eng. Chem. (1944)
- (14) Plow R.H., Saeman H.F., Turner H.D., Ind. Eng. Chem. (1944)
- (15) Reid H. Leonard, Hajny G.J., Forest Products Laboratory
Wisconsin, no R 1466 (1944).
- (16) Ipatieff V.N., Pines H.J., J. Am. Chem. Soc. 66, 1120 (1944)
- (17) Rahn O.J., Bact. 18, 207 (1929)
- (18) White M.G., J. G. Biochem., 22, 583, (1928).
- (19) George Levy-Hulot, L'analyse immediate des bois.
- (20) Bergius F., Conversion of Wood to Carbohydrates.
Ind. Eng. Chem. (1937)
- (21) Harris E., Ind. Eng. Chem. (1945)
- (22) Joint Intelligence Objectives Agency, Washington D.C.
Final report no. 499.