

ESTUDIO DE DESTOXIFICACIÓN EN HIDROLIZADOS ÁCIDOS DE PIÑA DE AGAVE *Tequilana weber* VARIEDAD AZUL CULTIVADO EN EL ESTADO DE TAMAULIPAS, MÉXICO

Olivares-Cantú K. I.^{a*}, Téllez Luis S. J.^b, Rodríguez Castillejos G.C.^a, Palos Pizarro I.^b, Nieto M.E.^b, Cuarenta Obrajero J.^b, Castillo Ruíz O.

^a Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa Aztlán, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Departamento de Biotecnología, calle 16 y Lago Chapala, Col. Aztlán, C.P. 88740, Reynosa, Tamaulipas, México.

^b Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa Rodhe, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Departamento de Biotecnología, Carr. Reynosa-San Fernando, cruce con canal Rodhe, Col. Arcoíris, C.P. 88779, Reynosa, Tamaulipas, México.

*karen_olivares@live.com.mx

RESUMEN:

El Agave azul *tequilana weber*, es una especie originaria de México, utilizada para la elaboración de Tequila. Tamaulipas cuenta con certificado de Denominación de Origen tequila (DOT) en 11 municipios y ocupa el segundo lugar a nivel nacional en la producción de agave, según SAGARPA este cultivo ocupa el cuarto lugar a nivel estatal con una superficie sembrada de 5, 565.39 hectáreas en el año del 2013. Debido a que en el estado no se cuenta con la misma tecnología que tiene el estado de Jalisco para la producción de agave, se han producido pérdidas debido a la presencia de enfermedades en la planta, la cual es un problema de gran impacto ecológico y monetario. Por tal motivo se realizó un estudio en el cual se busca aprovechar los jugos de la piña del agave rico en azúcares, obteniéndolos mediante hidrólisis ácida con ácido fosfórico y eliminando los furfurales y ácido acético, mediante la destoxificación del jugo, aumentando su pH con carbonato de calcio a 7 y 5.5 y agregando tres concentraciones de carbón activo (2, 2.5 y 3%) a 30°C, 200 rpm por 60 minutos. El jugo obtenido se puede utilizar como sustrato para obtención de aditivos mediante fermentaciones.

ABSTRACT:

Agave azul *tequilana weber*, is a species native to México, used in the manufacture of Tequila. Tamaulipas has certificate of Denomination of Origin Tequila (DOT) in 11 municipalities and ranks second nationally in the production of agave, according to SAGARPA this crop ranks fourth at the State level with a sown area of 5, 565.39 hectares in the year of 2013. Because the state does not have the same technology that has the state of Jalisco for the production of agave, there have been lost due to the presence of disease on the plant, which is a problem great ecological and monetary impact. For that reason a study was conducted was study in the which seek to take advantage of the juices of the stem's agave rich in sugars, obtaining them by acid hydrolysis with phosphoric acid and removing furfural, acetic acid and ethanol by detoxification juice, increasing its pH with calcium carbonate to 7 and 5.5 and adding three concentrations of coal active (2, 2.5 and 3%) at 30 ° C, 200 rpm for 60 minutes. The obtained juice was used as substrate for fermentation of microorganisms.

Palabras clave:

Agave, destoxificación, carbón activo.

Keyword:

Agave, detoxification, coal active.

Área: Microbiología y biotecnología.

INTRODUCCIÓN

Los agaves son uno de los grupos vegetales más representativos de México. Su importancia va desde su valor ecológico y económico, hasta su aspecto cultural (Domínguez *et al.*, 2008). El género agave se considera originario de México, donde se encuentran 272 de las 310 especies reportadas, con 135 especies endémicas. Varias de las especies son económicamente importantes, entre ellas el Agave *tequilana weber azul*, el cual constituye la materia prima para la producción del tequila (Montañez *et al.*, 2011).

En México la producción de agave azul está regida por una Norma Internacional llamada “Denominación de Origen Tequila”, la cual determina las regiones donde se puede producir con el fin de proteger la comercialización y la calidad del producto. SAGARPA (2009) menciona que las regiones incluyen 124 municipios de Jalisco, 7 de Guanajuato, 29 de Michoacán, 8 de Nayarit y 11 de Tamaulipas.

Tamaulipas es el segundo productor de agave y se han identificado 20 especies, donde la mayor superficie cosechada es de especies del grupo Americana. Desde hace 25 años que se cultiva agave dentro del estado, comprendido por 11 municipios, entre los principales municipios están Aldama, Altamira, Antiguo de Morelos, Gómez Farías, González, Llera, Mante, Nuevo Morelos, Ocampo y Tula1 (Molina, 2010), todos nombrados con denominación de origen en producción de tequila (SAGARPA, 2009). Actualmente se tienen registros de una superficie sembrada de 9,040 hectáreas, teniendo una producción total de 16,760 toneladas al año.

Molina menciona en un estudio que realizó en el año 2013, que el cultivo de agave no ha tenido los beneficios previstos, ya que este se ve afectado por plagas, piratería, y proyectos no realizados, es por eso que se tienen como proyectos innovadores la obtención de ácido láctico, utilizando como sustrato los azúcares del agave. Según Pineda (2014), debido a la indiferencia del Consejo Regulador del Tequila y la SAGARPA (2012) cerca de 5 mil hectáreas de agave están en riesgo de perderse y con ello la inversión de diez años de cultivo de los productores de Tamaulipas.

En este sentido, la biotecnología vegetal puede aportar herramientas valiosas que permitan el mejor aprovechamiento de estas plantas y aseguren al mismo tiempo su conservación (Domínguez *et al.*, 2008). La producción de jugos ricos en azúcares y su aprovechamiento como sustrato de microorganismos fermentadores abren un panorama agradable para el desarrollo de aditivos alimentarios.

La obtención de azúcares de agave se realiza mediante hidrólisis ácida, la cual utiliza como tecnología limpia el carbón activo. El carbón activado es un material poroso de carbón, que contribuye en las labores de emisiones (Gómez *et al.*, 2010), suele prepararse por carbonización y activación de materiales de muy diverso origen, tales como carbones minerales, maderas, etcétera, y se caracteriza por sus propiedades adsorbentes y catalíticas. El carbón activado es ampliamente utilizado como adsorbente de gases, vapores y solutos en una disolución.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima:

Las muestras de piña de agave se obtuvieron del rancho “El Cautín” en el municipio de ciudad Mante al sur del estado de Tamaulipas.

La piña se cortó en trozos pequeños, se hidrolizó con ácido fosfórico y se determinaron los azúcares (glucosa, fructosa) y compuestos de degradación (furfural y ácido acético). Para la determinación de los azúcares se realizaron curvas de calibración para utilizar la ecuación de la recta, como se muestran en la figura 1 y 2; se realizó un análisis antes y después de la destoxificación con el equipo HPLC Modelo Hewlett Packard Series 1100 y columna IC Sep ICE-ION 300 part No. ICE-99-9850 para azúcares y para análisis de furfural Espectrofotómetro UV-1800 Shimadzu UV-Spectrophotometer.

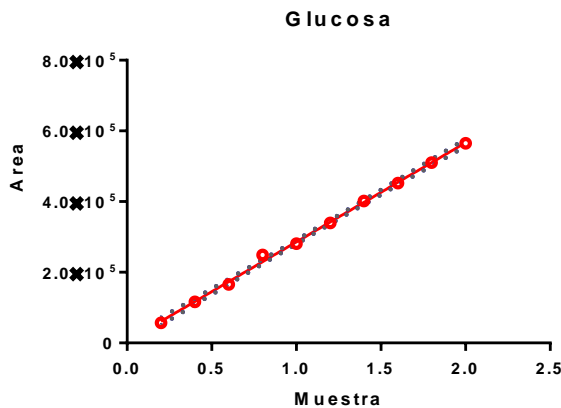


Figura 1. Curva de calibración de Glucosa.

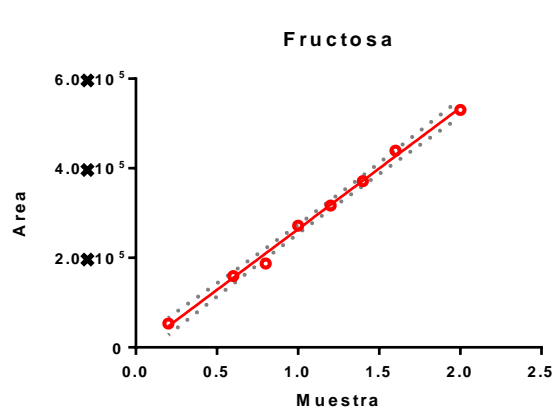


Figura 2. Curva de calibración de Fructosa.

La gráfica de glucosa se obtiene una ecuación de $Y = 281122 \cdot X + 4597$, con el 95% de intervalos de confianza, y un valor de $r^2 = 0.99$ y un valor de $P < 0.0001$. Mientras que en la Figura 2 se muestra la curva de calibración de fructosa con ecuación de $Y = 271199 \cdot X - 7197$, con el 95% de intervalos de confianza, y un valor de $r^2 = 0.99$ y un valor de $p < 0.0001$.

Destoxificación:

Al jugo de piña del agave (con pH inicial de 1.86) fue adicionado con Carbonato de calcio ($CaCO_3$) suficiente para elevación de pH, y en caso de disminución fue con ácido fosfórico. Los tratamientos se muestran en la tabla I, el cual muestra las condiciones de cada tratamiento por triplicado.

Tabla I. Tratamientos para la destoxificación.

Condiciones	Tratamientos					
	Tx 1	Tx 2	Tx 3	Tx 4	Tx 5	Tx 6
pH	7 a 5.5	7 a 5.5	7 a 5.5	5.5	5.5	5.5
Carbón activo (%)	2	2.5	3	2	2.5	3
Minutos	60	60	60	60	60	60
Temperatura (°C)	30	30	30	30	30	30
Revoluciones por minuto (rpm)	200	200	200	200	200	200

Las muestras se depositaron en matraces Erlenmeyer de 250 ml con 50 ml de hidrolizado cada uno, adicionado con carbón. La muestra de cada matraz fue filtrada con filtro poro chico Whatman No.2, centrifugada a 5000 rpm por 10 minutos para eliminar cualquier partícula de carbón activo y posteriormente se analizó en HPLC y Espectrofotómetro para su análisis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Hidrolizado:

El hidrolizado de agave fue analizado en HPLC para determinar los azúcares totales y comenzar la destoxificación en base a los datos obtenidos en la Tabla II:

Tabla II: Análisis de azúcares de hidrolizado de agave.

Fructosa	Glucosa	Ácido acético	Furfural
133.5 ±2.68	10.90 ±0.33	0.56 ±0.3	0.19 ±0.01

Destoxificación pH 7 a 5.5:

En la tabla III se puede observar los primeros tratamientos los cuales fueron sometidos a una elevación del pH de 1.86 a 7 con carbonato de calcio y disminuido a 5.5 con ácido fosfórico.

Tabla III. Destoxificación de hidrolizado de piña de agave a pH 7 a 5.5.

Carbón activo	Fructosa (g/L)	Glucosa (g/L)	Ácido acético (g/L)	Furfural (g/L)
Tx 1 (2%)	130.48 ±8.2	9.76 ±2.14	0.37	0.09 ±0.003
Tx 2 (2.5%)	124.77 ±14.55	7.08 ±4.13	0.14	0.01 ±0.04
Tx (3%)	133.56 ±10.86	11.12 ±0.88	0.11	0.08 ±0.003

Destoxificación pH 5.5:

En la tabla IV se muestran los resultados de la destoxificación en donde fueron analizados los tratamientos Tx 4, 5 y 6. Estos tratamientos solo fueron elevados de pH 1.86 a 5.5, sin utilizar grandes cantidades de carbonato de calcio ni ácido fosfórico.

Tabla IV. Destoxificación de hidrolizados de pina de agave a pH 5.5.

Carbón activo	Fructosa (g/L)	Glucosa (g/L)	Ácido acético (g/L)	Furfural (g/L)
Tx 4 (2%)	132.17 ±4.14	7.69 ±3.98	0.19	0.09 ±0.001
Tx 5 (2.5%)	131.18 ±6.52	10.56 ±1.2	0.15	0.08 ±0.006
Tx 6 (3%)	136.07 ±9.62	136.07 ±1.61	0.30	0.14 ±0.03

En este estudio, el mejor tratamiento es el Tx 5, ya que con esta condición ya no se gasta una cantidad elevada de carbonato de calcio para elevar pH 7 (se ahorra carbonato de calcio hasta 40%), no hay mucha pérdida de líquido (20-30% más) y aparte el objetivo se cumple ya que no hay mucha pérdida de azúcares y si hay eliminación de productos de degradación como ácido acético y furfural, en estudios comparativos Viñals *et al.*, (2006) destoxificaron hidrolizados de bagazo de caña de azúcar, siendo su condición óptima el neutralizar el hidrolizado con carbonato de calcio comercial, disminuir el pH a 5.5 con ácido fosfórico y utilizar las condiciones de 2.4% de carbón activo a 30 °C, 300 rpm por 60 minutos, esta condiciones le ayudaron para la remoción de furfural e hidroximetilfurfural, también para la remoción de ácido acético y color indeseable. Vizcaíno (2012), en la destoxificación de hidrolizados de bagazo de caña de azúcar

en Brasil, obtuvieron que las condiciones óptimas para la destoxificación fueron el neutralizar el hidrolizado con carbonato de calcio y posteriormente acidificar el medio a pH de 5.5 con ácido fosfórico, al sobrenadante agregarle 2.5% de carbón activo, 200 rpm a 30 °C por 60 minutos, estas mismas que les ayudaron para eliminar los compuestos de furfural, hidroximetilfurfural, ácido acético y eliminación de color, Herazo *et al.*, (2011), en un estudio de hidrolizado de cascarilla de arroz, se obtuvieron mejores resultados al someter el medio hidrolizado, utilizando 2.5% de carbón activo a 200 rpm y 30 °C por 60 minutos.

En la figura 3 se muestran los cambios que sufrió el hidrolizado de la piña de agave durante el proceso de destoxificación, donde se observa el color amarillo del hidrolizado de piña de agave en el número 1, el numero 2 muestra el hidrolizado con partículas de carbón activo y el numero 3 es el hidrolizado ya centrifugado y filtrado para remover el carbón y así tener un jugo rico en azúcares.

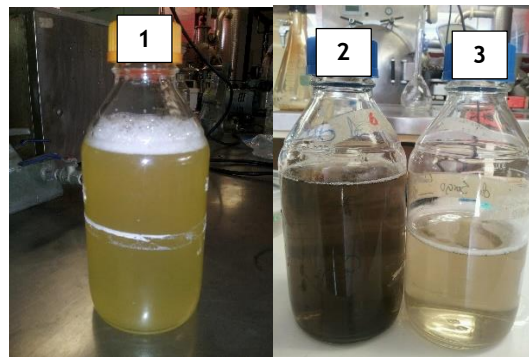


Figura 3. Destoxificación final del hidrolizado acido de agave.

CONCLUSIONES

Debido a la gran cantidad de azúcares que se pueden obtener del Agave *Tequilana weber* var. *Azul* cultivado en el estado de Tamaulipas, y a la deficiencia de tecnologías para aprovecharlo, es necesario buscar alternativas para darle un nuevo uso a las ventajas que tiene este tipo de cultivo industrial, el cual es utilizado para elaboración de tequila.

El estudio realizado da una opción para aprovechar parte de la cosecha (la cual no está destinada a la producción de tequila), y obtener jugos ricos en fructosa y glucosa para aprovecharlos como sustrato para elaboración de fermentaciones con diferentes microorganismos, mismos que pueden ayudar a producir aditivos alimentarios como por ejemplo ácido láctico, xilitol, transglutaminasa y etanol, entre otros, todo esto mediante procesos económicos, accesibles y sin dañar el medio ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

Domínguez Rosales MS, González Jiménez M, Rosales Gómez C, Quiñones Valles C, Díaz de León S, Mireles Ordaz SJ, Pérez Molphe Balch E. 2008. El cultivo in vitro como herramienta para el aprovechamiento, mejoramiento y conservación de especies del género Agave. *Investigación y Ciencia de Aguascalientes* No. 41 (53-62).

- Gómez A, Klose W, Rincón S. 2010. Carbón activado de cuesco de palma: estudio de termogravimetría y estructura. Kassel University press GmbH.
- Gómez Flores AD. 2012. Comparación del rendimiento de madera de eucalipto y olote de maíz, como biomasa residual rica en hemicelulosa, para la obtención de xilitol por medio de fermentación con levadura del tipo *Saccharomyces cerevisiae*. Universidad San Carlos de Guatemala Facultad de Ingeniería Química. Tesis.
- Herazo Camaño IC, Ruiz Cárdenas D, Arrazola Paternina GS. 2011. Utilización de *Candida guilliermondii* aislada del corozo chiquito (*Bactris guineensis*) en la producción de xilitol. Revista Colombiana de Biotecnología, Vol. 13, No. 1. Pp. 52-57.
- Molina V. 2010. Tamaulipas segundo lugar en producción de Agave. Noticia. <http://www.hoytamaulipas.net/notas/20119/Tamaulipas-segundo-lugar-en-produccion-de-agave.html>
- Molina V. 2013. Amenaza plaga siembra de agave. Periódico La verdad de Tamaulipas. Link: http://laverdad.com.mx/desplegar_noticia.php?seccion=LOCAL¬a=119332
- Montañez J, Victoria J, Flores R, Vivar M. 2011. Fermentación de los fructanos del agave *tequilana weber azul* por *Zymomonas mobilis* y *Saccharomyces cerevisiae* en la producción de bioetanol. Revista Scielo. Información Tecnológica. Vol. 22, No. 6, ISSN 0718-0764.
- Pineda C. 2014. Se perderán 5 mil has. De agave en Tamaulipas. Noticiero de Victoria. Link: <http://www.noticierodevictoria.com/web/se-perderan-5-mil-has-de-agave-en-tamaulipas/>
- SAGARPA, Financiera Rural. 2009. Producción de Tequila en México. Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica y Análisis Sectorial. Link: <http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/Monograf%C3%ADas%20Anteriores/Monograf%C3%ADaTequila%282009%29LC.pdf>
- SAGARPA. 2012. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Cultivo Agave. Link: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>
- Viñals Verde M, Maciel de Mancilha M, Bautista de Almeida e Silva J, Nápoles Solenzar AI. 2006. Métodos de purificación de bagazo de caña de azúcar para la obtención de Xilitol. Revista Ciencia y Tecnología Alimentaria. Vol. 5, No. 002, pp. 129-134.
- Vizcaíno Guerrero E. 2012. Producción biotecnológica de etanol por *Spataspora arborariae* UFMG-HM19.1A a partir de hidrolizado de bagazo de caña de azúcar destoxificado. UAT-UAMRA. Tesis de Maestría. Reynosa, Tamaulipas.