

Titulo

Incremento del valor agregado del sorgo mediante procesos biológicos industriales Increase of the added value of the sorghum by means of industrial biological processes

Yanet Bofill Rodríguez^{1,*}, Irenia Gallardo Aguilar¹

¹Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Química-Farmacia. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas

Resumen

La presente investigación, como parte del trabajo que desarrolla el GTCE “Obtención de productos de AVA” de la Facultad de Química y Farmacia de la UCLV, aborda el desarrollo del proceso biológico industrial, mediante el empleo de sorgo malteado: la producción de bioetanol. Se realiza el estudio de la obtención de malta de sorgo blanco UDG-110, desarrollado en el CIAP de la UCLV, empleándose la misma en la sacarificación de sorgo para la producción de etanol, obteniéndose resultados adecuados en cuanto al grado alcohólico y productividad del proceso, cercanos a los que se obtienen a partir de la caña de azúcar en fermentación discontinua, pero con bajos rendimientos. La utilización de malta de sorgo para esta producción puede disminuir significativamente la importación de cebada y otras materias primas, así mismo reducir costos de producción.

Palabras clave: Sorgo, malta de sorgo, enzima amilasa, bioetanol.

Abstract.

The present research like part of the work that develops to the GTCE “product obtaining of AVA” of the Faculty of Chemistry and Pharmacy of the UCLV, approaches the development of the industrial biological process, by means of the use of malted sorghum: the bioethanol production. It is carried out the study of the obtaining of malt white sorghum UDG-110, developed in the CIAP of the UCLV, being used the same in the scarification of sorghum, for the ethanol production, obtaining itself results adapted as far as the alcoholic degree and productivity of the process, near which is obtained from the sugar cane in discontinuous fermentation, but with low yields. The use sorghum malt for this production can significantly lower the import of barley and other raw materials, to reduce production costs.

Key words: Sorghum, Sorghum malt, amylase enzyme, bioethanol.

Introducción

Por el auge que está alcanzando el etanol, no solo en los usos tradicionales, sino en las últimas décadas como combustible ecológico, es que existe en el mundo una tendencia a la búsqueda de nuevas materias primas para su producción. Los cereales son sustratos que contienen una gran cantidad de almidón, que se pueden convertir en azúcar, para fermentar y producir alcohol. La malta de cebada se ha empleado tradicionalmente en la obtención de bebidas, como cerveza y en la obtención directamente de etanol, por su actividad diastásica o amilolítica, comparada con la de otros cereales, pero para muchos países como el nuestro es una materia prima de importación. El sorgo es uno de los cereales que ha demostrado su rentabilidad por su bajo costo de producción dadas sus características de rusticidad, resistencia a la sequía y realización de varias cosechas o cortes, además de que está en gran desarrollo como cultivo en nuestro país.

Desarrollo

1. Materiales y Métodos

El sorgo empleado para este estudio es el mismo empleado en trabajos anteriores UDG-110, cultivado en el Centro de Investigaciones Agropecuarias de la UCLV, por ser de los que mejores cosechas y resultados ha tenido en el centro. Es un sorgo blanco con poco contenido de taninos. El desarrollo experimental consta de dos procesos fundamentales: malteado del sorgo para ser empleado como materia prima fundamental y la producción de bioetanol empleando la combinación ácido-enzima (malta y amilasa comercial).

2.1. Malteado del sorgo

El malteado del sorgo se realiza con el propósito de obtener granos que germinen bajo determinadas condiciones ambientales. Es necesario que los granos del cereal que va a ser malteado no hayan germinado antes de la recolección y que ninguno de ellos haya muerto a causa de haberse secado tras una recolección en circunstancias insatisfactorias. Lo que se persigue es que en más del 98 % de los granos se observe la vaina de la raíz, además se requiere un contenido bajo en proteínas, entre el 9 % y el 11,5 %. Este proceso a su vez consta de cuatro etapas fundamentales para llegar a obtener la malta: clasificación del grano, etapa de remojo, etapa de germinación y la etapa de secado.

2.1.1. Clasificación del grano

Se realiza con el objetivo de hacer una selección adecuada del grano. Esto se tamizan para separar impurezas que puedan afectar el proceso en general.

2.1.2. Etapa de remojo

Se realizó una templa donde se pesaron 3 kg de sorgo clasificado. En un recipiente, se añadió agua, primeramente hasta la altura de los granos para que absorbieran todo el líquido hasta alcanzar un volumen pequeño por encima de éstos. El remojo tuvo un tiempo de duración de 48 h donde se observó el brote de la plumilla en la mayoría de los granos (48-60 h para este grano) (Rodríguez, 2005;

Se realizó una templa donde se pesaron 3 kg de sorgo clasificado. En un recipiente, se añadió agua, primeramente hasta la altura de los granos para que absorbieran todo el líquido hasta alcanzar un volumen pequeño por encima de éstos. El remojo tuvo un tiempo de duración de 48 h donde se observó el brote de la plumilla en la mayoría de los granos (48-60 h para este grano) (Rodríguez, 2005; Alemán, 2007), correspondiendo una humedad de 38,7 %, algo inferior a las reportadas por estos autores en su estudio.

2.1.4. Etapa de secado.

Se realizó el secado de la malta clara en una bandeja, con un espesor de malta de 2,2 cm, en una estufa de tiro de aire inducido, primeramente a 60 °C durante 4 con el objetivo de garantizar que no se destruyeran las enzimas y así evitar la vitrificación del grano, luego la temperatura es elevada hasta 100 °C por 60 min, el proceso terminó cuando la malta alcanzó una humedad de 4,70 % (menor del 5 % como se establece para la malta de cebada). Para obtener la malta caramelo se realizó el secado de la segunda bandeja, con espesor de 1 cm, primeramente a 65 °C y por 5 h, luego la temperatura se elevó a 150 °C durante 30 min, el proceso terminó cuando la malta alcanzó una humedad de 3,5 %. Las curvas ajustadas son polinomios de tercer orden que responden a las ecuaciones: $y = 3E-08x^3 - 2E-05x^2 + 0,0008x + 0,5759$. $R^2 = 0,9756$ (M. Clara) y $y = 5E-08x^3 - 2E-05x^2 - 0,0003x + 0,5879$. $R^2 = 0,9962$ (M. Caramelo).

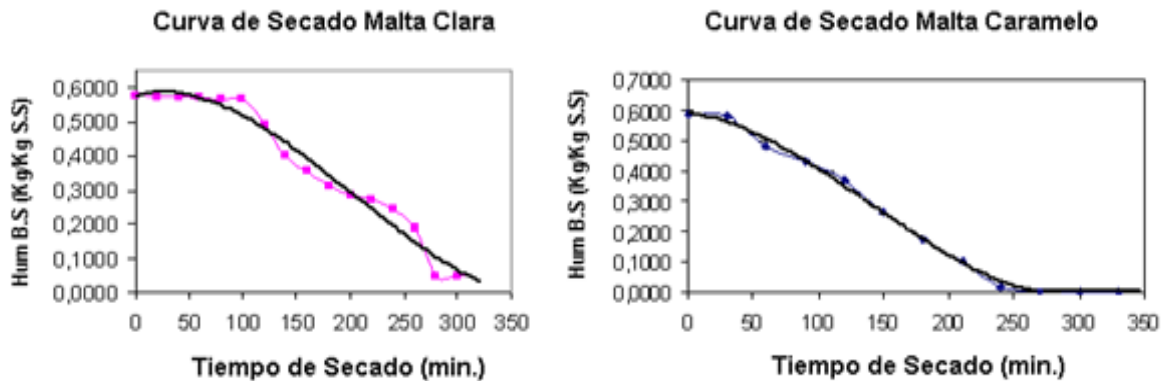


Figura 2. 1 Variación de Humedad-Tiempo en la Etapa de Secado

Figura 1.

La curva real para la malta clara difiere un poco de los resultados obtenidos anteriormente para el malteado de este sorgo (Rodríguez, 2005; Alemán, 2007; Ozuna, 2008), al cambiar la temperatura a las 4 h para poder eliminar la humedad ligada, que es la más difícil, si se observa la curva de esa figura, es como si existieran dos curvas de secado, correspondientes a cada temperatura.

2.2. Producción de etanol empleando la combinación ácido-enzima (malta y amilasa)

Se parte de los resultados obtenidos en trabajos anteriores (Rodríguez, 2005; Alemán, 2007), que concluyeron acerca de las condiciones de hidrólisis y sacarificación para la obtención de alcohol a partir del grano de sorgo, empleando tratamiento ácido solamente y tratamiento combinado ácido-enzima de la malta de sorgo, donde se demostró que la concentración de ácido es la variable de mayor influencia en la sacarificación, aunque hay mejores resultados cuando se combina el tratamiento ácido con la malta. En el anexo 2.6 se muestran los resultados finales obtenidos por Alemán, donde se toma como patrón de comparación el experimento V empleando malta de cebada, tomándose los mismos niveles de las variables del experimento I que fue el de los mejores resultados. Las variables independientes tomadas para los nuevos experimentos fueron ahora la concentración de malta de sorgo (5-20 % peso) y la concentración de la enzima Amilasa (2-5 % peso), dejando fijas la de ácido clorhídrico (0,365 %), la relación sólido/líquido (200 g/L), el tiempo de cocción (180 min) y

el cocinado a presión de 1,4 atm por 30 minutos. Para el desarrollo del trabajo se realizó un diseño experimental del tipo 2². La metodología seguida para el desarrollo de los experimentos consta de las etapas siguientes: tratamiento preliminar, hidrólisis de los almidones, prefermentación y fermentación, filtración y determinación del grado alcohólico.

2.2.1. Tratamiento preliminar: El sorgo es secado previamente para facilitar la trituration que se realiza con el fin de reducir la granulometría. El cereal molido es tamizado en una malla 9 y separadas sus fracciones. Esto se hace con el fin de romper la cáscara del sorgo que es muy dura, ya que para otros cereales se reporta que el tamaño del grano no tiene influencia en la obtención de alcohol. Además se recomienda trabajar con fracciones de grano reducidas hasta las 3/4 partes, ya que inferior a estas tiende a gelatinizar en la etapa siguiente.

2.2.2. Hidrólisis de los almidones: Se calienta el ácido clorhídrico hasta una temperatura de aproximadamente 50 °C y luego se le agrega el sorgo, esta mezcla se agita espaciadamente durante un tiempo de 180 min con el objetivo de solubilizar e hidrolizar parcialmente los almidones. Para seguir la solubilización de los almidones se mide el Brix de la solución cada una hora. Luego las muestras se cuecen en la autoclave durante 30 min a presión de 1,4 atm. Después de terminada la cocción se realiza un enfriamiento hasta la temperatura de 30° C y se le ajusta el pH a un valor comprendido entre 4.5-6 que es el rango donde se desarrollan las levaduras y puede añadirse la enzima. La hidrólisis

La hidrólisis culmina con la adición de la malta de sorgo que se realiza a la temperatura de 37 °C y se agita durante 1 min, seguida de la adición de la enzima amilasa a las mismas condiciones de temperatura y tiempo.

2.2.3. Pre-Fermentación: Se realizó en un tiempo de 15 min, donde se adicionan los nutrientes con suministro de oxígeno a la muestra para desarrollar la levadura y facilitar el proceso siguiente.

2.2.4. Fermentación: En esta etapa, con la acción de las levaduras, los azúcares fermentecibles son transformados en etanol y dióxido de carbono, además de otros productos en menor cuantía.

2.2.5. Filtración o Colado: El fermento se filtra separando el licor claro y residuo sólido. El residuo sólido puede ser utilizado como alimento animal si se somete a un proceso de lavado y secado debido a su pH ácido y así se elimina un residual sólido que contaminaría el medio ambiente (Alemán, 2007). Al fermento o batición se le determina el grado alcohólico de acuerdo a la muestra establecida para ello. Los azúcares reductores fueron determinados en muestras duplicadas de filtrados con el Método de Bernfeld, utilizando el Ácido 3,5-Dinitro salicílico. La concentración del etanol fue determinada mediante el método de gravedad específica por picnómetro y por alcoholímetro.

Tabla 1.

La curva patrón ajustada para la determinación de los Azúcares Reductores Totales.

(ART) responde a la ecuación: $y = 0,8665x - 0,0341$ Con $R^2 = 0,9904$. Donde y es la absorbancia y x la concentración de ART en g/L.

Para la determinación de los ART fue necesario variar el factor de dilución para las distintas muestras, en el rango visible y de acuerdo con el rango de absorbancia-concentración de la curva patrón. Para esta etapa el factor de dilución fue de (1/1000) para todas las muestras. Los valores de pH oscilaron en rango de 5,02-5,08. De los resultados de la sacarificación (Tabla 2) se aprecia que los sólidos totales en solución (Brix) son superiores a los obtenidos en trabajos anteriores al trabajar solo con malta de sorgo como agente de sacarificación y el pretratamiento ácido, pero todos los valores son cercanos. En estos experimentos no fue ajustado el Brix que es la variable que se sigue en el proceso de cocción a los valores usuales con que trabaja la levadura por no ser estos todos azúcares fermentables, ya que puede haber aún almidones sin transformar. Con los valores obtenidos se ajustó una curva de ART en función de los grados Brix anexo 2.9, cuya curva ajustada en software Excel responde al modelo lineal siguiente $y = 16,97x - 203,8$ con $R^2 = 0,9983$. Con el mismo se determinó el valor de Brix correspondiente

1. Resultados y discusión

Los resultados de las etapas de hidrólisis y sacarificación aparecen reportados en la [Tabla 1](#).

Tabla 2.11 Resumen de los Resultados de la Hidrólisis- Sacarificación

<u>Exp</u>	<u>X1</u>	<u>X2</u>	<u>°Brix</u>	<u>Absorb. In.</u>	<u>ART (g/L)</u>
1	5	2	27,0	0,179	206,62
2	5	5	27,5	0,219	252,78
3	20	2	27,4	0,228	263,17
4	20	5	26,9	0,215	248,16

Bibliografía

a un valor de ART de 120 g/L que son con los que normalmente trabaja la levadura *S. Cerevisiae* y reporta un Brix de 19,08, esto corresponde aproximadamente a un tiempo de cocción de dos horas y no de tres como se asumió en los experimentos. Se observa también que la cantidad de azúcares reductores totales es muy elevada, pero no se tenían antecedentes de este parámetro en estudios anteriores, realizados a partir de este sustrato con el empleo de enzimas industriales, ni reportados en la bibliografía, salvo en un estudio para la producción de cerveza (Serna, Urías et al., 2005). Con los resultados obtenidos se procede a su procesamiento en el Software Statgraphics, para obtener el modelo de predicción, que representa la influencia de las variables estudiadas sobre las variables respuesta, ya que no fue posible hacer réplicas a los experimentos. En este caso se analiza (ART) por ser la variable fundamental de esta etapa. El modelo responde a la ecuación: $ART = 242,683 + 12,9825 * Malta + 7,7875 * Amilasa - 15,2925 * Malta * Amilasa$. Con $R^2 = 100 \%$. De acuerdo a los coeficientes de regresión la interacción entre ambas variables es la que tiene mayor influencia en los valores de ART seguido por el por ciento de malta y, por último, la enzima amilasa añadida; fue positivo el efecto de las dos variables mientras que el de las interacciones fue negativo. Como se aprecia un nivel alto de la enzima amilasa reporta mayores valores de ART, aunque como en estos experimentos los valores de ART son tan elevados es mejor trabajar con niveles más bajos de la enzima, incluyendo su interacción con menos malta. Los diagramas que representan este comportamiento se presentan en la figura 2.

Figura2.

Para la etapa de fermentación los resultados aparecen reportados en la tabla 2. El factor de dilución para la determinación de los ART finales osciló ente (1/10) (1/100) y (1/1000). Como puede observarse en la tabla 2. al igual que en la etapa anterior la enzima tiene un efecto importante en los resultados, obteniéndose mejores valores de grado alcohólico que cuando se trabajó con malta sola, por lo que existe una mayor preparación del material para ser asimilado por la levadura. Sin embargo se aprecia en todas las variables respuesta que los mejores resultados se obtienen cuando menor es el contenido de enzima amilasa, correspondiente a los experimentos 1 y 3. Los rendimientos de producto sustrato son aún bajos, lo que parece indicar que existe una inhibición por producto, al igual que los rendimientos en base a materia prima, en esto influye la forma y el tiempo de cocción, al dar volúmenes muy bajos de producto en el rango de 36-41 % referidos al volumen inicial.

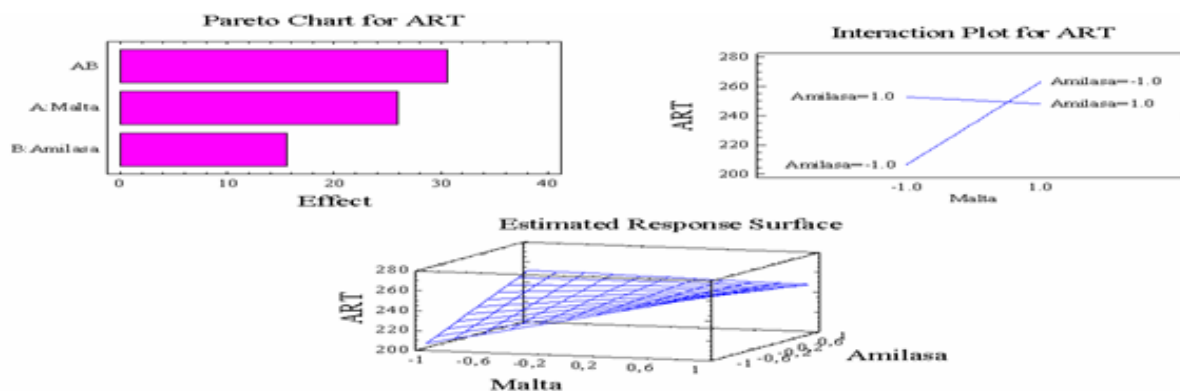


Tabla 2.12 Resumen de los Resultados de la Fermentación

Exp	°Brix _r	Tiempo (h)	pH	ART _i (g/L)	Abs. f	ART _f (g/L)	Consumo ART (%)
1	12,2	64	4,49	206,62	0,190	2,23	98,92
2	15	64	4,55	252,78	0,329	38,01	84,96
3	14	68	4,44	263,17	0,337	38,93	85,21
4	20,5	89	4,68	248,16	0,118	136,22	45,11

Tabla 2.12 (Continuación)

Exp	Vol.Licor (L)	°GL (pign)	Rend. Ferm. Yp/s (%)	Rend Total L a.a/Kg sorgo)	Prod (g/L-h)
1	0,320	8,98	29,15	0,18	1,11
2	0,330	7,99	29,39	0,165	0,78
3	0,310	10,06	30,61	0,195	1,17
4	0,295	4,51	31,83	0,083	0,40

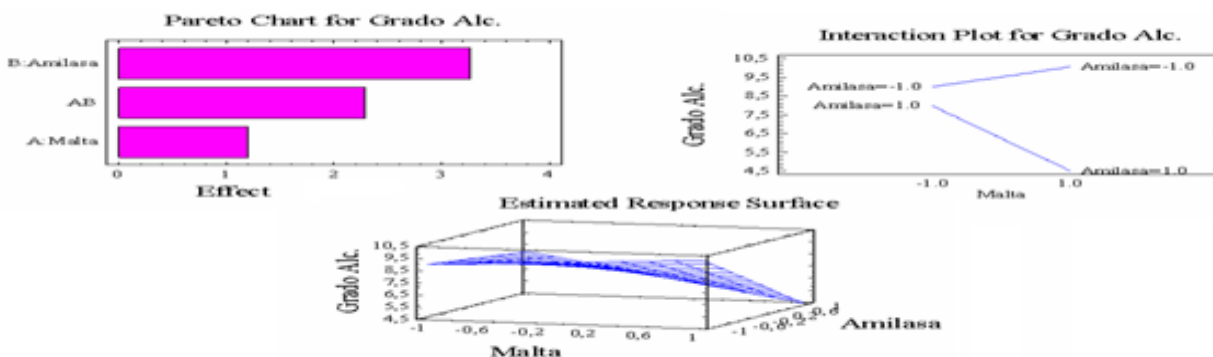


Figura 2.8 Comportamiento estadístico para el grado alcohólico

Figura 3.

Para el grado alcohólico el modelo de predicción responde a la ecuación: **Grado Alc.** = 7,885 - 0,6*Malta - 1,635*Amilasa - 1,14*Malta*Amilasa. Los resultados se aprecian en la figura 3. Para el consumo de ART, rendimiento en sustrato, rendimiento total expresado en litros de alcohol por cantidad de sorgo consumido y productividad. Los modelos son similares existiendo correspondencia en cuanto a la significación de las variables independientes, predominando la cantidad de enzima amilasa añadida en su menor nivel y la interacción entre ambas variables. Estos modelos son: **Consumo ART** = 78,545 - 13,385*Malta - 13,51*Amilasa - 6,54*Malta*Amilasa. **Rend Sust** = 32,8425 + 0,7925*Malta - 2,2325*Amilasa + 0,4275*Malta*Amilasa. **Rend. Total** = 0,155625 - 0,016575*Malta - 0,031625*Amilasa - 0,024225*Malta*Amilasa. **Product.** = 0,9275 - 0,1225*Malta - 0,2125*Amilasa - 0,1525*Malta*Amilasa. Y los diagramas que responden a estos modelos aparecen de las figuras 4-6 En el experimento cuatro, donde las variables independientes están en sus máximos valores, se obtuvieron los resultados más deficientes para todas las variables respuesta, lo que evidencia que esta combinación no es adecuada, en los rangos estudiados en este trabajo.

Figura 4.

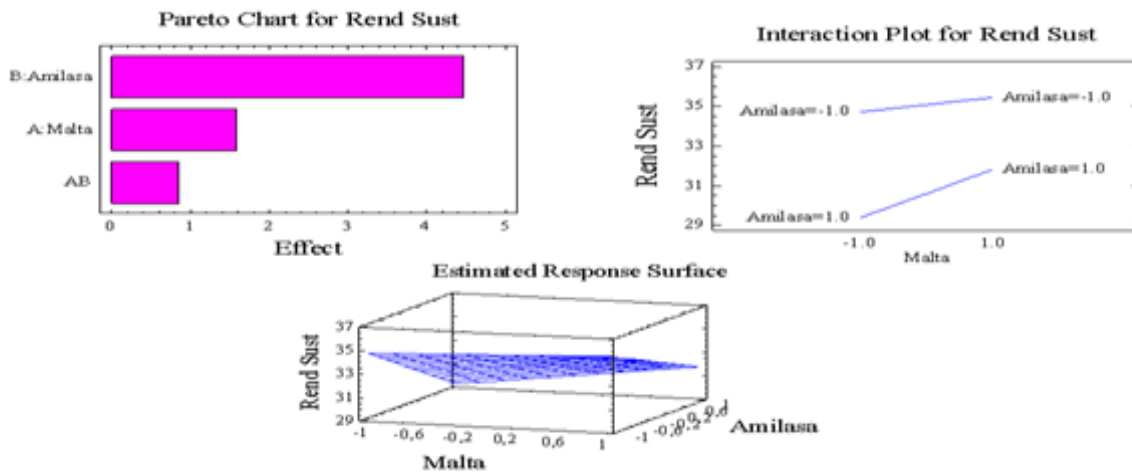


Figura 2.9 Comportamiento estadístico para el rendimiento en sustrato

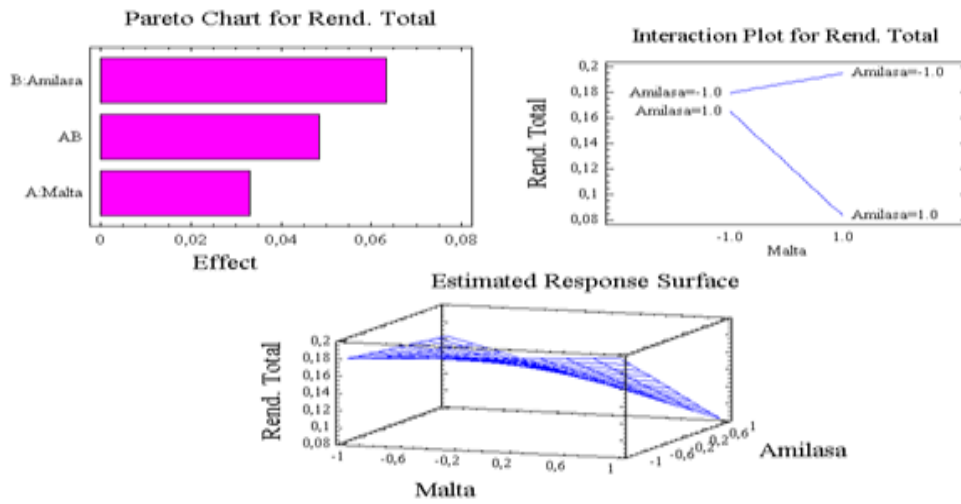


Figura 2.10 Comportamiento estadístico para el rendimiento Total

Figura 5.

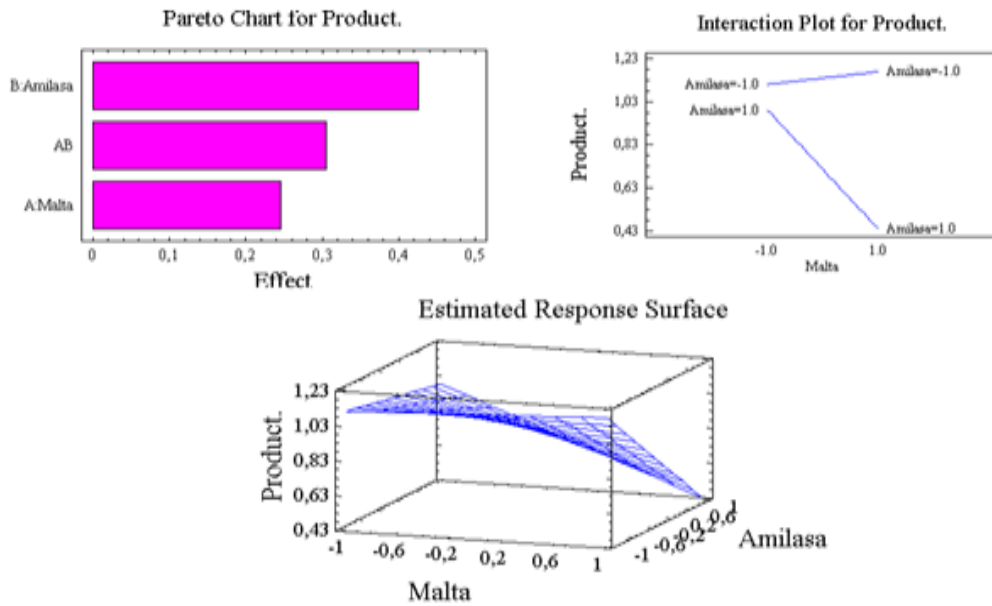


Figura 2.11 Comportamiento estadístico para la productividad

Figura 6.

Conclusiones

1. El sorgo es una materia prima amilácea que tiene múltiples propósitos, por su alto valor nutritivo en la alimentación animal y también en la humana. Su cosecha es ventajosa en cuanto a condiciones económicas y ambientales, además mejora las condiciones de desarrollo de otros cultivos.
2. Los estudios realizados sobre las diferentes etapas de la producción de malta a partir de sorgo, permiten establecer los parámetros y condiciones de operación para su producción, las cuales no aparecen reportadas en la literatura, sino solamente para la malta de cebada.
3. Los resultados a que se arriban con el efecto de la enzima amilasa combinada con la malta de sorgo, en todas las variables respuesta estudiadas para la producción de etanol, permiten acotar los valores en que deben moverse o combinarse estas variables, de la cual no se tenían referencias, al dar valores superiores a los obtenidos en estudios anteriores, empleando la combinación ácido-malta.
4. Se aprecia un efecto significativo al añadir la enzima amilasa, combinada con la malta de sorgo en la obtención del etanol, al obtenerse valores superiores a los obtenidos con el tratamiento con malta de sorgo solamente, en todos los parámetros medidos de calidad, ya que esta aporta las enzimas que le faltan a la malta de sorgo, sin embargo esta variable debe estar en los niveles más bajos estudiados.

Bibliografía

- Alemán, L.: Estudio de la obtención de alcohol etílico a partir de sorgo. *Ingeniería Química*. Santa Clara, Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas; 140 pp., 2007.
- Ozuna, Y.: Obtención de maltina a partir de sorgo malteado para niños celíacos. *Ingeniería Química*. Santa Clara, Universidad Central “Marta Abreu de las Villas”; 109 pp., 2008.
- Rodríguez, L.: Estudio de la obtención de alcohol etílico a partir de sorgo. *Ingeniería Química*. Santa Clara, Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas; 81 pp., 2005.
- Serna, S. O., D. Urías, *et al.*: “Efecto de la adición de amiloglucosidasa en las propiedades de cervezas lager producidas a partir de sorgo.” *Transferencia* 70(18), 2005.

