

Proceso alternativo para producir etanol de sorgo dulce en una fermentación al estado sólido

Carlos Rolz & Roberto de León

Centro de Ingeniería Bioquímica, Instituto de Investigaciones, Universidad del Valle de Guatemala.

RESUMEN: Se conceptualizó y se ensayo a escala de laboratorio una variante introducida en el proceso para producir etanol en una fermentación al estado sólido del tallo del sorgo dulce. Se obtuvo jugo al prensar a baja presión trozos obtenidos del tallo de sorgo dulce. El jugo se inoculó con levadura y se dejó fermentar parcialmente. Luego se adicionó de regreso a los sólidos prensados. La mezcla se dejó fermentar al estado sólido. La estrategia de inoculación empleada permitió una distribución homogénea de la levadura. En 48 h de fermentación al estado sólido en un recipiente estático se produjo aproximadamente 10g por 100 mL de etanol dentro de la matriz sólida del trozo. Se consumieron aproximadamente 85 % de los azúcares iniciales, y la levadura empleó en forma simultánea la sacarosa y la glucosa con un menor consumo de la fructosa. A esta variante se le ha denominado: doble prensado con fermentación intermedia al estado sólido.

PALABRAS CLAVE: Sorgo dulce, etanol, fermentación al estado sólido.

Solid state fermentation of sweet sorghum to ethanol by a modified technique

ABSTRACT: A solid substrate process for producing ethanol from sweet sorghum stalk was proposed and tested at the laboratory scale. Juice was obtained by pressing previously obtained small segments of the stalk. The juice was inoculated with yeast and partially fermented before adding it back to the pressed solids. The mixture was left for further fermentation. At the end the solids were pressed. The technique assured a homogenous yeast distribution within the solid matrix. In 48 h approximately 10g of ethanol per 100 mL were produced within the solid matrix and 85% of the sugars initially present were consumed. Sucrose and glucose were utilized simultaneously and fructose lagged behind. The technique was denominated as double pressing with intermediate solid substrate fermentation.

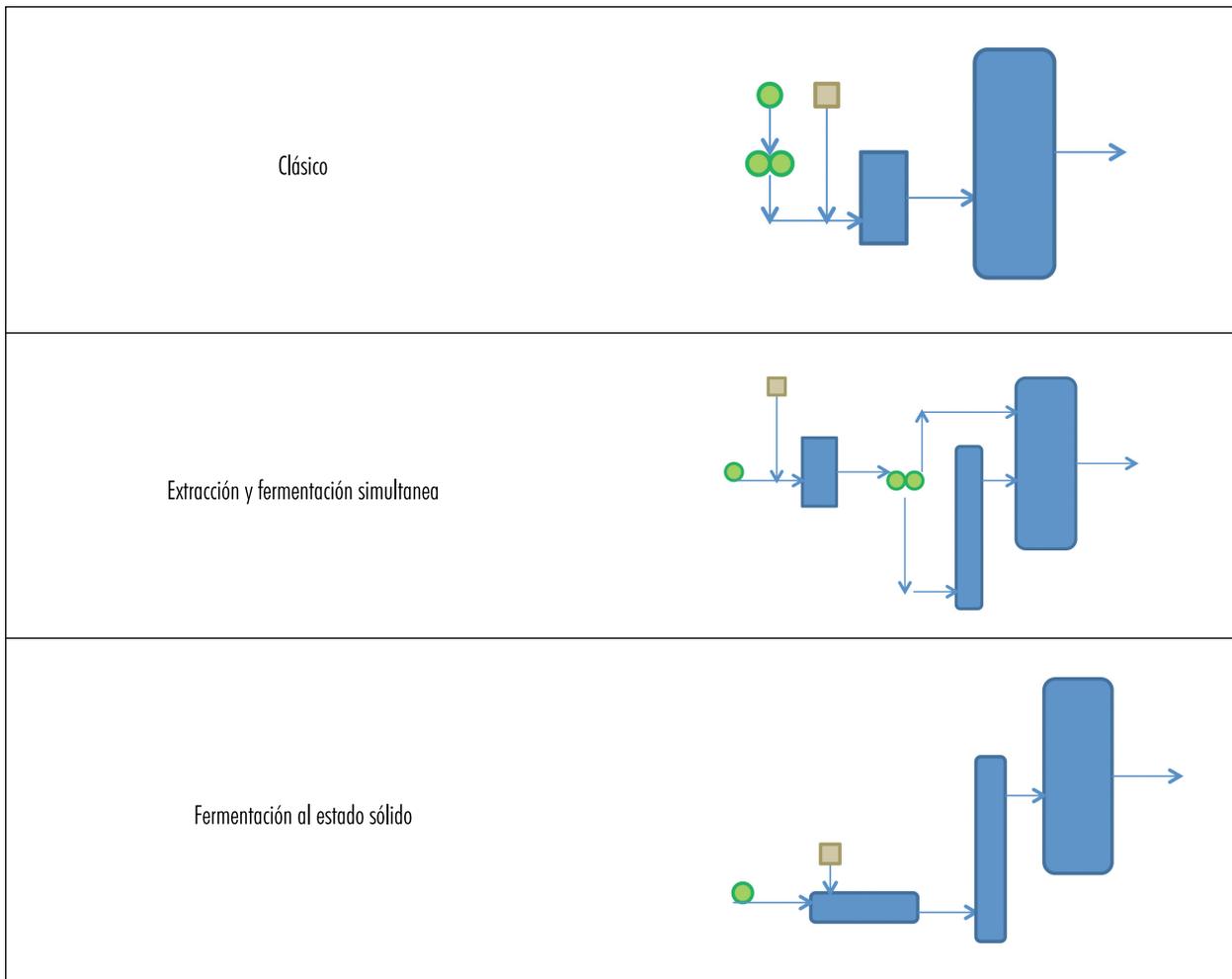
KEY WORDS: Sweet sorghum, ethanol, solid substrate fermentation.

Introducción

Existen tres procesos diferentes para transformar a etanol los azúcares contenidos en tallos de plantas como la caña de azúcar y el sorgo dulce. El proceso clásico, en el cual se extraen los azúcares del tallo en una tanda de molinos rotatorios en serie con una circulación de una mezcla de agua y jugo en contracorriente. La eficiencia de extracción para la caña de azúcar está alrededor del 90-93 %. Luego, se adiciona levadura al jugo y los azúcares se convierten a etanol en un fermentador. Las plantas comerciales utilizan esta tecnología, produciendo en el fermentador un mosto con una concentración de etanol entre 8 al 10 % (p/v) en 36 a 48 h. El etanol se purifica por medio de un tren de torres de destilación.

El proceso de extracción y fermentación simultánea, en donde, primero, el tallo se reduce a partículas pequeñas, luego se adicionan a un fermentador que contiene agua y levadura en una proporción tal que las partículas quedan sumergidas. Durante la fermentación el azúcar se extrae por difusión y la levadura convierte los azúcares a etanol (Rolz & de León, 2010, 2011). Debido a que siempre existe un diferencial de concentración de azúcar entre la matriz sólida y el medio acuoso, la extracción de los azúcares, en un tiempo de 24 a 36 h, puede llegar a valores cercanos al 98 %. Se separan las partículas agotadas de azúcar del mosto por prensado. El mosto se envía al sistema de destilación con una concentración de etanol entre 4 a 5 % (p/v). Los sólidos se agotan de etanol por un flujo de CO₂, el cual se inyecta a la torre de destilación previa condensación. No existe un sistema comercial o piloto empleando esta tecnología.

El tercer proceso consiste en reducir el tallo a partículas pequeñas por molienda, luego se le agrega una suspensión de levadura en la superficie generalmente empleando aspersión, en proporción tal, que no se genera una fase líquida en el fermentador. El etanol se genera dentro de la matriz de las partículas sólidas. Las partículas ya sin azúcar se agotan de etanol empleando, de nuevo, un flujo de CO₂, el cual se condensa y se envía al sistema de purificación por destilación. En China se encuentra en funcionamiento una planta piloto en la cual se ha logrado producir en 40 h de fermentación un condensado final



Gráfica 1. Procesos para transformar los azúcares contenidos en tallos de plantas como la caña de azúcar y el sorgo dulce en etanol. En *color verde*: molinos para reducir el tamaño de los tallos y posterior prensado. En *color café*: inóculo de levadura. En *color azul*: fermentador, agotador del etanol en los sólidos por medio de un flujo de CO₂, y sistema de destilación.

conteniendo aproximadamente 11 % de etanol (p/v) con un rendimiento de conversión del 89 % del teórico (Chen & He, 2012).

Los diagramas de bloques ilustrados en la gráfica 1 resumen las tres alternativas de proceso anteriormente aludidas.

Al tercer proceso, en donde no existe una fase líquida en el fermentador, se le conoce en términos generales como una fermentación o cultivo al estado sólido (Doelle et al, 1992). El objetivo principal del mismo es el de evitar agregar agua al sistema y diluir por lo tanto el etanol producido (Couto, 2005, 2008; Bhargav et al, 2008; Singhania et al, 2009). Sin embargo, existen dos valedades que conviene resaltar. El primero, es la reducción del tamaño de la partícula del tallo a procesar, la cual debe ser muy pequeña para que la levadura adicionada tenga acceso al azúcar presente. Lo anterior implica que es fundamental la manera de aplicar la levadura al sólido. Por otro lado, un tamaño muy fino de partícula implicaría una densidad aparente menor y por lo tanto el tamaño del reactor aumentaría desproporcionadamente. Significa entonces que debe determinarse para cada materia prima el tamaño óptimo

de partícula. El segundo, se refiere al reactor mismo, el cual debe disponer de un sistema de agitación de la masa sólida, no solo con el propósito de homogeneizarla, sino también para remover la energía térmica generada por el carácter exotérmico de la fermentación. Si lo anterior no funciona, la temperatura podría llegar a valores dañinos para la propia levadura.

La fermentación al estado sólido de partículas del tallo del sorgo dulce se ha llevado a cabo en una escala pequeña con éxito por varios investigadores en el pasado y la producción de etanol ha sido aceptable. Kargi y Cume (1985) informan de los resultados obtenidos al utilizar un fermentador rotatorio con deflectores internos. La concentración final de etanol lograda fue de 9.6 g/100 g de mosto en 70 h, operando a 1 rpm, con un rendimiento de etanol del 80 % del teórico. Los autores también exploraron la posibilidad de remover una parte del agua de las partículas por secado encontrando que una humedad de 70 % era apropiado (Kargi et al, 1985). Gibbons et al (1986) publicaron resultados de la operación de un reactor semi continuo, consistente en un tornillo transportador horizontal, obteniendo un rendimiento de etanol de 0.43 o sea un 85 % del teórico con un tiempo de residencia de 72 h y un contenido

de etanol de 4.7 % (p/v). Un rendimiento de etanol parecido fue informado por Bryan (1990) utilizando lechos empacados de partículas de sorgo con un volumen de 7 litros, obteniendo una concentración final de etanol de 6.1 % (p/v) en aproximadamente 60 h. El autor encontró que 0.2 % (p/p) de levadura adicionada era óptima.

Dos trabajos recientes empleando frascos a escala de laboratorio estudiaron los efectos del tamaño de partícula, la proporción de levadura empleada, la humedad de las partículas y la temperatura: Yu et al (2008) encontraron, 0.5 a 1.5 mm, 4.6 por 10⁶ por g, y 75 % de humedad respectivamente; Shen y Liu (2009) por su parte, 0.9 a 1.6 mm, 0.25 % de levadura (p/p), 76 % de humedad y un rango de temperaturas entre 35 y 40 °C, respectivamente. Por otro lado, Wang et al, (2010) operaron un reactor tubular rotatorio de 5,000 litros obteniendo un rendimiento de etanol de 0.42 con un consumo de azúcares de 94 % en 20 h. Las partículas de sorgo fermentadas se sometían a una destilación por inyección de vapor, obteniendo un condensado con una concentración de etanol de 22 a 31 % (p/p). Así mismo, Kwon et al (2011) emplearon una levadura termo tolerante que permitió operar un lecho empacado de 10 L de volumen empleando partículas de sorgo entre 1.5 a 2.0 mm, obtuvieron un rendimiento de 0.25 g de etanol por g secos de partículas, equivalente a 0.46 g etanol por g de azúcar. Finalmente, Molaverdi et al (2013) utilizaron el hongo *Mucor indicus* para producir etanol de partículas de sorgo de 80 mesh y 80 % de humedad, consumiendo el total de azúcares en 48 h, con un rendimiento de etanol de 0.48.

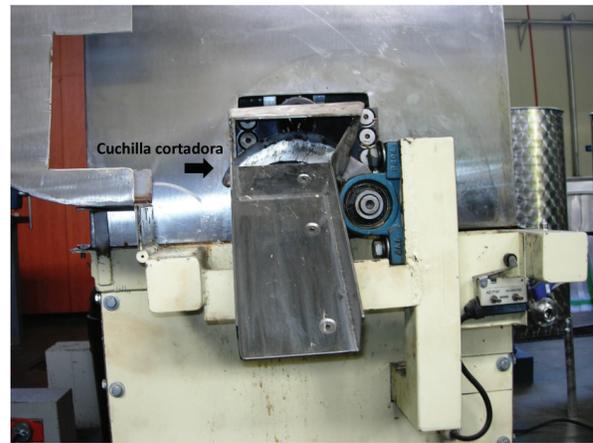
A continuación se presentan resultados experimentales de una variante de la fermentación al estado sólido de partículas de variedades de sorgo dulce. La modificación propuesta está dirigida a lograr un mejor contacto de la levadura con la superficie del sólido con el objetivo de acelerar la fermentación y lograr un mayor consumo de los azúcares presentes.

Métodos experimentales

Se realizaron dos pruebas con muestras de variedades de sorgo dulce cultivadas en Campo Sur UVG, Santa Lucía Cotzumalguapa, Escuintla en el año 2012. En ambas pruebas se emplearon tallos del primer corte realizado en Julio. En la primera prueba se utilizó la variedad Top 76-6. En la segunda, tallos provenientes de una mezcla en proporciones similares de las variedades, Pampa Tanol II, Sugar Drip, Top 76-6 y Umbrella. Los tallos se enviaron el mismo día del corte al Campo Central de UVG en ciudad de Guatemala en donde se almacenaron a -10 °C.

Los tallos se descongelaron durante la noche y se cortaron en pequeñas secciones o trozos. La cortadora provista de una cuchilla giratoria fue fabricada en el país. En las gráficas 2 y 3 se muestra la cortadora y los trozos producidos.

Los trozos se prensaron, en la prueba 1, empleando un molino de tres rodos dentados con un motor de 1 HP; en la prueba 2, utilizando una prensa Carver, obteniéndose en ambos casos el jugo prensado y los sólidos residuales. Se determinó el peso y



Gráfica 2. Cortadora de cuchillas



Gráfica 3. Trozos de sorgo dulce de aproximadamente 2 cm de diámetro y 3 cm de largo. Notar que en algunas secciones la cortadora removió la cáscara

la humedad de los trozos antes y después del prensado. Se determinó el peso del jugo extraído, el volumen y los grados Brix. En los sólidos prensados y en el jugo se determinaron los azúcares como más adelante se describe. En la primera prueba, al jugo extraído se le adicionaron 14 mL (aproximadamente un 10% del volumen del jugo extraído) de una suspensión de levadura con una densidad óptica de 1.67, e inmediatamente se adicionó sobre la superficie de los sólidos colocados previamente en un recipiente de plástico de boca ancha, tal como se muestra en la gráfica 4. En la segunda prueba, se agregaron al jugo prensado 35 mL (aproximadamente un 10% del volumen del jugo extraído) de una suspensión de levadura con una densidad óptica de 1.69 y la mezcla se dejó fermentar en forma estática por 16 h a 30 °C. Luego se procedió vertiendo el jugo en fermentación activa sobre la superficie de los sólidos. En ambas pruebas, la fermentación al estado sólido se llevó a cabo en un período de 48 h, sin agitación alguna, colocando el recipiente en una incubadora a 30 °C.



Gráfica 4. Fermentación al estado sólido de trozos prensados de sorgo dulce, vista lateral y superior del recipiente utilizado

En la segunda prueba, periódicamente se tomaron al azar trozos en fermentación del recipiente, los cuales se prensaron manualmente empleando una jeringa de 20 mL. En el jugo obtenido se determinaron los azúcares y el contenido de etanol. Finalizado el período, los sólidos se volvieron a prensar, recuperando el mosto alcohólico y los sólidos agotados de azúcar.

La levadura utilizada en los ensayos fue una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* disponible comercialmente y empleada en las destilerías del país. Se creció en 125 mL de jugo de sorgo dulce, previamente extraído y esterilizado por 20 min a 121 °C, en un frasco de 250 mL y con agitación de 250 rpm a 30 °C por 48 h (*Incubator Shaker Lab Companion Model SI-600*). Luego, la suspensión se centrifugó a 4,000 rpm y 10 °C (*Eppendorf Table-top Refrigerated Centrifuge Model 5804R*). El sólido se suspendió en agua deionizada y se determinó la densidad óptica. Los azúcares se determinaron empleando un cromatógrafo líquido de alta presión *Agilent 1200*, con un detector de índice de refracción, 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. Para extraer los azúcares de los trozos se procedió 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 dejó enfriar. La suspensión se filtró con ayuda de vacío empleando papel filtro *Whatman 1004-110*. En el filtrado se determinaron los azúcares.

Resultados

El contenido de azúcares de la variedad Top 76-6 utilizada en la primera prueba fue de 12.0 % y 47.1 % en base húmeda y seca respectivamente. La mezcla de variedades de sorgo empleada en la segunda prueba mostró 10.0 % en base húmeda y 35.8 % en base seca. La distribución de los diferentes azúcares se encuentra en el cuadro 1.

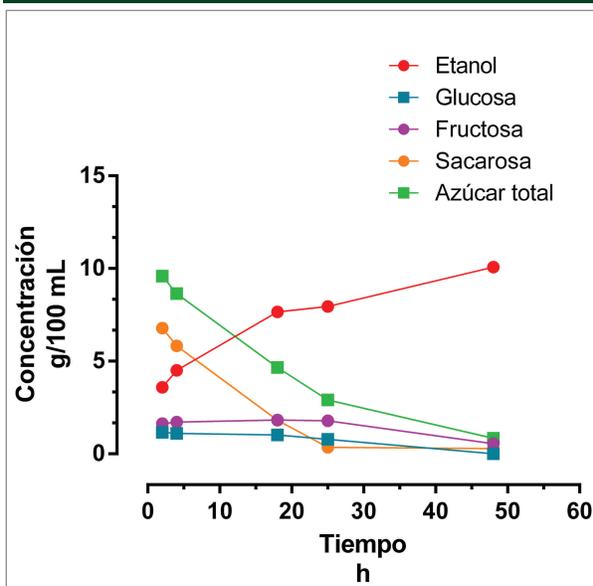
El balance de masa y de azúcares totales en el prensado de los trozos se observa en el cuadro 2.

Cuadro 1. Distribución de azúcares en los trozos expresados como % del azúcar total

Prueba	Sacarosa	Glucosa	Fructosa	Reductores/Sacarosa
1	72.84	11.70	15.46	0.37
2	79.76	14.18	6.06	0.25

Cuadro 2: Balance de masa del prensado de los trozos en las dos pruebas. El peso y los azúcares están expresados en gramos. Los valores entre paréntesis indican el porcentaje que representan las fracciones

	Prueba 1		Prueba 2	
	Peso, g (%)	Azúcares, g (%)	Peso, g (%)	Azúcares, g (%)
Sólidos iniciales (74.48 % humedad)	778.0 (100.0)	93.5 (100)	590.0 (100.0)	52.9 (100)
Sólidos prensados (72.87 % humedad)	629.0 (80.8)	68.4 (73.2)	221.0 (37.5)	17.0 (32.1)
Jugo extraído	149.0 (19.2)	25.1 (26.8)	369.0 (62.5)	35.9 (67.9)



Gráfica 5. Tendencias de la producción de etanol y el consumo de azúcares respecto al tiempo

En la primera prueba de fermentación el contenido de etanol en el jugo prensado al final de la fermentación, es decir, después de 48 h, fue de 8.90 g/100 mL y el contenido de azúcares totales de 6.35 g/100mL. Durante la fermentación se consumió el 78.44 % de los azúcares disponibles en los trozos. El rendimiento de etanol fue de 0.55 con respecto a los azúcares consumidos. A pesar de haber obtenido un contenido de etanol aceptable, el consumo de azúcares resultó relativamente bajo.

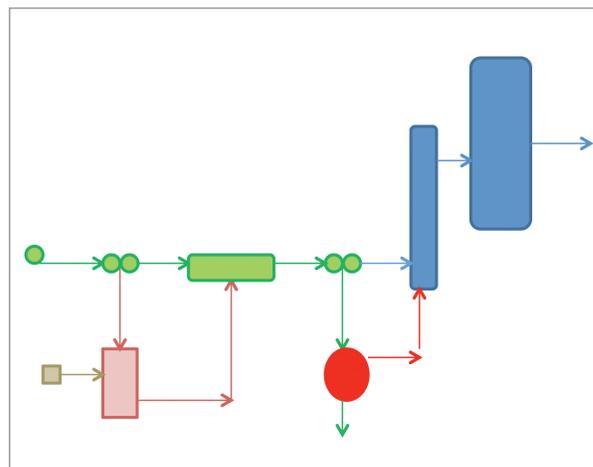
En la segunda prueba se adicionó el jugo extraído y fermentado por aparte en forma parcial con el objetivo de aumentar el consumo de azúcares. Además se cuantificaron los cambios del etanol producido y de los azúcares consumidos con respecto al tiempo de fermentación. Los datos experimentales se encuentran en la gráfica 5.

Se consumió el 84.69 % de los azúcares contenidos inicialmente en los sólidos. El rendimiento de etanol respecto a los azúcares consumidos fue de 0.56.

Discusión

Los resultados obtenidos del contenido de azúcar de los tallos de las variedades de sorgo dulce y la humedad fueron similares a datos obtenidos en el año 2009 en el mismo sitio (Rolz Asturias et al, 2009).

Es bien conocido (Lingle et al. 2012) que los tallos del sorgo dulce tienen en la maduración más azúcares reductores que la caña de azúcar, por lo que los datos de composición mostrados en el cuadro 1 fueron los esperados. Es común, también, encontrar diferencias entre variedades para la proporción de azúcares reductores de los tallos al madurar (Teeter et al 2011). Por ejemplo, el contenido de sacarosa, expresado como un porcentaje de los azúcares totales, se ha informado que oscila



Gráfica 6. Conceptualización del proceso alterno: doble prensado con fermentación al estado sólido. En *color verde*: reducción del tallo a trozos, prensado a baja presión de los trozos, fermentar al estado sólido y prensado de los trozos fermentados. En *color pardo*: inóculo de levadura. En *color corinto*: fermentación parcial del jugo prensado, adición del jugo en fermentación al reactor al estado sólido. En *color rojo*: agotador de etanol de los sólidos prensados por inyección de vapor. En *color azul*: sistema de destilación.

entre 57 a 87, un intervalo amplio, y el de glucosa, que predomina sobre la fructosa, varía entre 13 a 28 % (Curt et al. 1995; Amaducci et al. 2004; Sipos et al. 2009). Por alguna razón que no puede explicarse la muestra de sorgo dulce de la prueba 1 resultó con un contenido mayor de fructosa que el de glucosa.

El balance de masa durante el prensado que se mostró en el cuadro 2 presenta el efecto significativo de la presión ejercida por el equipo de prensado, El molino de tres rodillos de laboratorio indiscutiblemente ejerció una presión por debajo de aquella generada en la prensa Carver, que fue alrededor de 18 kg fuerza por cm². El resultado fue que con la prensa aproximadamente se aumentó tres veces más la cantidad de jugo y azúcares extraídos.

Agregar el jugo en fermentación a los trozos prensados resultó en un mayor consumo de los azúcares totales durante la fermentación al estado sólido en comparación con agregar el jugo inmediatamente luego de ser inoculado. Se consumieron aproximadamente un 85 % de los mismos en 48 h de proceso. Así mismo, se logró una concentración de etanol en el jugo dentro del sólido de aproximadamente 10g por 100 mL, un valor atractivo al considerar el costo de la concentración del etanol por destilación corriente abajo en el proceso.

Las tendencias mostradas en la gráfica 5 fueron las esperadas: a) una tasa de producción de etanol y de consumo de azúcar mayor al inicio del proceso, podría decirse hasta las 20-24 h, b) el consumo simultáneo de la sacarosa y la glucosa y c) un menor consumo de la fructosa.

El valor del rendimiento de 0.56, calculado como el cociente del etanol producido por la cantidad de azúcar consumida, estuvo ligeramente arriba del valor teórico del metabolismo, el cual es igual a 0.51. Sin duda lo anterior se debió a pérdidas de material durante el prensado.

La variante introducida en el proceso, la cual se denominará como la de un doble prensado con fermentación intermedia al estado sólido, resultó funcional y mostró alta producción de etanol y consumo de los azúcares iniciales. El concepto se visualiza en la gráfica 6.

Sin embargo, surgen como consecuencia de la experimentación, las interrogantes siguientes:

- ¿Qué tamaño de partícula es el más apropiado con el objeto de reducir el tiempo de fermentación y aumentar el consumo de azúcares?
- ¿Cuál es el tiempo óptimo de la fermentación del jugo prensado?
- ¿Qué se hace con los sólidos prensados durante ese tiempo? ¿Podrían deshidratarse levemente con el propósito de aumentar la concentración de etanol al final de la fermentación?

Las preguntas anteriores tendrán que responderse continuando con el desarrollo de la propuesta.

Conclusión

Se ha comprobado experimentalmente que la adición de levadura a trozos del tallo de sorgo dulce puede realizarse en forma homogénea y rápida por medio del jugo en fermentación activa obtenido previamente en un prensado a baja presión. En 48 h de fermentación al estado sólido en un recipiente estático se produjo aproximadamente 10g por 100 mL de etanol dentro de la matriz sólida del trozo. Se consumieron aproximadamente 85 % de los azúcares iniciales, y la levadura empleó en forma simultánea la sacarosa y la glucosa con un menor consumo de la fructosa.

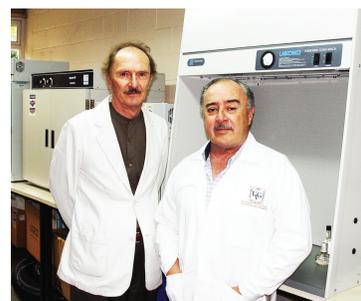
Agradecimiento

Se agradece el trabajo analítico realizado por Ana Luisa Mendizabal de Montenegro. La invaluable ayuda de Carlos Arias para realizar las pruebas. Al personal técnico y profesional del Laboratorio de Operaciones Unitarias del Departamento de Ingeniería Química por su colaboración.

Bibliografía

- 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
- Bhargav S, Panda BP, Ali M, Javed S (2008) *Solid-state Fermentation: An Overview* Chem Biochem Eng Q **22**: 49-70
- Bryan WL (1990) *Solid-state fermentation of sugars in sweet sorghum* Enz Microb Technol **12**: 437-442
- Couto SR (2008) *Exploitation of biological wastes for the production of value-added products under solid-state fermentation conditions* Biotechnol J **3**: 859-870
- Couto SR, Sanroman MA (2005) *Application of solid-state fermentation to ligninolytic enzyme production* Biochem Eng J **22**: 211-219

- Curt MD, Fernández J, Martínez M (1995) *Productivity and water use efficiency of sweet sorghum (Sorghum bicolor (L.) Moench) cv. "Keller" in relation to water regime* Biomass Bioenerg **8**: 401-409
- Chen H-z, He Q (2012) *Value-added bioconversion of biomass by solid-state fermentation* J Chem Technol Biotechnol **67**: 1619-1625
- Doelle H, Mitchell DA, Rolz CE (1992) *Solid substrate cultivation* Elsevier Applied Science, London & New York
- Gibbons WR, Westby CA, Dobbs TL (1986) *Intermediate-Scale, Semicontinuous Solid-Phase Fermentation Process for Production of Fuel Ethanol from Sweet Sorghum* Appl Environ Microbiol **51**: 115-122
- Kargi F, Curme JA, Sheehan JJ (1985) *Solid-state fermentation of sweet sorghum to ethanol* Biotechnol Bioeng **27**: 34-40
- Kargi F, Curme JA (1985) *Solid-state fermentation of sweet sorghum to ethanol in a rotary-drum fermentor* Biotechnol Bioeng **27**: 1122-1125
- Kwon Y-J, Wang F, Liu C-Z (2011) *Deep-bed solid state fermentation of sweet sorghum stalk to ethanol by thermotolerant Issatchenkia orientalis IPE 100* Biores Technol **102**: 11262-11265
- Lingle SE, Tew TL, Rukavina H, Boykin DL (2012) *Post-harvest Changes in Sweet Sorghum I: Brix and Sugars* Bioenerg Res **5**: 158-167
- Molaverdi M, Karimi K, Khanahmadi M, Goshadro A (2013) *Enhanced sweet sorghum stalk to ethanol by fungus Mucor indicus using solid state fermentation followed by simultaneous saccharification and fermentation* Ind Crops Prod **49**: 580-585
- 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 Crops Prod **33**: 333-337
- Rolz Asturias C, Cifuentes R, de León R, Prado de Micheo F (2010) *Evaluación de variedades de sorgo dulce para la producción de etanol* Rev Univ del Valle No **22**: 39-51
- Shen F, Liu R (2009) *Research on solid-state ethanol fermentation using dry sweet sorghum stalk particles with active dry yeast* Energ Fuels **23**: 519-525
- Singhania RR, Patel AK, Soccol SR, Pandey A (2009) *Recent advances in solid-state fermentation* Biochem Eng J **44**: 13-18
- Sipos B, Reczey J, Somorai Z, Kadar Z, Dienes D, Reczey K (2009) *Sweet Sorghum as Feedstock for Ethanol Production: Enzymatic Hydrolysis of Steam-Pretreated Bagasse* Appl Biochem Biotechnol **153**: 151-162
- Teetor VH, Duclous DV, Wittenberg ET, Young KM, Chawhuaymak 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
- Wang E-Q., Li S-Z, Tao L, Geng X, Li T-C (2010) *Modeling of rotating drum bioreactor for anaerobic solid-state fermentation* Appl Energ **87**: 2839-2845
- Yu J, Xu Z, Tan T (2008) *Ethanol production by solid state fermentation of sweet sorghum using thermotolerant yeast strain* Fuel Proc Technol **89**: 1056-1059



(de izquierda a derecha)

Carlos Rolz
carlosrolz@uvg.edu.gt

Roberto De León
ldeleon@uvg.edu.gt