

Producción de etanol del sorgo dulce en un ciclo anual^a

Carlos Rolz¹, Roberto de León², Ana Luisa Mendizábal de Montenegro³ & Rolando Cifuentes⁴

¹Centro de Ingeniería Bioquímica, ²Laboratorio de Ingeniería Bioquímica, ³Laboratorio de Química Analítica, ⁴Centro de Estudios Agrícolas y Forestales, Instituto de Investigaciones, Universidad del Valle de Guatemala

RESUMEN: Cuatro variedades de sorgo dulce, M81E, Sugar Drip, Top 76-6 y Umbrella, fueron cultivadas en dos sitios experimentales localizados en la costa sur dentro de la región cañera en los años 2011 y 2012. Se efectuaron tres cosechas en cada año calendario, un primer corte y dos retoños consecutivos. Se determinó la productividad del tallo y en el jugo del tallo prensado el contenido de sacarosa, glucosa y fructosa. En muestras representativas del año 2011 del primer corte y del segundo retoño se cuantificó la producción de etanol empleando la técnica de extracción y fermentación simultáneas. La productividad del tallo fresco fue similar para el primer corte y el primer retoño, pero dependiente de la variedad y el sitio. En el segundo retoño disminuyó drásticamente sin excepción. Al considerar únicamente los dos primeros cortes, se encontró que la variedad Top 76-6 obtuvo la mayor productividad del tallo fresco con 47 Mg/ha por corte, o sean 94 Mg/ha en el año, y la mayor productividad de azúcar, equivalente a 5,285 Kg/ha por corte o aproximadamente 11 Mg/ha por año. La proporción de azúcares individuales varió de acuerdo con la variedad, el sitio y el año de siembra. La producción de etanol para las variedades Sugar Drip, Top 76-6 y Umbrella varió entre 200 y 250 g etanol por kg de tallo seco inicial en muestras del primer corte. Sin embargo, disminuyó en todos los casos en muestras del segundo retoño. La productividad del etanol fue mayor para las variedades Umbrella y Top 76-6 e igual, aproximadamente, a 2,500 litros/ha por corte.

PALABRAS CLAVE: Sorgo dulce, Productividad de biomasa, Productividad de azúcar, Rendimientos de etanol.

ABSTRACT: Four sweet sorghum varieties, M81E, Sugar Drip, Top 76-6 and Umbrella were sowed early in the year in 2011 and 2012 in two experimental plots located in the Guatemalan Pacific lowlands within the sugarcane producing region. Three harvests were done, a first cut and two consecutive ratoon crops. Stalk biomass, stalk sugar content and proportions of individual sugars in the extracted juice were measured. Ethanol production employing simultaneous sugar extraction from stalk particles and fermentation by a commercial yeast strain was carried out in

2011 samples from the first harvest and second ratoon crop. Fresh stalk biomass productivity was the same for the first harvest and the first ratoon crop, but it was dependent on variety and site. The second ratoon crop diminished drastically without exception. Considering only two harvests per year Top 76-6 had the best overall productivity with a rounded average of 47 Mg/ha per harvest, equivalent to 94 Mg/ha per year and the higher sugar productivity, equal to 5,285 Kg/ha per harvest or approximately 11 Mg/ha per year. Proportions of individual sugars at harvest varied among varieties, sites and year. Ethanol production was between 200 and 250 g ethanol per kg of dry stem for Sugar Drip, Top 76-6 and Umbrella varieties for first harvests samples. The data for the second ratoon crop was lower for all varieties and sites. Ethanol productivity was higher for Umbrella and Top 76-6 and equal to approximately 2,500 liters per ha per harvest.

KEY WORDS: Sweet sorghum, Biomass productivity, Sugar productivity, Ethanol yields.

Introducción

La biomasa es una de las materias primas alternativas para producir biocombustibles, sin embargo, es necesario aumentar la productividad de la biomasa por unidad de área y tiempo con el objeto de reducir los actuales costos de producción. El sorgo dulce o azucarado, planta ricas en azúcares fermentables, es un cultivo potencial debido a su eficiente C4-fotosíntesis, a su ciclo corto de producción, a su eficiencia en el aprovechamiento del nitrógeno y el agua, su tolerancia a diversos tipos de estrés y a su adaptabilidad a tierras consideradas marginales (Rooney et al 2007; Almodares y Hadi, 2009; Lingle, 2010; Xing y Wang 2011; Calviño y Messing 2012; Zegada-Lizarazu y Monti 2012). Existe también otra consideración importante, especialmente para países en desarrollo con poca o nula producción de petróleo, que favorece al sorgo dulce, y es la producción simultánea de un grano comestible, conocido en el país como maicillo, y que actualmente en el mundo se emplea en la alimentación animal (Blummel et al 2009) y la producción de alimentos consumidos por los humanos (Dicko et al 2006). Lo

^a Se ha publicado una versión con datos adicionales en la revista Biomass Conversion and Biorefinery año 2014 (en prensa)

anterior convierte al sorgo dulce como un producto de propósitos múltiples que permitiría contribuir, no solo a una seguridad energética, sino también a una seguridad alimenticia.

En la literatura se encuentran sugerencias para manejar la cosecha del sorgo dulce de manera que coincida con el tiempo muerto en el año que tienen las plantas de producción de etanol a partir de las melazas de la caña de azúcar, de manera que puedan producir etanol constantemente (Woods 2001; Guigou et al 2011; Cutz et al 2013). Un escenario alternativo, que podría resultar atractivo desde el punto de vista de la optimización de la producción de la biomasa, es un ciclo anual de producción de sorgo dulce, ya que el mismo permite la cosecha de retoños consecutivos. En países de climas templados, debido a las temperaturas extremas en partes del año, lo anterior podría ser imposible. Por ejemplo, se han reportado datos de una pobre productividad del primer retoño en variedades de sorgo dulce sembradas en la parte sur de EEUU (Erickson et al 2011; Han et al 2012). Investigaciones agronómicas en progreso han identificado recientemente híbridos de sorgo dulce capaces de cosechas múltiples (Wang et al 2012). No existen datos publicados en países tropicales a excepción de productividades obtenidas en la estación lluviosa en Indonesia Tsuchihashi y Goto, 2004; 2005).

En este trabajo se informan de los resultados obtenidos para cuatro variedades de sorgo dulce en dos años consecutivos, 2011 y 2012, en dos sitios diferentes de la costa sur, y en tres cortes consecutivos.

Metodología

Sembrado del sorgo dulce

Cuatro variedades de sorgo dulce conocidas y descritas genéticamente (Murray et al 2009), M81E, Sugar Drip, Top 76-6 y Umbrella, fueron sembradas en Febrero de los años 2011 y 2012 en dos sitios experimentales, una finca privada, Finca El Paraíso, Cocales, Suchitepéquez (identificado como P en el resto del artículo) a una altitud de 625 msnm y en Campo Sur, UVG, localizado en Santa Lucía Cotzumalguapa, Escuintla (identificado como CS en el resto del artículo) a 300 msnm. En todos los casos se empleó un diseño de bloques completo al azar con tres réplicas.

En el 2011, en cada unidad experimental se sembraron pilones de 30 días espaciados por 20 cm, en 4 filas de 4 m de largo y una distancia entre filas de 0.5 m, lo cual implicaba una densidad de 100,000 plantas por hectárea. Se emplearon pilones en lugar de semilla para minimizar el daño causado por los pájaros. Se implementó una irrigación entubada por fila con una frecuencia de tres veces por semana hasta el tiempo de cosecha. El régimen de fertilización fue el siguiente: 150 kg de N por ha, un tercio dos semanas después de la siembra, un tercio luego de un mes y el tercio final dos meses después de la primera aplicación; 50 kg de P_2O_5 y 50 kg de K_2O por ha, dos semanas después de la siembra. El régimen se repitió para los dos retoños.

En el 2012, se sembraron semillas espaciadas por 15 cm en 4 filas de 4 m de largo y una distancia entre filas de 0.5 m, lo cual implicaba una densidad de 133,333 plantas por hectárea. El tiempo de sembrado, la frecuencia de irrigación y las tasas de fertilización fueron las mismas.

Muestreo, transporte, almacenamiento, molienda y prensado de los tallos

Las muestras consistieron en cuatro a cinco tallos escogidos al azar de diferentes filas cortados a ras de tierra. Se limpiaron manualmente del follaje y de hoja adherida, se les removió la parte superior y se registró su peso. Esta operación se repitió de tres a seis veces para cada variedad, sitio y año. Ese mismo día se envió una muestra compuesta al Campo Central en la ciudad de Guatemala en donde se almacenaron a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta que se procesaron.

Los tallos descongelados se procesaron de la siguiente manera. Se cortó manualmente un segmento de dos de los tallos de cada variedad y de cada sitio. El segmento se escogió entre el segundo y cuarto nudo del tallo, contando de la parte inferior. Luego se partieron en pedazos pequeños empleando un cuchillo y una parte se pulverizó en un molino de laboratorio de alta velocidad (IKA Works A11). Esta muestra compuesta se utilizó para los análisis de humedad y las pruebas de fermentación. El resto de los tallos se prensaron en un trapiche de tres rodos dentados de acero inoxidable accionado por un motor de 2 HP. En el jugo obtenido se determinó el Brix empleando un refractómetro digital (Sper Scientific Ltd Model 3000034). Los azúcares en el tallo y en el jugo fueron analizados por HPLC como se describe más adelante.

Crecimiento de la levadura, medio de cultivo y producción de etanol

La levadura empleada en los ensayos fue una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* empleada en las destilerías del país disponible comercialmente. Se creció en caldo Sabouraud (Merck, 2 % glucosa, 0.5% de peptona animal y 0.5% de peptona de caseína) más un 1 % de sacarosa. Se agregaron 125 mL del caldo a un frasco de 250 mL, se esterilizó a $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 20 min, se enfrió, se inoculó con la levadura y se agitó a 250 rpm a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 48 h (Incubator Shaker Lab Companion Model SI-600). Luego, la suspensión se centrifugó a 4,000 rpm y $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Eppendorf Table-top Refrigerated Centrifuge Model 5804R). El sólido se suspendió en agua deionizada y se ajustó la densidad óptica a 1.6, la cual correspondía a aproximadamente 1.2 g de levadura seca por litro. Un volumen de 100 mL se agregó a un frasco conteniendo una cantidad conocida de sorgo pulverizado, $31.1 \pm 1.2\text{ g}$, empleando en promedio 20 g de levadura seca por kg de partículas secas de sorgo. Cada variedad de sorgo se ensayó en duplicado.

Como se muestra en la Gráfica 1 la proporción agua-sólido empleada aseguraba que inicialmente el sorgo estuviera inmerso en la fase líquida de manera de facilitar la extracción de los azúcares y su transformación simultánea a etanol.



Gráfico 1. Extracción y fermentación simultáneas del azúcar contenido en partículas del tallo de sorgo dulce suspendidas en agua

Los frascos se mantuvieron a 27 °C por 36 h (*Lab-Line Incubator Imperial III*). Los contenidos se filtraron en papel filtro *Whatman 1004-110*. Los sólidos se lavaron con agua destilada y se descartaron. Los líquidos filtrados se diluyeron a 250 mL y luego, se tomó una alícuota que se centrifugó a 10 °C a 4,000 rpm; en dicha muestra se cuantificaron el etanol y los azúcares por cromatografía, gaseosa y líquida de alta presión respectivamente como se detalla más adelante. Los sólidos se descartaron.

Se empleó una extracción y fermentación simultánea debido a que es una metodología que a escala de laboratorio asegura la extracción prácticamente de todos los azúcares de la matriz sólida y de su conversión a etanol por la levadura (Rolz y de León, 2010; 2011). Por el contrario, cuando se utilizó prensado del tallo en un molino de tres tambores rotatorios en un solo paso, se obtuvo una extracción de solamente un 41 % de extracción del azúcar del tallo en el mejor de los casos. No se deseaba que un factor de una extracción parcial del azúcar, diferente en cada variedad, pudiera ejercer una influencia en los resultados.

Determinaciones analíticas

La humedad de los tallos de cada variedad se obtuvo de una muestra compuesta de material pulverizado que se deshidrató hasta peso constante a 65 °C. La muestra de cada variedad y sitio para cuantificar los azúcares se preparó de la siguiente manera: aproximadamente 50 g de material pulverizado se mezclaron con 250 mL de agua, se llevaron a ebullición, manteniéndola por 30 min, luego se dejaron enfriar. La suspensión

se filtró con ayuda de vacío empleando papel filtro *Whatman 1004-110*. En el filtrado los azúcares se determinaron empleando un cromatógrafo líquido de alta presión *Agilent 1100*, con un detector de índice de refracción *Agilent 1200*, una columna *Zorbax NH2*, de 25 cm de longitud, 4.6 mm de diámetro interno, y una mezcla de acetonitrilo en agua (70-30) como solvente. En las muestras fermentadas, el etanol se cuantificó empleando un cromatógrafo de gases *Agilent 6890*, con una columna *HP-Plot Q* de 30 m de longitud y 32 mm de diámetro interno.

Análisis estadístico

Los análisis de variancia se realizaron empleando *Stata Versión 9*.

Resultados y discusión

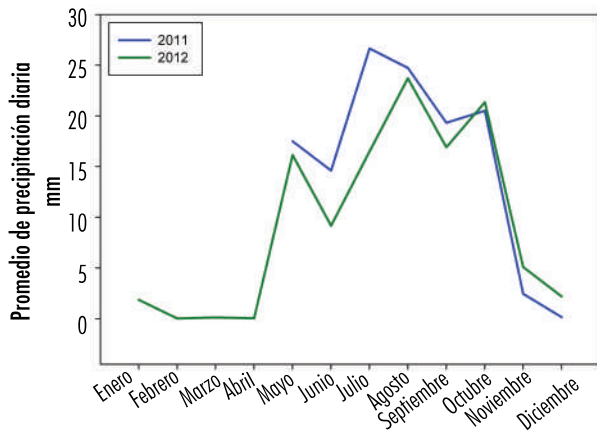
Ciclo de producción y rendimiento del tallo

Un ciclo de producción de 116, 112 y 95 días se observó para las variedades de sorgo dulce en los dos sitios durante el año 2011 para el primer corte y los dos retoños respectivamente. En el 2012, el ciclo fue de 96, 104 y 113 días en el sitio P y 101, 107 y 112 días en el sitio CS. El tiempo de corte se estimó evaluando las características del grano en la panoja. En todos los casos el ciclo estuvo por debajo, pero cerca, de los cuatro meses que se informan como un promedio en la literatura (Lingle, 2010; Zegada-Lizarazu y Monti 2012). Además las cifras coinciden aproximadamente con aquellas informadas para las variedades Wray, Keller y Rio en Indonesia (Tsuchihashi y Goto 2004) y las variedades Keller, Wray y Madhura en India (Ratnavathi et al 2010). Se observa que el hecho de haber empleado pilones de 30 días en el 2011 no afectó el ciclo de producción. Los pilones se emplearon para evitar daño de las semillas por los pájaros, pero se observó en el año 2012 que fue una precaución que resultó innecesaria.

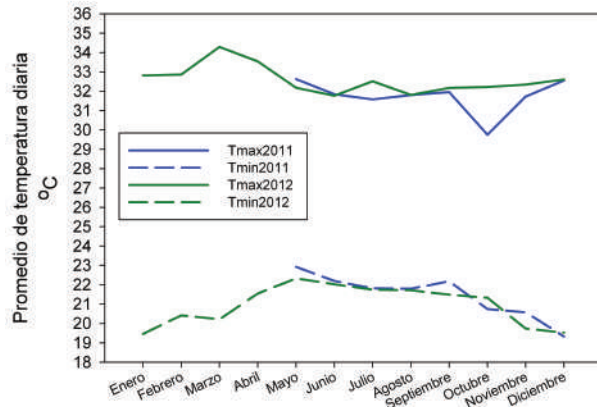
El estado de madurez fue alcanzado por todas las variedades aproximadamente al mismo tiempo. Resultados similares han sido reportados en Indonesia (Tsuchihashi y Goto 2004). Sin embargo, en climas templados algunas variedades maduran más tarde, como la M81E y la Top 76-6, mientras que otras son precoces como la Dale (Erickson et al 2012). Podría ser que estas diferencias se deban a la intensidad de la radiación y el tiempo de cobertura nubosa de acuerdo con la latitud. Como se muestra en las Gráficas 2 y 3 para el sitio CS, la tendencia de la precipitación pluvial y la temperatura ambiente fue similar en los dos años considerados. Lamentablemente no se registraron datos para el sitio P, aunque debido a su proximidad se estima que la diferencia pudo haber sido pequeña.

La siembra inicial se realizó en el segundo mes del año cuando ocurre muy poca precipitación pluvial, las noches son frías y los días cálidos debido a la poca nubosidad. La primera cosecha se efectuó al inicio de la época lluviosa. El primer retoño se desarrolló y se cosechó en plena época lluviosa. El segundo retoño se cosechó al comenzar la estación seca.

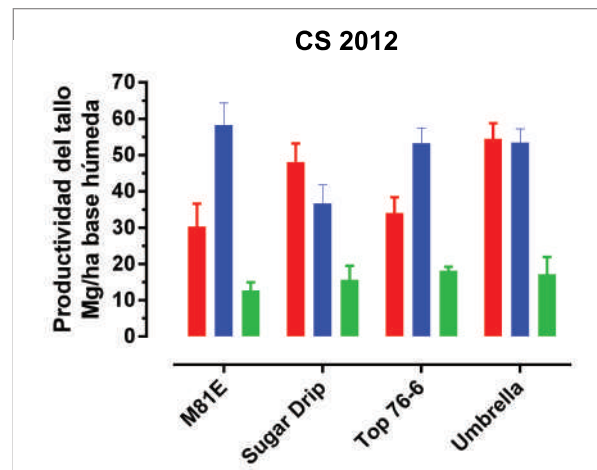
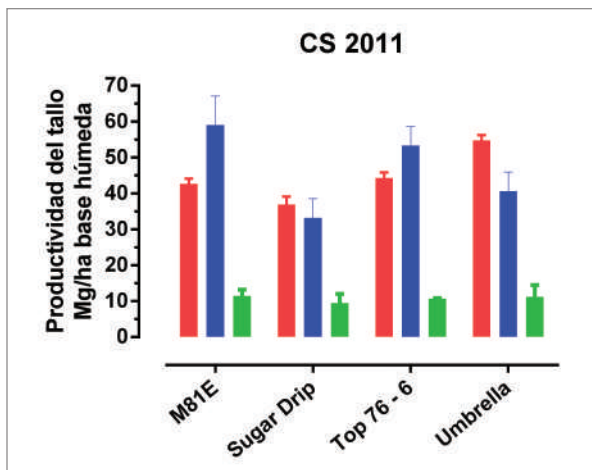
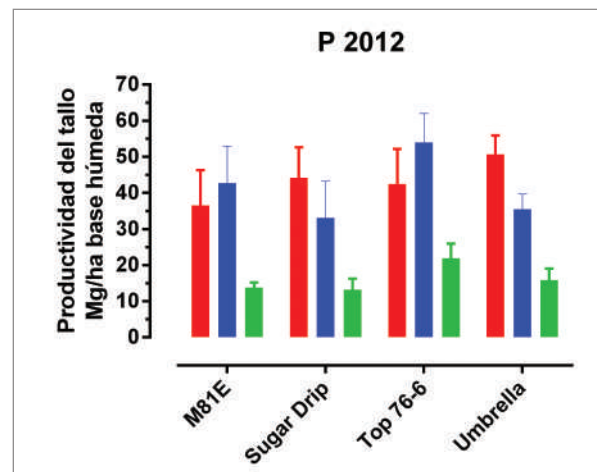
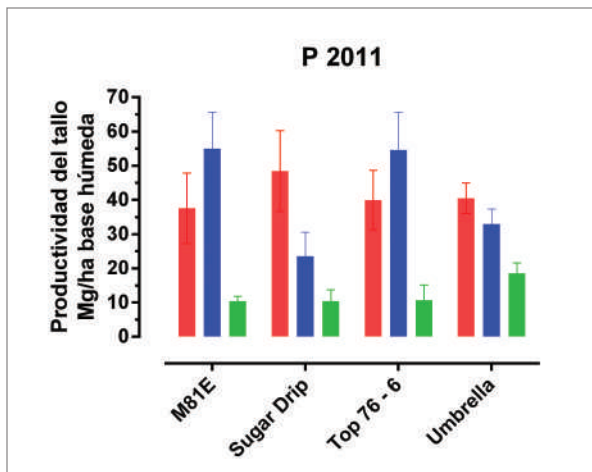
Los datos de la productividad del tallo se muestran en las Gráficas 4 y 5. Puede observarse inmediatamente que la productividad



Gráfica 2. Promedio diario de la precipitación pluvial en el sitio CS durante los años 2011 y 2012



Gráfica 3. Promedio diario de la temperatura máxima y la mínima en el sitio CS durante los años 2011 y 2012



Gráfica 4. Productividad del tallo fresco en Mg/ha para ambos sitios en el 2011. La primera barra en cada variedad identifica el primer corte. La segunda y la tercera barras identifican a los dos retoños respectivamente.

Gráfica 5. Productividad del tallo fresco en Mg/ha para ambos sitios en el 2012. La primera barra en cada variedad identifica el primer corte. La segunda y la tercera barras identifican a los dos retoños respectivamente.

del segundo retoño en todos los casos descendió drásticamente. Es probable que la causa haya sido el resultado del ataque de plagas y microorganismos que proliferaron dada las condiciones

de humedad del suelo y el ambiente. Ya en el primer retoño se observó un daño foliar apreciable seguida de una defoliación, tal como se aprecia en la Gráfica 6.



Gráfica 6. Estado de la plantación en el sitio CS en el año 2011. De izquierda a derecha, primera, segunda y tercera cosecha. El daño foliar y la disminución en la densidad de plantas en la cosecha del segundo retoño son evidentes.

Los datos experimentales obtenidos en la primera cosecha estuvieron por debajo de las productividades logradas en EEUU (Tew et al 2008; Teetor et al 2011; Erickson et al 2012). Sin embargo, cuando se comparan con cifras equivalentes obtenidas en regiones tropicales en Indonesia en plantaciones con un espaciamiento en la fila de 0.1 m y entre filas de 0.75 m (Tsuchihashi y Goto 2004; 2005) y en India con espaciamiento de 0.15 en la fila y de 0.45 entre filas (Rajendran et al 2000) los datos de este trabajo están ligeramente arriba. En China se han reportado cifras entre 20 hasta 96 Mg/ha (Zhao et al 2009) y en Irán entre 30 y 52 Mg/ha (Almodares y Darany 2006).

Por otro lado, al observar los datos experimentales del primer corte y del primer retoño se observa que fueron similares en orden de magnitud, siendo la respuesta variable para cada variedad. En el Cuadro 1 se presenta el promedio y la desviación estándar para cada caso. Como se mencionó en la introducción los datos de este trabajo difieren de aquellos obtenidos en la parte sur de EEUU en donde se han reportado datos de una pobre productividad del primer retoño (Erickson et al 2011; Han et al 2012). Nuestros resultados evidencian que en Guatemala y en regiones de clima similar, puede obtenerse un segundo retoño. Entre las variedades ensayadas la mejor fue la Top 76-6 con un promedio por corte igual a 47 Mg/ha, equivalente a

94 Mg/ha-año, al contemplar un primer corte seguido de un primer retoño.

El análisis de variancia (ANDEVA) por año, en donde la productividad fue la variable dependiente y la variedad, sitio y corte fueron las variables independientes, mostró los resultados siguientes para el primer año: la variedad (F : 13.39, P : 0.0000) el sitio (F : 5.96, P : 0.0168) y la interacción variedad*corte fueron factores significativos. Para el segundo año: la variedad (F : 4.98, P : 0.0055) el sitio (F : 5.01, P : 0.0317) y las tres interacciones binarias.

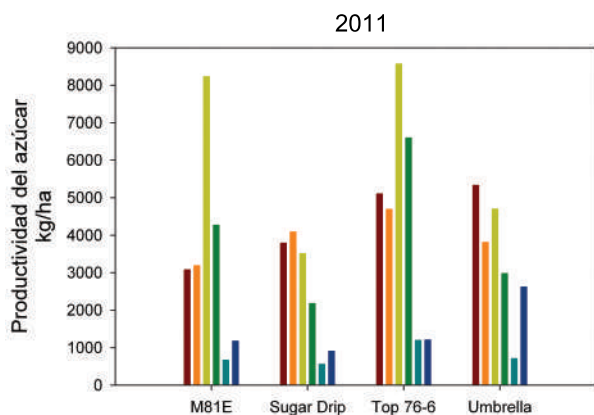
Productividad del azúcar y proporción de azúcares al corte

El sorgo dulce, al igual que la caña de azúcar, acumula azúcar en las células del parénquima del tallo durante su desarrollo; sin embargo, y en forma contraria a la caña de azúcar, el tallo maduro del sorgo dulce contiene apreciables cantidades de glucosa y fructosa, además de la sacarosa (Ferraris y Charles-Edwards 1986; Smith et al 1987; Lingle 2010).

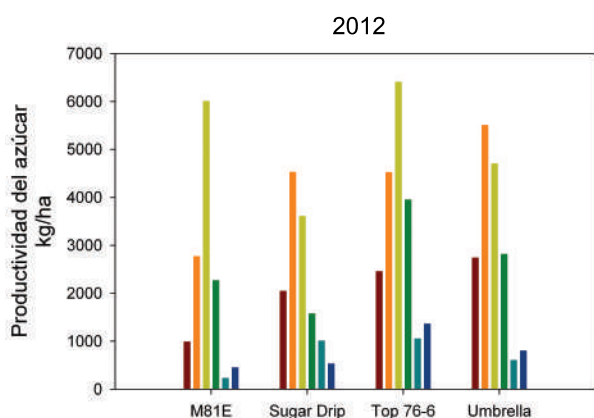
La productividad del azúcar se muestra en las Gráficas 7 y 8. Se observa que las cifras correspondientes al segundo retoño

Cuadro 1. Promedio y desviación estándar de la productividad del tallo fresco para el primer corte y el primer retoño.

| Año | Variedad | Sitio | | | |
|------|------------|---------------|---------------|--------------|---------------|
| | | P | | CS | |
| | | Corte | | | |
| | | Primero | Retoño | Primero | Retoño |
| 2011 | M81E | 37.57 ± 10.30 | 55.00 ± 10.72 | 42.68 ± 2.04 | 59.09 ± 11.38 |
| | Sugar Drip | 48.42 ± 11.85 | 23.55 ± 6.70 | 36.94 ± 3.07 | 33.22 ± 7.50 |
| | Top 76-6 | 39.96 ± 8.67 | 54.63 ± 11.07 | 44.33 ± 2.17 | 53.32 ± 7.54 |
| | Umbrella | 40.46 ± 4.48 | 32.96 ± 2.80 | 54.82 ± 1.99 | 40.69 ± 7.36 |
| 2012 | M81E | 36.54 ± 7.04 | 42.75 ± 9.33 | 30.33 ± 1.58 | 58.25 ± 8.80 |
| | Sugar Drip | 44.15 ± 6.78 | 33.11 ± 2.83 | 48.07 ± 2.83 | 36.67 ± 4.04 |
| | Top 76-6 | 42.48 ± 2.02 | 53.94 ± 8.17 | 34.05 ± 4.09 | 53.27 ± 1.54 |
| | Umbrella | 50.67 ± 3.10 | 35.50 ± 1.19 | 54.46 ± 3.91 | 53.43 ± 7.48 |



Gráfica 7. Productividad del azúcar en kg/ha en el año 2011 en los dos sitios. Las primeras dos barras de cada variedad identifican el primer corte, las barras 3 y 4 al primer retoño, las barras 5 y 6 al segundo retoño. En cada grupo de barras el sitio CS es primero, seguido del sitio P.



Gráfica 8. Productividad del azúcar en kg/ha en el año 2012 en los dos sitios. Las primeras dos barras de cada variedad identifican el primer corte, las barras 3 y 4 al primer retoño, las barras 5 y 6 al segundo retoño. En cada grupo de barras el sitio CS es primero, seguido del sitio P.

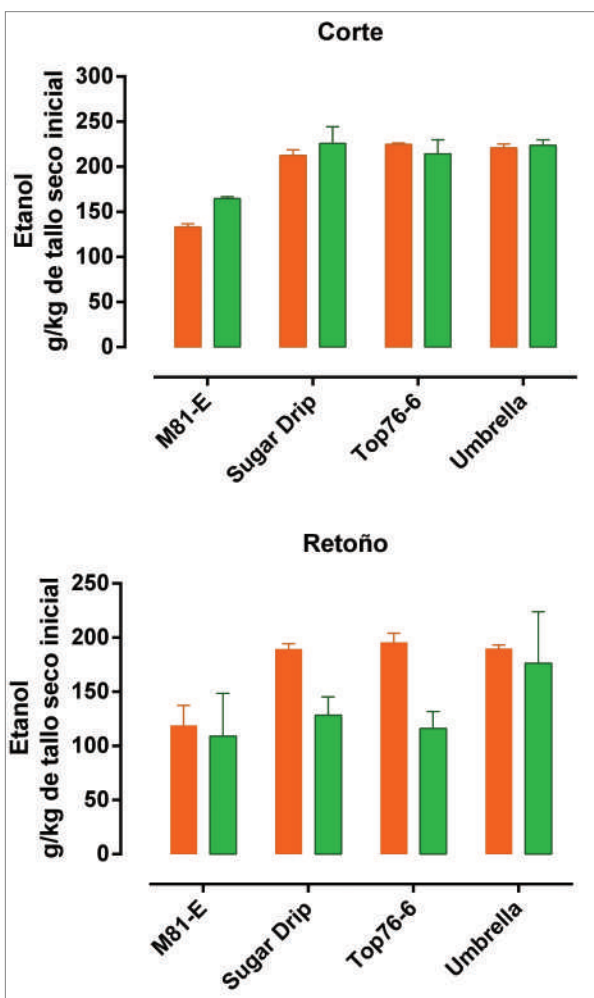
disminuyeron de nuevo drásticamente; debido principalmente a la baja productividad del tallo de ese corte, como anteriormente se informó.

Un ANDEVA realizado con los datos experimentales del primer corte y del primer retoño indicó que ni el corte, el año, el sitio o la variedad fueron significativos, aunque el año (F: 3.95; P: 0.0580) y la variedad (F: 2.64; P: 0.0718) estuvieron cerca de serlo. La variedad que mostró mayor productividad fue la Top 76-6 con cifras iguales a 5,285 Kg/ha por corte o 10.57 Mg/ha por año, de nuevo tomando en cuenta dos cortes al año.

La proporción de los azúcares individuales mostrados en el Cuadro 2 fueron diferentes tanto entre variedades, como entre sitios, cortes y año. La variación encontrada podría ser consecuencia de la diversidad genética entre variedades (Murray et al 2009; Wang et al 2009; Audilakshmi et al 2010; Pei et al 2010) y también ha sido reportada previamente (Teetor et al 2011). Es así, que el contenido de sacarosa informado ha oscilado entre 57 y 87 % del total de azúcares; la glucosa, que generalmente predomina sobre la fructosa, se ha encontrado en un intervalo entre el 13 y el 28 % (Curt et al 1995; 1998; Amaducci et al 2004; Sipos et al 2009; Audilakshmi et al 2010). La acumulación del azúcar en el tallo es un proceso regulado por varias enzimas (Qazi et al 2012; Yang et al 2013) y se conoce que una baja actividad de la enzima invertasa ácida soluble (SAI) acoplada a una alta actividad de la sacarosa fosfato sintasa (SPS) promueve altas concentraciones de azúcar en el tallo. Los autores encontraron una correlación lineal significativa entre la actividad SAI y el contenido de glucosa más fructosa de varias variedades de sorgo dulce; como también entre la diferencia de SPS y SAI y el contenido de glucosa más fructosa (Yang et al 2013). Estos hallazgos bioquímicos podrían sustentar también la variación en la proporción de azúcares.

Cuadro 2. Proporción de azúcares individuales expresados como el porcentaje redondeado de los azúcares totales.

| Variedad | Sitio P | | | | | | | | | | | |
|------------|----------|----|----|--------|----|----|----------|----|----|--------|----|----|
| | Año 2011 | | | | | | Año 2012 | | | | | |
| | Primero | | | Retoño | | | Primero | | | Retoño | | |
| | G | F | S | G | F | S | G | F | S | G | F | S |
| M81E | 28 | 24 | 47 | 21 | 8 | 71 | 12 | 8 | 80 | 17 | 10 | 73 |
| Sugar Drip | 33 | 19 | 48 | 21 | 24 | 55 | 12 | 6 | 82 | 8 | 5 | 87 |
| Top 76-6 | 25 | 21 | 54 | 14 | 13 | 73 | 10 | 6 | 84 | 10 | 6 | 84 |
| Umbrella | 37 | 29 | 34 | 22 | 19 | 59 | 12 | 7 | 81 | 10 | 7 | 83 |
| | SitioCS | | | | | | | | | | | |
| | Año 2011 | | | | | | Año 2012 | | | | | |
| | Primero | | | Retoño | | | Primero | | | Retoño | | |
| | G | F | S | G | F | S | G | F | S | G | F | S |
| M81E | 17 | 15 | 68 | 24 | 10 | 66 | 27 | 13 | 60 | 15 | 4 | 81 |
| Sugar Drip | 11 | 14 | 75 | 11 | 10 | 79 | 37 | 17 | 46 | 27 | 5 | 68 |
| Top 76-6 | 13 | 10 | 77 | 16 | 10 | 75 | 19 | 11 | 70 | 10 | 4 | 86 |
| Umbrella | 18 | 18 | 65 | 23 | 14 | 63 | 22 | 9 | 69 | 33 | 5 | 62 |



Gráfica 8. Producción de etanol en g por kg de tallo seco inicial para todas las variedades en los dos sitios en el año 2011 en muestras del primer corte y del segundo retoño. La primera barra de todos los casos corresponde al sitio P. La segunda barra al sitio CS.

Producción de etanol

Los datos experimentales de la producción de etanol con muestras del primer corte y del segundo retoño en el año 2011 se encuentran en la Gráfica 9. Puede observarse que para el primer corte la producción de etanol de las variedades Sugar Drip, Top 76-6 y Umbrella estuvo entre los 200 y 250 g por kg de tallo seco inicial en ambos sitios. Un ANDEVA de los datos del primer corte mostró diferencias significativas entre variedades (F: 29.20, P: 0.0001) pero no hubo diferencias en cuanto al sitio de experimentación o entre la interacción de ambas variables. Resalta en la gráfica que los datos experimentales con muestras del segundo retoño estuvieron por debajo de las anteriores en todos los casos. Un ANDEVA para estas muestras mostró diferencias significativas entre variedades (F: 5.44, P: 0.0247) y entre los sitios (F: 10.99, P: 0.01067) pero la interacción no fue significativa. La producción de etanol fue mayor para todas las variedades en el sitio P que en el sitio CS.

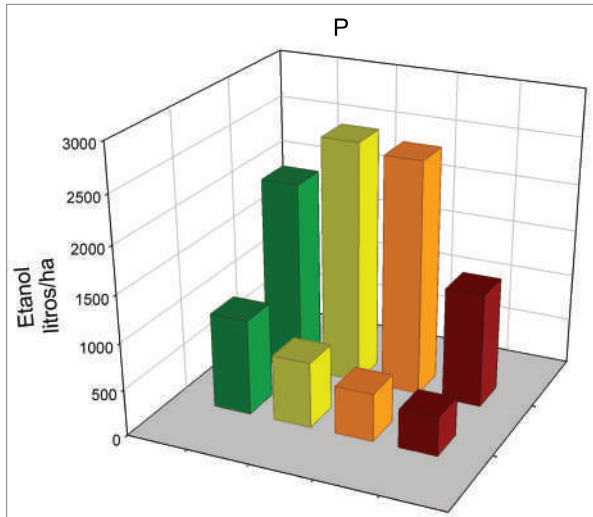
La concentración final de etanol en el frasco estuvo lo suficiente baja para evitar inhibición de la levadura. Por otro lado, el

consumo del azúcar inicial durante la fermentación estuvo entre 96 a 100 % y entre 85 al 95 % de la cantidad inicial para las muestras del primer corte y del segundo retoño respectivamente. Por lo tanto, las diferencias encontradas en la producción de etanol entre variedades pudo haberse originado por la presencia de inhibidores en ciertas variedades, como se ha sugerido recientemente (Ratnavathi et al 2010; Chohnan et al 2011). Se piensa que la variación de la proporción de los azúcares individuales entre las variedades y el sitio no influyó en la producción de etanol ya que se conoce el mecanismo de transporte que emplea la levadura para utilizarlos, en el cual, la glucosa es el azúcar preferido, la sacarosa se hidroliza en glucosa y fructosa en la membrana celular, los cuales se transportan luego al interior de la célula (Berthels et al 2004; Pérez et al 2005).

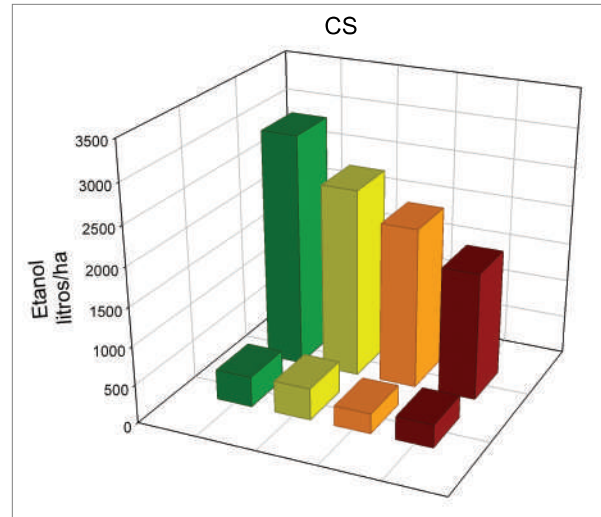
La productividad de etanol expresada en litros de etanol por ha puede calcularse de los datos anteriores. Los resultados se encuentran en las Gráficas 10 y 11. La disminución de la producción en el segundo retoño es evidente en ambos sitios experimentales.

Con las muestras del primer corte la producción promedio en ambos sitios fue mayor para Umbrella y Top 76-6 con 2,517 y 2,533 litros por ha aproximadamente. Varios autores han reportado datos de la productividad del etanol, aunque las mismas han sido estimadas de los datos experimentales de productividad del tallo y de su contenido de azúcar. La estimación se ha basado en factores de conversión generalmente obtenidos de la industria de la caña de azúcar y las destilerías anexas. Sin embargo las comparaciones son válidas y permiten confirmar los resultados acá reportados. Para las variedades Dale, M81E, Rio, Theis y Topper cosechadas a los 119 días las productividades estimadas fueron de 3,380, 2780, 3,000, 2,950 and 2,620 litros por ha (Tew et al 2008). Miller y Ottman (2010) reportaron valores entre 2,639 a 2,878 litros por ha para la variedad M81E. Un extenso programa con varias variedades reportó un valor promedio de 3,611 litros por ha (5.69 Mg de azúcar por ha)(Erickson et al 2011). Recientemente Dutra et al (2013) en Brazil, empleando las variedades Rio, Dale, Willey y Wray, obtuvieron cifras desde 949 hasta 2,066 litros por ha. Para híbridos desarrollados en India, cifras desde 925 hasta 1,440 litros por ha. Por el contrario, cuando se emplean molinos piloto sin presión auxiliar, ni jugo circulando en contracorriente, los datos son definitivamente más bajos por la incompleta extracción de los azúcares del tallo (Rutto et al 2013). Los ejemplos anteriores permiten comparar las productividades obtenidas en este trabajo con muestras del primer corte mostradas en las gráficas 12 y 13 y concluir que las mismas estuvieron dentro del mismo orden de magnitud.

No se han publicado datos de pruebas industriales de la producción de etanol de tallos de sorgo dulce. En Australia (Webster et al 2004) se informó de una extracción de azúcar entre 70 y 80 %, pero se enfatizó que la eficiencia podía incrementarse fácilmente realizando los ajustes mecánicos necesarios. En Zimbabwe (Woods 2001) se realizaron dos pruebas industriales con las variedades Keller y Cowley, obteniendo una productividad promedio de 3,000 litros de etanol por ha.



Gráfica 10. Productividad de etanol en L por ha para el sitio P



Gráfica 11. Productividad de etanol en L por ha para el sitio CS

Conclusiones

- De acuerdo con los resultados experimentales obtenidos puede decirse que en Guatemala variedades de sorgo dulce pueden ser sembradas a principios del año en la costa sur del país, obteniéndose una primera cosecha a los 96-106 días, y luego, un primer retoño a los 104-112 días. Los resultados mostraron que la productividad del tallo fresco fue similar para ambos cortes, pero dependía de la variedad considerada y el sitio. La variedad Top 76-6 tuvo la mayor productividad con un promedio redondeado de 47 Mg/ha por corte, lo cual equivaldría a 94 Mg/ha por año, considerando dos cortes. En todos los casos la cosecha del segundo retoño fue relativamente baja, posiblemente debido al ataque de plagas y microorganismos patógenos, estimulados por la intensidad de precipitación entre Julio y Octubre.
- La variedad Top 76-6 también mostró la mayor productividad de azúcar en ambos cortes, igual a 5,255 kg/ha por corte, equivalente a aproximadamente 11 Mg/ha por año, considerando dos cortes. La productividad del azúcar en el segundo retoño disminuyó en todos los casos debido a la baja productividad del tallo.
- La proporción de los azúcares individuales varió de acuerdo a la variedad, el sitio, el corte y el año.
- La producción de etanol expresada como g de etanol por kg de tallo seco estuvo entre 200 y 250 para las variedades Sugar Drip, Top 76-6 y Umbrella en el primer corte. Los datos correspondientes al segundo retoño fueron más bajos en todos los casos. La productividad del etanol expresada en litros de etanol por ha por corte fue mayor en las variedades Umbrella y Top 76-6 con cifras de 2,553 y 2,517,

respectivamente. Dada la similitud de productividad del tallo y del azúcar en las muestras del primer corte y del primer retoño, es posible extrapolar las cifras anteriores a 5,066 y 5,034 litros de etanol por ha por año para las variedades citadas.

Agradecimiento

El trabajo experimental fue financiado, en parte, por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) quien por medio del programa *Food for Progress 2010* (FFP10) financió la ejecución del presente estudio (Contrato OGS: FCC-520-2010/026-00) y por el proyecto FODECYT 009-2011 del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYT), Guatemala.

Bibliografía

- Almodares A, Darany SMM (2006) *Effects of planting date and time of nitrogen application on yield and sugar content of sweet sorghum* J Environ Biol **27**: 601-605
- Almodares A, Hadi MR (2009) *Production of bioethanol from sweet sorghum: A review* African J Agric Res **4**: 772-780
- Amaducci S, Monti A, Venturi G (2004) *Non-structural carbohydrates and fibre components in sweet and fibre sorghum as affected by low and normal input techniques* Ind Crops Prod **20**: 111-118
- Audilakshmi S, Mall AK, Swamalatha M, Seetharama N (2010) *Inheritance of sugar concentration in stalk (brix), sucrose content, stalk and juice yield in sorghum* Biomass Bioenerg **34**: 813-820
- Berthels NJ, Cordero-Otero RR, Bauer FF, Thevelein JM, Pretorius IS (2004) *Discrepancy in glucose and fructose utilisation during fermentation by Saccharomyces cerevisiae wine yeast strains* FEMS Yeast Res **4**: 683-689

- Blummel M, Rao SS, Palaniswami S, Shah L, Reddy BVS (2009) Evaluation of sweet sorghum used for bio-ethanol production in the context of optimizing whole plant utilization *Anim Nutr Feed Technol* **9**: 1-10
- Calviño M, J Messing (2012) Sweet sorghum as a model system for bioenergy crops *Curr Op Biotechnol* **23**: 323-329
- Chohan S, Nakane M, Rahman MH, Nitta Y, Yoshiura T, Ohta H, Kurusu Y (2011) Fuel ethanol production from sweet sorghum using repeated-batch fermentation *J Biosci Bioeng* **111**: 433-436
- Curt MD, Fernandez J, Martínez M (1995) Productivity and water use efficiency of sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) cv. Keller in relation to water regime *Biomass Bioenergy* **8**: 401-409
- Curt MD, Fernandez J, Martínez M (1998) Productivity and radiation use efficiency of sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) cv. Keller in central Spain *Biomass Bioenergy* **14**: 169-178
- Cutz L, Sánchez-Delgado S, Ruiz-Rivas U, Santana D (2013) Bioenergy production in Central America: Integration of sweet sorghum into sugar mills *Renew Sustain Energy Rev* **25**: 529-542
- Dicko MH, Gruppen, H, Traoré AS, Voragen AGJ, van Berkel WJH (2006) Sorghum grain as human food in Africa: relevance of content of starch and amylase activities *African J Biotechnol* **5**: 384-395
- Dutra ED, Barbosa Neto AG, Barros de Souza R, De Moraes Jr MA, Tabosa JN, Menezes RSC (2013) Ethanol production from the stem juice of different sweet sorghum cultivars in the state of Pernambuco, Northeast of Brazil *Sugar Tech* **15**: 316-321
- Erickson JE, Helsel ZR, Woodward KR, Vendramini JMB, Wang Y, Sollenberger LE, Gilbert RA (2011) Planting date affects biomass and brix of sweet sorghum grown for biofuel across Florida *Agr J* **103**:1827-1833
- Erickson JE, Woodard KR, Sollenberger LE (2012) Optimizing sweet sorghum production for biofuel in the Southeastern USA through nitrogen fertilization and top removal *Bioenergy Res* **5**: 86-94
- Ferraris R, Charles-Edwards DA (1986) A comparative analysis of the growth of sweet and forage sorghum crops. II Accumulation of soluble carbohydrates and nitrogen *Austr J Agric Res* **37**: 513-522
- Guigou M, Lareo C, Pérez LV, Lluberas ME, Vázquez D, Ferrari MD (2011) Bioethanol production from sweet sorghum: evaluation of post-harvest treatments on sugar extraction and fermentation *Biomass Bioenergy* **35**: 3058-3062
- Han KJ, Pitman WD, Alison MW, Harrell DL, Viator HP, McCormick ME, Gravois KA, Kim M, Day DF (2012) Agronomic considerations for sweet sorghum biofuel production in the south-central USA *Bioenergy Res* **5**: 748-758
- Lingle SE (2010) Opportunities and challenges of sweet sorghum as a feedstock for biofuel. In: Eggleston G, editor. Sustainability of the sugar and sugarethanol industries *American Chemical Society Symposium Series* **1058**: 177-188
- Miller AN, Ottman MJ (2010) Irrigation frequency effects on growth and ethanol yield in sweet sorghum *Agronomy J* **102**: 60-70
- Murray SC, Rooney WL, Hamblin MT, Mitchell SE, Kresovich S (2009) Sweet sorghum genetic diversity and association mapping for brix and height *The Plant Genome* **2**: 48-62
- Pei Z, Gao J, Chen Q, Wei J, Li Z, Luo F, et al (2010) Genetic diversity of elite sweet sorghum genotypes assessed by SSR markers *Biol Plantarum* **54**: 653-658
- Perez M, Luyten K, Michel R, Riou C, Blondin, B (2005) Analysis of *Saccharomyces cerevisiae* hexose carrier expression during wine fermentation: both low-and high-affinity Hxt transporters are expressed. *FEMS Yeast Res* **5**: 351-361
- Qazi HA, Paranjpe S, Bhargave S (2012) Stem sugar accumulation in sweet sorghum – Activity and expression of sucrose metabolizing enzymes and sucrose transporters *J Plant Physiol* **169**: 605-613
- Rajendran C, Ramamoorthy K, Backiyarani S (2000) Effect of deheading on juice quality characteristics and sugar yield of sweet sorghum *J. Agron Crop Sci* **185**: 23-26
- Rao SS, Patil JV, Umakanth AV, Mishra JS, Ratnavathi JV, Prasad GS, Rao RD (2013) Comparative performance of sweet sorghum hybrids and open pollinated varieties for millable stalk yield, biomass, sugar quality traits, grain yield and bioethanol production in tropical Indian conditions *Sugar Tech* **15**: 250-257
- Ratnavathi CV, Suresh K, Vijay Kumar BS, Pallavi M, Komala VV, Seetharama M (2010) Study on genotypic variation for ethanol production from sweet sorghum juice *Biomass Bioenergy* **34**: 947-952
- Rolz C, de León R (2010) Converting developing and mature sugarcane carbohydrates into ethanol *Eng Life Sci* **10**: 439-445
- Rolz C, de León R (2011) Ethanol fermentation from sugarcane at different maturities *Ind Crop Prod* **33**: 333-337
- Rooney WL, Blumenthal J, Bean B, Mullet JE (2007) Designing sorghum as a dedicated bioenergy feedstock *Biofuels Bioprod Bioref* **1**: 147-157
- Rutto LK, Xu Y, Brandt M, Ren S, Kering MK (2013) Juice, ethanol, and grain yield potential of five sweet sorghum cultivars *J Sustain Bioenergy Syst* **3**: 113-118
- Sipos B, Réczey J, Somorai Z, Kádár Z, Dienes D, Réczey K (2009) Sweet sorghum as feedstock for ethanol production: enzymatic hydrolysis of steam-pretreated bagasse *Appl Biochem Biotechnol* **153**: 151-162
- Smith GA, Bagby MO, Lewellan RT, Doney DL, Moore PH, Hills FJ, et al (1987) Evaluation of sweet sorghum for fermentable sugar production potential *Crop Sci* **27**: 788-793
- Teetor VH, Duclos DV, Wittenberg ET, Young KM, Chawhuaymark J, Riley MR, Ray DT (2011) Effects of planting date on sugar and ethanol yield of sweet sorghum grown in Arizona *Ind Crops Prod* **34**: 1293-1300
- Tew TL, Cobill RM, Richard EP (2008) Evaluation of sweet sorghum and sorghum x sudan grass hybrids as feedstocks for ethanol production *Bioenergy Res* **1**: 147-152
- Tsuhishashi N, Goto Y (2004) Cultivation of sweet sorghum and determination of its harvest time to make us as the raw material for fermentation, practice during rainy season of dry land of Indonesia *Plant Prod Sci* **7**: 442-448
- Tsuhishashi N, Goto Y (2005) Internode characteristics of sweet sorghum during dry and rainy seasons in Indonesia *Plant Prod Sci* **8**: 601-607
- Wang M, Xin Z, Tonnis B, Farrell G, Pinnow D, Chen Z, Davis J, Yu J, Hung YC, Pederson GA (2012) Evaluation of sweet sorghum as a feedstock by multiple harvests for sustainable bioenergy production *J Sustain Bioenergy Syst* **2**: 122-137
- Wang ML, Zhu Ch, Barkley NA, Chen Zh, Erpelding JE, Murray SC, et al (2009) Genetic diversity and population structure analysis of accessions in the US historic sweet sorghum collection *Theor Appl Genet* **120**: 13-23
- Webster AJ, Hoare CP, Sutherland RF, Keating BA (2004) Observations of the harvesting, transporting and trial crushing of sweet sorghum in a sugar mill *Proc. Aust. Soc. Sugar Cane Technol.* **26**: 2004 (las páginas no están numeradas)
- Woods J (2001) The potential for energy production using sweet sorghum in southern Africa *Energy Sus Dev* **5**: 31-38
- Xin Z, ML Wang (2011) Sorghum as a versatile feedstock for bioenergy production *Biofuels* **2**: 577-588
- Yang L, Bao-qing D, Xiang-na Z, Mei-qi Y, Ming L, Gui-ying L (2013) Correlation analysis between key enzyme activities and sugar content in sweet sorghum stems at physiological maturity stage *Aus J Crop Sci* **7**: 84-92
- Zegada-Lizarazu W, Monti A (2012) Are we ready to cultivate sweet sorghum as a bioenergy feedstock? A review on field management practices *Biomass Bioenergy* **40**: 1-12
- Zhao YL, Dolat A, Steinberger Y, Wang X, Osman A, Xie GH (2009) Biomass yield and changes in chemical composition of sweet sorghum cultivars grown for biofuel *Field Crops Res* **111**: 55-64