

Bagazo de sorgo dulce: una alternativa para la producción de etanol de segunda generación en Colombia (Parte I)¹

Sweet sorghum bagasse: an alternative for the production of second generation Ethanol in Colombia (Parte I)¹

Recibido: 27- 01 - 2017 Aceptado: 25-05-2017

John Fredy Holguín Múnera²

Juan David Peña³

Luis Alberto Ríos⁴

Mariana Peñuela Vásquez⁵

¹ Este artículo es producto de una investigación terminada y los resultados fueron tomados de la ejecución del Proyecto: "Evaluación Integral de la producción más eficiente de Bioetanol y Biobutanol a partir de Biomasa Lignocelulósica". El proyecto se inició el 20-01 de 2010 y finalizó 20-01 de 2013 y fue financiado por EPM.

² Colombiano Msc. Universidad de Antioquia UdeA, Calle 70 No. 52-21 Medellín, Colombia. Facultad de Ingeniería Grupo Bioprocesos. e-mail: johnfh23@gmail.com.

³ Colombiano Msc. Empresas Públicas de Medellín E.S.P. Medellín, Colombia. Innovación y Desarrollo.

⁴ Colombiano PhD, Universidad de Antioquia UdeA Medellín, Colombia. Facultad de Ingeniería. e-mail: luis.rios@udea.edu.co.

⁵ Colombiana PhD, Universidad de Antioquia UdeA Medellín, Colombia. Facultad de Ingeniería, Grupo de Bioprocesos. e-mail: mariana.penuela@udea.edu.co.

Resumen

Cada material lignocelulósico es un nuevo terreno por explorar, por tanto, la caracterización físico-química de estos materiales es un paso fundamental para el proceso de biotransformación. Se determinó la composición lignocelulósica del bagazo de sorgo dulce, encontrándose valores cercanos a los valores reportados en la literatura. Se estudiaron las tecnologías de pretratamiento, explosión con vapor, hidrólisis ácida suave, deslignificación alcalina, remojo con NH₃, pretratamiento con amoníaco AFEX, ozonólisis y peróxido alcalino; encontrándose que la deslignificación alcalina con NaOH es la mejor opción para pretratar este sustrato. Se disminuyó el contenido de lignina en un 52% y se obtuvo una productividad a etanol de 0,87 g/L h, lo cual equivale a un rendimiento de 114 L de etanol/Ton bagazo de sorgo dulce seco pretratado.

Palabras clave: Sorgo dulce; lignocelulósico; etanol; deslignificación alcalina.

Abstract

Each lignocellulosic material is a new terrain to be explored, therefore, the physical chemical characterization of these materials is a fundamental step for the biotransformation process. The lignocellulosic composition of sweet sorghum bagasse was determined, values close to values reported in the literature were found. Pretreatment technologies were explored with steam, mild acid hydrolysis, alkaline delignification, NH₃ soaking, AFEX, ozonolysis and alkaline peroxide; Being that the alkaline delignification with NaOH is the best option to pre-treat this substrate. The lignin content was decreased by 52% and ethanol productivity of 0.87 g / Lh was obtained, which equates to a yield of 114 L of ethanol / Ton bagasse of pre-treated dry sweet sorghum.

Keywords: Sweet sorghum; lignocellulosic; ethanol; alkaline delignification.

Introducción

Actualmente la preocupación mundial por la conservación del medio ambiente y la generación de alternativas energéticas distintas a las obtenidas convencionalmente a partir de la explotación del petróleo han llevado a la búsqueda de fuentes de energía renovables; es por esto que la utilización de la biomasa frente a los hidrocarburos, presenta ventajas comparativas que la hacen atractiva para su utilización en procesos de generación de energía térmica, motriz o eléctrica, bien sea en sistemas centralizados, en sistemas de generación de energía distribuida o para zonas no interconectadas (Alvira, Tomás-Pejó, Ballesteros y Negro (2010); Morales, 2007; Rincón, 2009 y Toquero y Bolado, 2014).

Colombia centra su economía en actividades de primer nivel; debido a su relieve y a los diferentes climas que posee, su territorio es apto para generar una gran variedad de productos agrícolas, dentro de los cuales se encuentran los productos de consumo interno y los de exportación (García, 2003). Las principales zonas agrícolas de Colombia se ubican en la región Andina y en las llanuras de la costa Atlántica. Según los datos reportados por el Ministerio de Agricultura, la superficie sembrada en Colombia para el año 2008 fue de 4,7 millones de hectáreas distribuidas así: los cultivos transitorios ocupan el 40% del área cultivada y los cultivos permanentes ocupan el 60% de la superficie (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2010). La producción agrícola del país conlleva a la coproducción de residuos agroindustriales de interés, tales como la cascarilla de arroz, los residuos de cosecha de la caña de azúcar, la pulpa y madera de café, cacao sobrante del proceso de beneficio, residuos de cosecha de maíz y bagazo de sorgo dulce, los cuales podrían emplearse para la generación de energía.

En trabajos anteriores se realizó un proceso de selección de materiales lignocelulósicos basado en criterios como cantidad generada de residuo, ubicación, periodicidad de las cosechas, uso, composición de la matriz sólida y rendimiento teórico a etanol (Kafarov, 2010). Este estudio arrojó el bagazo de sorgo dulce como el residuo agroindustrial con mayor potencial para la producción de etanol de segunda generación.

El sorgo dulce ha sido ampliamente utilizado para la elaboración de bebidas alcohólicas basado en procesos de fermentación de los jugos extraídos del tallo por medio de un sistema de presión similar al empleado en la extracción de jugos de la caña de azúcar. Los jugos extraídos del sorgo contienen un porcentaje de azúcares equivalentes al encontrado en las diversas variedades de caña azucarera (Chuck-Hernández, Pérez-Carrillo, Heredia-Olea, y Serna-Saldívar, 2011 y Morales, 2007). Sin embargo, la cantidad de sacarosa en relación con la glucosa y fructosa es más alta en la caña de azúcar (90 y 6% respectivamente), mientras que en el bagazo de sorgo dulce es (69,21 y 14% respectivamente). La cantidad de azúcar producida con el bagazo de sorgo dulce es de 10 ton de azúcar/hectárea sembrada contra las 19 ton de azúcar/hectárea sembrada para la caña de azúcar (Chuck-Hernández *et al.*, 2011; Reis, Damilano, Menezes, y de Morais, 2016). El bagazo obtenido después del proceso de extracción de jugos es un material fibroso, conformado básicamente por celulosa, hemicelulosa y lignina. Es posible transformar la fracción holocelulósica (celulosa y hemicelulosa) de este bagazo de sorgo dulce, mediante procesos químicos, físicos y/o biológicos, en monosacáridos, para su posterior conversión a etanol. (Tejada *et al.*, 2010). Una de las principales dificultades para la biotransformación de los materiales lignocelulósicos es su variabilidad en cuanto a su composición, lo que exige su caracterización fisicoquímica. El segundo obstáculo es la definición de una tecnología de pretratamiento que permita disgregar la fracción polisacarídica, sin generar concentraciones apreciables de sustancias inhibitorias. La correcta conjugación de estos dos elementos permite obtener la mejor cantidad de etanol posible (Sánchez, 2010). En este trabajo se presenta la caracterización fisicoquímica del bagazo de sorgo dulce, así como la selección y optimización del mejor pretratamiento para este material, a la vez que se evalúan la degradabilidad y fermentabilidad del mismo, a las condiciones de proceso encontradas.

Materiales y métodos

Para el desarrollo de este trabajo se utilizó sorgo dulce *Sorghum bicolor* L. Moench, suministrado por la empresa Clayuca proveniente del Valle del Cauca, Colombia. Este material se secó hasta alcanzar una humedad de aproximadamente 10% y posteriormente su tamaño se redujo hasta obtener partículas de un tamaño entre 10-30 mm según lo reportado en la literatura por Kumar y Wyman, (2009).

Métodos analíticos

Las cantidades de celulosa, hemicelulosa, lignina y cenizas del material crudo y pretratado se determinaron según los protocolos de National Renewable Energy Laboratory NREL/TP-510-42618 (Sluiter *et al.*, 2012), NREL/TP-510-42622 (Sluiter *et al.*, 2008a), respectivamente.

Azúcares Reductores Totales:

La cuantificación de los azúcares provenientes de la celulosa se realizó por el método de ART (Azúcares Reductores Totales) utilizando como reactivo el ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) (Miller, 1959).

Glucosa

Para la determinación de glucosa se usó el método enzimático basado en la enzima glucosa oxidasa, según el kit de la compañía Biosystem S.A.

Selección del pretratamiento

Para seleccionar el pretratamiento más adecuado para el sustrato bagazo de sorgo dulce se tomaron como parámetros de evaluación: cantidad de lignina removida, la degradabilidad y su fermentabilidad. Se evaluaron siete pretratamientos los cuales se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Condiciones experimentales para evaluación preliminar de pretratamientos sobre el bagazo de sorgo dulce.

Pretratamiento	Temperatura (°C)	Presión (kPa)	Tiempo (min)	Relación Sólido/Líquido	Concentración agente de pretratamiento	Referencia
Explosión con vapor	210°C	1900	2 min	N/A	N/A	(Ballesteros <i>et al.</i> , 2008) (Hamelinck, Van Hooijdonk y Faaij, 2005) (Lynd, Weimer, Van Zyl, y Pretorius, 2002)
Hidrólisis ácida diluida	90	Atmosférica	90	1/10	H ₂ SO ₄ 2%	(Hamelinck <i>et al.</i> , 2005) (Lynd <i>et al.</i> , 2002) (Sun y Cheng, 2002)
Alcalina con NaOH	120	200	30	1/15	1 % NaOH	(Hamelinck <i>et al.</i> , 2005) (Saha y Cotta, 2006) (Sun y Cheng, 2002)
Remojo con amoníaco acuoso	60	Atmosférica	360	1/6	15 % NH ₃	(Lynd <i>et al.</i> , 2002)
Explosión con amoníaco (AFEX)	180	1900	5	1/7	NH ₃ 25 % (w/w)	(Lynd <i>et al.</i> , 2002) (Sun y Cheng, 2002) (Hamelinck <i>et al.</i> , 2005)
Ozonólisis	25	Atmosférica	60	1/6	5.4 mg ozono/minuto	(Sun y Cheng, 2002)
Peróxido alcalino	35	Atmosférica	180	5% (w/w)	2% H ₂ O ₂ (v/v), pH 11.5	Sun y Cheng, 2002)

Fuente: Los autores

Inhibidores

Los inhibidores generados en el proceso de deslignificación alcalina se cuantificaron en la fracción líquida obtenida, según el procedimiento descrito en los protocolos NREL/TP-510-42623, se analizaron mediante HPLC utilizando una columna tipo Biorad Aminex HPX-87P (Sluiter *et al.*, 2008b).

Fermentabilidad

Se determinó a través de muestras obtenidas a partir de fermentaciones etanólicas en configuración SSF (sacarificación y fermentación simultánea) empleando la enzima Accellerase 1500 de Genencor con una actividad enzimática de 52,88 FPU/mL y la levadura comercial Ethanol Red (*S. cerevisiae*) a las siguientes condiciones de proceso: temperatura 37 °C, concentración de levadura 2 g/L y agitación 150 rpm y porcentaje biomasa pretratada / líquido 10/90.

Cromatografía gaseosa

Para el análisis de compuestos del tipo esperado en esta forma de fermentación, el análisis cromatográfico es uno de los más comunes; para este existen varias configuraciones dependiendo del tipo de cromatografía que se use: cromatografía líquida (HPLC) y cromatografía gaseosa (GC), y el método de inyección. Para el desarrollo de este proyecto se utilizó la cromatografía gaseosa, para el análisis de compuestos provenientes de una fermentación es necesario usar un método de separación o aislamiento, pues la inyección directa se hace inviable debido a que los componentes presentes en el caldo de fermentación (azúcares, sales) son nocivos para la columna en la que se efectúa la separación.

Para realizar el muestreo se utilizó un dispositivo compuesto por una jeringa y una fibra especial. La parte más importante del dispositivo es la fibra, que consistió en una aguja de metal que protege a un tubo de sílice de diámetro muy pequeño, con un recubrimiento de un polímero líquido, el cual actúa como fase estacionaria. Durante el muestreo la fibra se expuso al espacio libre sobre la muestra o la muestra líquida, permitiendo la absorción cuantitativa de los analitos de acuerdo con su afinidad al recubrimiento de la fibra. Los analitos son luego desorbidos térmicamente en el puerto de inyección del cromatógrafo y son analizados inmediatamente en el equipo.

Precipitación de la lignina

El licor negro, subproducto del pretratamiento, se sometió a un proceso de acidificación hasta pH=2. A estas condiciones se forma un precipitado, el cual fue filtrado y secado, este subproducto se analizó en el detector infrarrojo, con el fin de confirmar que era la lignina retirada del bagazo de sorgo.

Optimización de la deslignificación alcalina

Una vez seleccionado el pretratamiento más adecuado para el bagazo de sorgo dulce, se determinaron las mejores condiciones de este proceso. Para esto se estableció un diseño experimental de superficie de respuesta del tipo central, compuesto con tres puntos centrales, la variable respuesta fue la fermentabilidad (g/L). El diseño tuvo en cuenta cuatro factores: temperatura (80-120) °C, tiempo (1-2) h, relación líquido sólido (15-20) g/mL y concentración de NaOH (1-2) % w/w, la matriz de experimentos se puede ver en la Tabla 2.

Tabla 2. Diseño de experimentos para el estudio de la deslignificación alcalina.

Exp.	T °C	T(h)	% NaOH	L/S
1	100,0	2,0	2,3	17,5
2	80,0	1,0	2,0	15,0
3	100,0	2,0	0,66	17,5
4	66,4	2,0	1,5	17,5
5	120,0	1,0	2,0	20,0
6	120,0	1,0	1,0	20,0
7	80,0	3,0	1,0	20,0
8	100,0	2,0	1,5	17,5
9	80,0	1,0	1,0	15
10	80,0	3,0	2,0	20,0
11	133,6	2,0	1,5	17,5
12	100,0	0,3	1,5	17,5
14	100,0	3,6	1,5	17,5
15	100,0	2,0	1,5	17,5
16	100,0	2,0	1,5	17,5
17	100,0	2,0	1,5	13,3
18	120,0	3,0	1,0	15,0
19	120,0	3,0	2,0	15,0
20	100,0	2,0	1,5	21,7

Fuente: Los autores

Resultados y discusión

Caracterización del material

Tal cual como se mencionó en la metodología para la determinación de los polisacáridos estructurales se utilizó el protocolo (Technical Report NREL/TP-510-42618 (Sluiter *et al.*, 2012). Los resultados obtenidos en la caracterización del bagazo de sorgo dulce se reportan en la Tabla 3, en la que se presenta la composición de celulosa, hemicelulosa y lignina obtenida experimentalmente. De esta tabla se puede decir que la composición del bagazo de sorgo dulce crudo obtenida experimentalmente es similar a valores reportados en la literatura por Barcelos, Maeda, Santa Anna y Pereira (2016); Chuck-Hernández *et al.* (2011) y Fenalce (2002).

Tabla 3. Composición del bagazo de sorgo dulce crudo

Componente	Porcentaje-Experimental (%w/w)	Reportado (%w/w)
Celulosa	29	34-44
Hemicelulosa	22,68	25-27
Lignina	24,68	18-20
Cenizas	1,36	-
Humedad	8,55	-
Extractivos	13,29	-
Otros	4	2

Fuente: (Chuck-Hernández *et al.*, 2011)

Otro aspecto que se debe considerar de la Tabla 3, es la composición de celulosa del bagazo de sorgo dulce; dicha composición convierte este residuo agroindustrial en un sustrato prometedor, que podría utilizarse en la producción de etanol de segunda generación.

Selección del pretratamiento

Se puede observar, en las Tablas 4 y 5, que la degradabilidad y fermentabilidad a etanol son mejores en los pretratamientos alcalinos (deslignificación alcalina, remojo con NH_3 y peróxido alcalino, respectivamente), este comportamiento se da principalmente debido a las reacciones de saponificación y de solvatación que se presentan en el bagazo de sorgo dulce cuando se somete a este tipo de tratamientos; lo que concuerda con lo reportado

en la literatura por Lynd *et al.* (2002), el cual sugiere que para sustratos de tipo residuos agroindustriales los mejores pretratamientos son de tipo alcalino. Con base en los resultados presentados en las Tablas 4 y 5 se escogió la deslignificación alcalina por ser el proceso en el cual se obtuvieron los valores más altos de degradabilidad y fermentabilidad, además sus reactivos son de fácil acceso, económicos y en comparación con la explosión de vapor el de menor gasto energético.

Tabla 4. Degradabilidad del sorgo dulce para diferentes pretratamientos.

Pretratamiento	Degradabilidad (g/L)	tiempo (h)
Ozonólisis	11,42	33
NH_3	13,81	33
NaOH	19,11	34
Ácido diluido	13,40	30
Explosión de vapor	11,37	30
Peróxido Alcalino	15,05	32
AFEX	14,70	43

Fuente: Los autores

Tabla 5. Fermentabilidad a etanol a partir de sorgo dulce para diferentes pretratamientos

Pretratamiento	Fermentabilidad (g/L)	tiempo (h)
Ozonólisis	3,43	6
NH_3	6,82	8
NaOH	8,57	9
Ácido diluida	2,83	7
Explosión de vapor	3,91	8
Peróxido Alcalino	5,65	22,5
AFEX	3,90	8

Fuente: Los autores

Optimización de la deslignificación alcalina

Los resultados obtenidos de degradabilidad y fermentabilidad para cada uno de los pretratamientos se presentan en la Tabla 4, Figura 1. En general, podría decirse que para todas las unidades experimentales se alcanzaron concentraciones mayores a 50 g/L de ART. Las mayores fermentabilidades se obtienen con las unidades experimentales números 5 y 19, donde se emplea una temperatura de 120 °C, tiempo de 1 h, una concentración de NaOH del 2% y una relación (L/S) de 20. Vale la pena resaltar que, para estas unidades experimentales, los

valores de degradabilidad alcanzaron también los mayores valores de ART y glucosa. Se debe resaltar que el tiempo tiene una gran importancia cuando se trabaja a bajas temperaturas, sin embargo, pierde importancia cuando se evalúan altas temperaturas. De hecho, el valor más

bajo de fermentabilidad en (g/L), se obtuvo a las menores condiciones de temperatura y tiempo (80 °C y 1 h). La tabla de ANOVA del análisis estadístico para el estudio de deslignificación alcalina se puede observar en la Tabla 6.

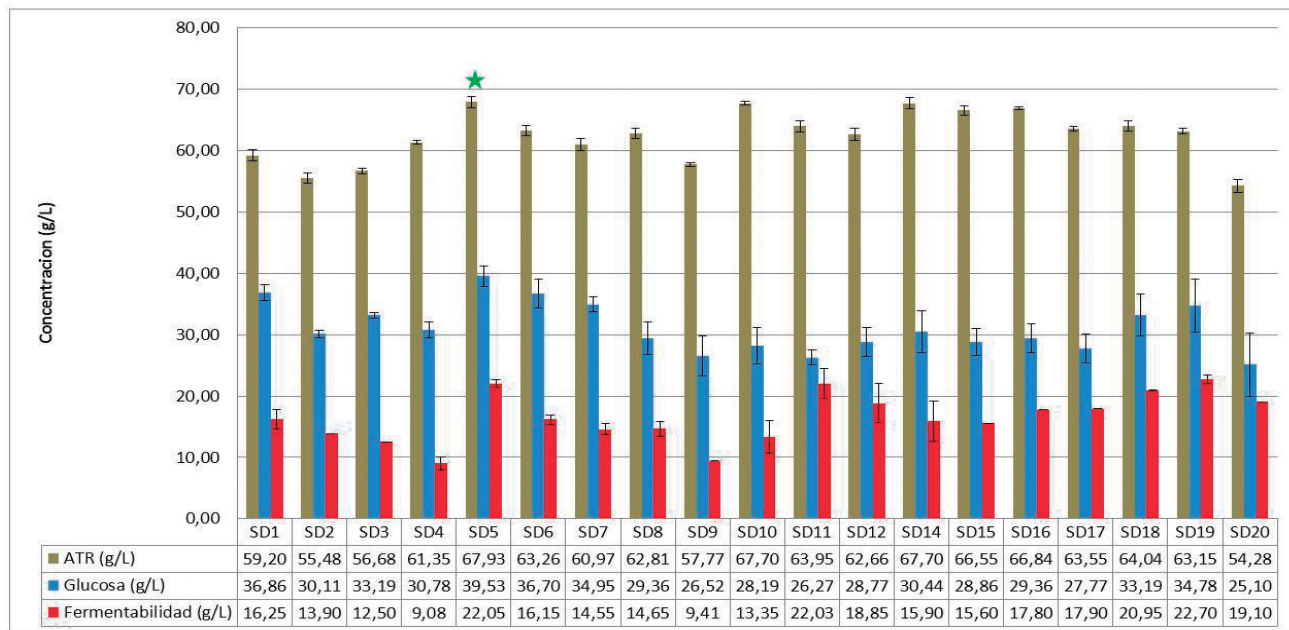


Figura 1. Estudio de deslignificación alcalina: resultados de fermentabilidad y degradabilidad del bagazo de sorgo dulce a diferentes condiciones de pretratamiento (SD: Muestra de Bagazo Sorgo Dulce)

Tabla 6. ANOVA para el proceso de deslignificación alcalina sobre el bagazo de sorgo

Source	Sum of Squares	F Value	p-value Prob > F
Model	198,40	50,73	0,0009
A-T	2,65	9,47	0,0370
B-t	4,35	15,58	0,0169
C-NaOH	21,78	77,96	0,0009
D-L/S	0,72	2,58	0,1837
AB	0,71	2,56	0,1851
AC	2,38	8,51	0,0434
AD	15,06	53,92	0,0018
BC	12,10	43,32	0,0028
BD	32,80	117,41	0,0004
CD	0,30	1,06	0,3612
A^2	2,16	7,72	0,9342
B^2	5,60	20,04	0,0110
C^2	2,23	7,99	0,0475
D^2	14,54	52,06	0,0020
Residual	1,12		
Lack of Fit	0,36	0,48	0,6756
Pure Error	0,75		

Fuente: Los autores

El análisis estadístico, para este diseño experimental, se realizó con un intervalo de confianza del 95 %. De la ANOVA se puede resaltar que el modelo cuadrático propuesto por el programa es significativo, así como que las variables temperatura, tiempo y concentración de soda cáustica, mientras que la variable (L/S) no tiene una influencia estadística dentro de los rangos evaluados, esto se puede afirmar debido a que los valores del p-value son menores a 0,05. Es importante rescatar que el tiempo tiene una influencia negativa sobre la producción de etanol y es por esto por lo que se fijó el tiempo en su límite inferior del rango evaluado. Este modelo tiene un ajuste a los datos experimentales del 99,4% (R^2) y explica el 97,48% de las variaciones de los datos experimentales. Las superficies de respuesta y las condiciones de pretratamiento arrojadas por el modelo estadístico para obtener la mejor fermentabilidad dentro de los límites seleccionados son presentadas en las Figuras 2, 3 y la Tabla 7.

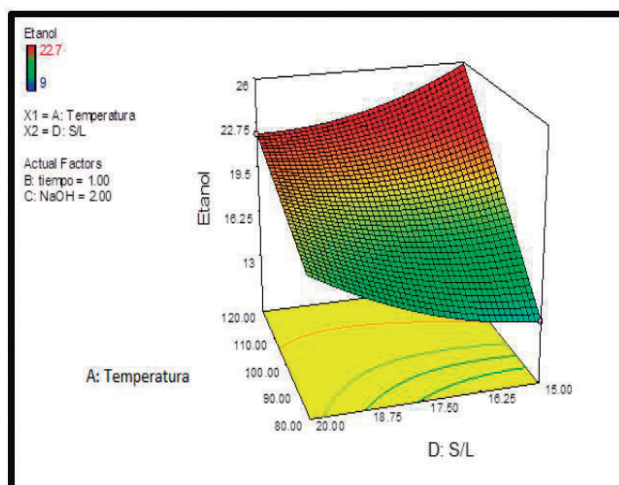


Figura 2. Superficie de respuesta fermentabilidad a etanol en función de la relación (L/S) y la temperatura

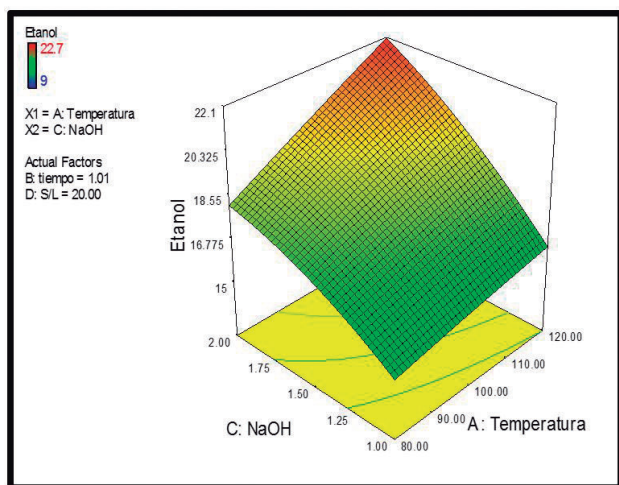


Figura 3. Superficie de respuesta fermentabilidad a etanol en función de la concentración de NaOH y la temperatura

Tabla 7. Condiciones de pretratamiento obtenidas (deslignificación alcalina) para el bagazo de sorgo dulce.

Condiciones Óptimas de Pretratamiento	
Temperatura (°C)	120
Tiempo (h)	1
% NaOH	2
Relación (S/L) (g/g)	20
Etanol (g/L)	22
Desirability	0,971

Fuente: Los autores

En la Figura 2 se puede observar, que a temperaturas bajas en el proceso de deslignificación alcalina no se favorece la producción de etanol empleando el bagazo de sorgo dulce. Esta se ve favorecida cuando se trabaja a valores altos de temperaturas y relaciones (L/S) bajas, es

decir que para una concentración fija de NaOH se tendría la mayor cantidad de etanol. Lo que coincide con la significancia de la interacción temperatura-L/S (AD) sobre el modelo.

En la Figura 3, se puede observar que a temperaturas bajas no se favorece la producción de etanol para el bagazo de sorgo dulce, la producción de etanol se favorece a valores altos de temperatura y concentraciones de soda cáustica, confirmando nuevamente que la soda cáustica en exceso beneficia positivamente el proceso de deslignificación, como se confirma con la significancia de la interacción temperatura-concentración de soda caustica (AC). La concentración de NaOH parece ser una variable importante, pero esta no se ve afectada a altas temperaturas (120°C) debido a que las diferencias entre las diversas unidades experimentales no son significativas. De los resultados de los experimentos 5, 6, 18 y 19, se podría inferir que la temperatura es una de las variables más importantes para el proceso de deslignificación, lo que está acorde con Alvira *et al.* (2010); Asgher, Ahmad, y Iqbal (2013); Cao, Sun, Liu, Yin, y Wu (2012). Cao *et al.* (2012) reportan para el bagazo de sorgo dulce que los mejores resultados se encuentran cuando la deslignificación alcalina se realiza a 121°C y un tiempo de 60 min, Asgher *et al.* (2013) reportan condiciones de pretratamiento de 120 °C y tiempo de 30 min, por otro lado Alvira *et al.* (2010) indican que los mejores valores se obtienen en rangos de temperatura de 85 °C-150 °C y tiempos entre 3 y 13 h, que al compararse con los valores encontrados en este trabajo son similares 120 °C y 1 h. Para determinar los valores de los factores que permitan llegar a una mayor concentración de etanol, dentro de los rangos evaluados, fue empleada la función desirability del programa Design Expert. Las condiciones arrojadas por el software para la maximización de la variable respuesta se pueden observar en la Tabla 7.

La cinética de validación de las condiciones predichas por el modelo es presentada en la Figura 4. Para esta validación, los valores de la concentración de alcohol fueron determinados por cromatografía gaseosa, el último punto se tomó a las 26 h de fermentación y su concentración de etanol fue de 22,70 g/L, este resultado se acerca a los obtenidos por Asgher, Ahmad, y Iqbal, (2013) el cual trabajó con bagazo de caña de azúcar y alcanzó una concentración de etanol de 18,2 g/L a unas condiciones de temperatura de fermentación de 37 °C, pH de 5,5 y un tiempo de 72 h.

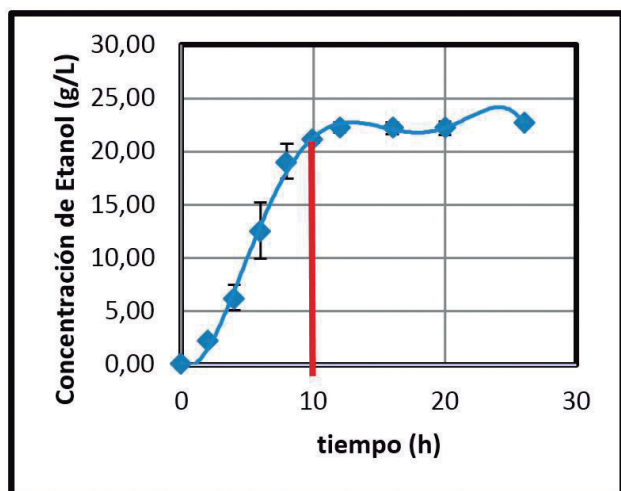


Figura 4. Cinética de validación del hidrolizado de bagazo de sorgo dulce a las condiciones predichas por el modelo estadístico (NaOH (2%), L/S (20), T (120 °C) y t (1 h))

El rendimiento obtenido en la fermentación con las condiciones predichas por el modelo fue de 0,203 g de etanol / g de biomasa pretratada seca. La productividad para esta validación fue de 0,87 g etanol/L h, pero si se observa la Figura 4 se ve claramente que el tiempo de fermentación podría disminuirse hasta las 10 h y así se aumentaría la productividad hasta 2,27 g etanol/ L h.

Efecto de la deslignificación alcalina sobre el bagazo de sorgo dulce

El bagazo de sorgo dulce pretratado se sometió de nuevo al proceso de caracterización con el fin de determinar el efecto del pretratamiento sobre el sustrato, en esta tabla también se muestran los subproductos que quedan presentes en el licor negro. Los resultados encontrados se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Composición de la fracción sólida y líquida de los subproductos de pretratamiento del bagazo de sorgo dulce.

Fase Sólida	
Componente	Porcentaje (%w/w)
Celulosa	54,4
Hemicelulosa	24,8
Lignina	13,4
Humedad	7,4
Fase Líquida	
Componente	Concentración (mg/mL)
Glucosa	0,28
Pentosas	0,63
Ácido acético	1,44
Furfural	0,002

Fuente: Los autores

La formación de sustancias inhibitorias se pudo ver favorecida debido a las altas condiciones de temperatura del pretratamiento, ya que a condiciones extremas se presenta la degradación de la xilosa a furfural. Cabe resaltar que aunque hay presencia de inhibidores su concentración es baja, concordando así con Sun y Cheng (2005) los cuales reportan para pastos y paja de centeno.

Al comparar las Tablas 3 y 8 se puede decir que el contenido de lignina disminuyó en un 45,7 % y la celulosa aumentó en un 47%, debido a la acción del pretratamiento alcalino, concordando con lo reportado por Asgher Ahmad, y Iqbal, 2013, el cual obtuvo un porcentaje de deslignificación del 48,7% para el bagazo de caña de azúcar con una deslignificación alcalina empleando una concentración de NaOH al 4%. Los autores Alvira *et al.* (2010); Balat, Balat, y Öz (2008); Balat (2011); Barcelos *et al.* (2016); Cao *et al.* (2012); Khalil, Abdelhafez y Amer (2015); Mosier *et al.* (2002) y Reis *et al.* (2016) reportan valores similares de remoción de lignina con el pretratamiento alcalino sobre diferentes materiales lignocelulósicos.

La degradación de celulosa y hemicelulosa en el pretratamiento alcalino es mínima, esto se puede aseverar al observar la concentración de glucosa y pentosas en el licor negro (fracción líquida) que se obtiene después del pretratamiento alcalino.

La caracterización realizada al licor negro muestra que a las condiciones a las cuales tuvo lugar la deslignificación alcalina se presenta una baja formación de compuestos inhibidores de la actividad enzimática (ácido acético y furfural), la capacidad fermentativa del microorganismo, por lo tanto, la producción de azúcares reductores como la posterior transformación de estos azúcares a etanol durante la fermentación no se vio afectada significativamente.

Subproductos de la deslignificación

Del espectro IR de la Figura 5, se puede confirmar la presencia de los grupos funcionales como el OH⁻ (banda ancha entre 2800 y 3400 cm⁻¹) los grupos aromáticos con varias sustituciones (banda fuerte a 600 cm⁻¹ y bandas múltiples a 1600 cm⁻¹), el enlace carbono-oxígeno (aproximadamente a 1100 cm⁻¹), así como las bandas de los enlaces carbono-hidrógeno (la más fuerte a 1400 cm⁻¹). La no presencia del grupo carbonilo a 1600 cm⁻¹ indica la ausencia de azúcares provenientes de la hemicelulosa en la muestra (Martínez, Jiménez, Ramírez, y Rojo, 2007). El hombro a 2900 cm⁻¹ corresponde al grupo CH₂ guayacilo-siringilo (Raiskila, 2007).

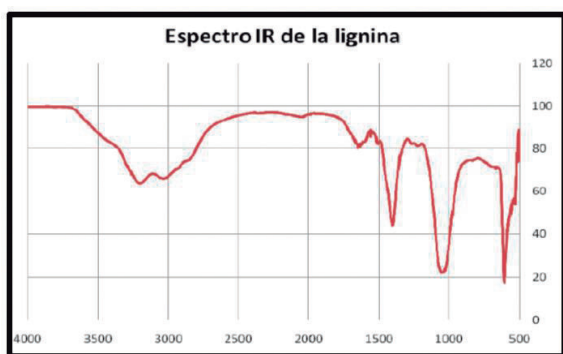


Figura 5. Espectro IR del sólido precipitado de la fracción líquida de la deslignificación alcalina
Fuente: Los autores

La huella digital de cualquier espectro infrarrojo se analiza entre los 600 cm^{-1} y los 1800 cm^{-1} , los resultados obtenidos se compararon con los reportados por Rana, Langenfeld-Heyser, Finkeldey, y Polle (2010). Este autor realizó un estudio de IR de lignina proveniente de madera, aislada por diferentes métodos. Si se compara el IR obtenido de la muestra podemos inferir que los picos presentes a 1596 , 1505 y 1270 cm^{-1} corresponden a compuestos presentes en la lignina. A 1200 cm^{-1} se presenta un pico que representa el guaracil característico de la lignina (Derkacheva, y Sukhov, 2008).

Los grupos hidroxilo característicos de la lignina, aparecen a 1338 cm^{-1} , es posible que este pico presente superposición entre los carboxilos propios de la lignina y el $\text{C}=\text{C}$ de los aromáticos (Raikila, 2007). Los grupos aromáticos polisustituidos son característicos de 600 cm^{-1} . Sin embargo, puede solaparse con un pico a 1100 cm^{-1} correspondiente a los enlaces éter de los CH; no obstante, la ausencia del pico a 1600 cm^{-1} (grupo carbonilo) permite descartar esta posibilidad. Derkacheva y Sukhov (2008) reportan que la lignina recuperada del pretratamiento alcalino de los materiales lignocelulósicos presenta un incremento en los picos de 1490 y 1188 cm^{-1} , cuando es analizada, los cuales son muy marcados en la Figura 5.

Con base en los análisis anteriores se puede decir que el espectro generado por el material removido en el tratamiento alcalino corresponde a la fracción de lignina del material evaluado, la cual presenta una alta composición de fracciones guaráclicas de lignina. Adicionalmente, es importante resaltar que el método empleado en la recuperación de lignina permite obtenerla exenta de carbohidratos, lo que es de gran importancia si se piensa en una futura aplicación para la misma.

Los análisis realizados al agua residual de la deslignificación, confirman la remoción de lignina del bagazo de sorgo dulce. Es importante resaltar que debido a las características de la deslignificación y a las propiedades de la hemicelulosa y la celulosa, no es posible obtener la lignina pura con una simple precipitación, si se piensa en aplicaciones futuras.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en la evaluación de los diferentes tipos de pretratamientos en el sustrato bagazo de sorgo dulce, permiten decir que el alcalino con NaOH es el mejor proceso para dicho sustrato.

El proceso de deslignificación alcalina triplica la producción de etanol una vez son identificadas las mejores condiciones para esta etapa (NaOH 2%, 1 hora, 121°C y L: S de 20).

La producción de etanol se favorece a condiciones altas de temperatura y concentración de soda cáustica.

Es posible disminuir el tiempo de fermentación con las condiciones establecidas de pretratamiento. Esta disminución va de 26 horas a 10 horas, lo que permitió aumentar la productividad en un 260 %.

Con la realización de la deslignificación alcalina sobre el bagazo de sorgo dulce se disminuye el contenido de lignina en un 45,7 % y se aumenta el contenido de celulosa en un 47%, permitiendo con esto que las enzimas y la levadura tengan un mejor acceso a la celulosa y la glucosa respectivamente.

La cantidad de etanol obtenida en este trabajo permite concluir que el rendimiento del bagazo de sorgo dulce a etanol es de 114 L Etanol / Ton de Sorgo dulce seco pretratado con NaOH y fermentación en configuración SSF en 26 horas.

Referencias

- Alvira, P., Tomás-Pejó, E., Ballesteros, M. J., y Negro, M. J. (2010). Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: a review. *Bioresource technology*, 101(13), 4851-4861. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.093>

- Asgher, M., Ahmad, Z., y Iqbal, H. M. N. (2013). Alkali and enzymatic delignification of sugarcane bagasse to expose cellulose polymers for saccharification and bio-ethanol production. *Industrial Crops and Products*, 44, 488-495. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.10.005>
- Balat, M. (2011). Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: a review. *Energy conversion and management*, 52(2), 858-875. doi: <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2010.08.013>
- Balat, M., Balat, H., y Öz, C. (2008). Progress in bioethanol processing. *Progress in energy and combustion science*, 34(5), 551-573. doi: <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2007.11.001>
- Ballesteros, I., Ballesteros, M., Manzanares, P., Negro, M. J., Oliva, J. M., y Sáez, F. (2008). Dilute sulfuric acid pretreatment of cardoon for ethanol production. *Biochemical Engineering Journal*, 42(1), 84-91. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.06.001>
- Barcelos, C. A., Maeda, R. N., Santa Anna, L. M. M., y Pereira, N. (2016). Sweet sorghum as a whole-crop feedstock for ethanol production. *Biomass and Bioenergy*, 94, 46-56. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.08.012>
- Cao, W., Sun, C., Liu, R., Yin, R., y Wu, X. (2012). Comparison of the effects of five pretreatment methods on enhancing the enzymatic digestibility and ethanol production from sweet sorghum bagasse. *Bioresource Technology*, 111, 215-221. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.034>
- Chuck-Hernández, C., Pérez-Carrillo, E., Heredia-Olea, E., y Serna-Saldívar, S. O. (2011). Sorgo como un cultivo multifacético para la producción de bioetanol en México: tecnologías, avances y áreas de oportunidad. *Revista mexicana de ingeniería química*, 10(3), 529-549.
- Derkacheva, O., y Sukhov, D. (2008, May). Investigation of lignins by FTIR spectroscopy. *Macromolecular Symposia* (Vol. 265, No. 1, pp. 61-68). WILEY-VCH Verlag. doi: <https://doi.org/10.1002/masy.200850507>
- Fenalce. (2002). Matriz sector cereales – cultivo del sorgo en Colombia.
- García, A. (2003). Economía de Colombia. Retrieved from <http://pwp.supercabletv.net.co/garcru/colombia/Colombia/economia.html>
- Hamelinck, C. N., Van Hooijdonk, G., y Faaij, A. P. (2005). Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle-and long-term. *Biomass and bioenergy*, 28(4), 384-410. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2004.09.002>
- Kafarov, V. (2010). Memorias CIBSCOL. (A. González, Ed.) (Primera). Bucaramanga.
- Khalil, S. R. A., Abdelhafez, A. A., y Amer, E. A. M. (2015). Evaluation of bioethanol production from juice and bagasse of some sweet sorghum varieties. *Annals of Agricultural Sciences*, 2050(2), 317-324. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aos.2015.10.005>
- Kumar, R., y Wyman, C. E. (2009). Effects of cellulase and xylanase enzymes on the deconstruction of solids from pretreatment of poplar by leading technologies. *Biotechnology progress*, 25(2), 302-314. doi: <https://doi.org/10.1002/btpr.102>
- Lynd, L. R., Weimer, P. J., Van Zyl, W. H., y Pretorius, I. S. (2002). Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiology and molecular biology reviews*, 66(3), 506-577. doi: <https://doi.org/10.1128/MMBR.66.3.506-577.2002>
- Martínez, J. D., Jiménez, J. V., Ramírez, W., y Rojo, P. G. (2007). Modificación de resinas fenólicas con lignina procedente del pulpeo alcalino del bagazo de caña. *Scientia et technica*, 1(36), 683-688.
- Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 31(III), 426-428. doi: <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, C. E. N. A.-2008. (2010). Informe de rendición de cuentas. Gestión 2002 - 2010. Recuperado de <http://www.minagricultura.gov>

- [co/archivos/informe_rendicion_cuentas_2002-2010.pdf](#)
- Morales, R. (2007). Estudio del sorgo dulce como alternativa de cultivo energético en la producción de energías alternas renovables. CERTA.
- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y. Y., Holtzapple, M., y Ladisch, M. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource technology*, 96(6), 673-686. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.06.025>
- Raiskila, S. (2007). FTIR Spectroscopic Prediction of Klason and Acid Soluble Lignin Variation in Norway Spruce Cutting Clones, 41(January).
- Rana, R., Langenfeld-Heyser, R., Finkeldey, R., y Polle, A. (2010). FTIR spectroscopy, chemical and histochemical characterisation of wood and lignin of five tropical timber wood species of the family of Dipterocarpaceae. *Wood Science and Technology*, 44(2), 225-242. doi: <https://doi.org/10.1007/s00226-009-0281-2>
- Reis, A. L. S., Damilano, E. D., Menezes, R. S. C., y de Morais, M. A. (2016). Second-generation ethanol from sugarcane and sweet sorghum bagasses using the yeast *Dekkera bruxellensis*. *Industrial Crops and Products*, 92, 255-262. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.08.007>
- Rincón, S. (2009). Generación energética a partir de biomasa residual colombiana. Grupo de Investigación en Biomasa y Optimización Térmica de Procesos (BIOT). Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Saha, B. C., y Cotta, M. A. (2006). Ethanol production from alkaline peroxide pretreated enzymatically saccharified wheat straw. *Biotechnology Progress*, 22(2), 449-453. doi: <https://doi.org/10.1021/bp050310r>
- Sánchez Riaño, (2010). Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos. *Revista Tumbaga*, 5, 61-91.
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., y Templeton, D. (2008a). Determination of ash in biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP). Nrel/Tp-510-42622.
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., y Templeton, D. (2008b). Determination of Sugars, Byproducts, and Degradation Products in Liquid Fraction Process Samples.
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., y Crocker, D. (2012). Analytical procedure - Determination of structural carbohydrates and lignin in Biomass. Laboratory Analytical Procedure (LAP), [NREL/TP-510-42618](#).
- Sun, Y. y Cheng, J., 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review, *Bioresour. Technol*, 83, 11. doi: [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00212-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00212-7)
- Sun, Y., y Cheng, J. J. (2005). Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethanol production. *Bioresource Technology*, 96(14), 1599-1606. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.12.022>
- Tejada, L., Tejada, C., Villabona, A., Tarón, A., Alvear, M., Castillo, C., Henao, D., Marimón, W., Madariaga, N. (2010). Producción de etanol a partir de la fermentación alcohólica de jarabes glucosados derivados de cáscaras de naranja y pi-a. *Revista Educación En Ingeniería*, (10), 120-125.
- Toquero, C., y Bolado, S. (2014). Effect of four pretreatments on enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation of wheat straw. Influence of inhibitors and washing. *Bioresource Technology*, 157, 68-76. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.090>