

**UCLV**  
Universidad Central  
"Marta Abreu" de Las Villas



**FQF**  
Facultad de  
Química y Farmacia

## Departamento de Ingeniería Química

### TRABAJO DE DIPLOMA

**Título:** Metodología para la evaluación de la actividad microbiológica en un tándem de molinos. Caso de estudio UEB Melanio Hernández.

Autor: Marianely Portell Martín

Tutores: Ms. C. Yania Correa Cortés

Dr. C. Luis Andrés Gómez Rodríguez

**UCLV**  
Universidad Central  
"Marta Abreu" de Las Villas



**FQF**  
Facultad de  
Química y Farmacia

## Departament of Chemical Engineering

### DIPLOMA THESIS

Title: Methodology for the evaluation of the microbiological activity in a tandem of mills. Case study UEB Melanio Hernández

Author: Marianely Portell Martín

Thesis Director: Ms. C. Yania Correa Cortés

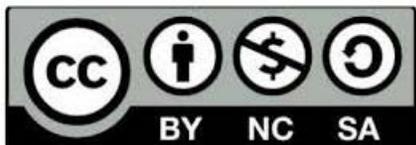
Dr. C. Luis Andrés Gómez Rodríguez

Santa Clara  
Copyright©UCLV

Este documento es Propiedad Patrimonial de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, y se encuentra depositado en los fondos de la Biblioteca Universitaria “Chiqui Gómez Lubian” subordinada a la Dirección de Información Científico Técnica de la mencionada casa de altos estudios.

Se autoriza su utilización bajo la licencia siguiente:

**Atribución- No Comercial- Compartir Igual**



Para cualquier información contacte con:

Dirección de Información Científico Técnica. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Carretera a Camajuaní. Km 5½. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP. 54 830

Teléfonos.: +53 01 42281503-1419

## **Pensamiento**

*Debe evitarse hablar a los jóvenes del éxito como si se tratara del principal objetivo en la vida, la razón más importante para trabajar en la escuela y en la vida es el placer de trabajar, el placer de su resultado y el conocimiento del valor del resultado para la comunidad.*

*Albert Einstein*

## **Dedicatoria**

Hay personas que solo con existir hacen de nuestras vidas un sendero feliz.

Dedico este triunfo, con todo el amor que se merecen:

- A mis abuelos, aunque no estén, porque no puedo estar más agradecida de todo el amor y el apoyo que me brindaron en todas mis etapas de estudio.
- A mis padres, por darme la fuerza, el apoyo incondicional, el amor y el cariño que siempre he necesitado para seguir adelante en todos mis proyectos de vida.
- A mi tío Pedro por siempre estar corriendo detrás de mí con su paciencia infinita y a mi abuela Leonor que siempre ha estado cuando la necesito.
- A mis hermanos, por ser niños tan especiales y de tan grandes sentimientos. Espero ser un ejemplo a seguir para ellos.

## Agradecimientos

Las buenas personas nunca llegan prometiendo; siempre llegan demostrando. Son esas en las que debes confiar y a las que debes cuidar; y es precisamente a esas personas a las que les quiero agradecer por haberme apoyado a lo largo de este camino:

- Un especial agradecimiento, a mi tutora Yania, por brindarme todo su apoyo y conocimiento.
- A mi profe Omar que siempre me ha guiado y ha estado presente en la mayoría de mis proyectos brindándome toda su paciencia y experiencia.
- A mi padrastro William, por su cariño incondicional y por haberme tomado desde pequeña como su hija.
- A Osmari que a pesar de no ser parte de su familia me acogió como una hija más y me apoyó en todo el desarrollo de este proyecto.
- A mi buen vecino Fidel por su confianza y por haberme brindado todos sus conocimientos.
- A todo el Departamento de Ingeniería por ser personas tan profesionales.
- A los trabajadores del Central Melanio Hernández: Leidy Laura, Melissa, Lilita, Figueroa que me acogieron como un miembro más de su colectivo.
- A los trabajadores del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología: Enriquito y Duniesky por su apoyo en la recopilación de los datos necesarios para la realización de este proyecto.
- A todas las personas que me estiman y que sienten suyo este logro, incluso a los que no me estiman también porque fortalecieron perseverancia en mí. Por lo mucho que los aprecio, les brindo mi más sincero agradecimiento.

“A todas muchas gracias”

## Resumen

Se presentan los resultados y las oportunidades de la aplicación de un sistema integrado de control microbiológico que incluye el monitoreo en caña y molinos. El objetivo de este trabajo es desarrollar una metodología analítica con la que es posible realizar un muestreo representativo para cuantificar la actividad microbiológica en los jugos extraídos en molinos, y determinar si existe un incremento de la actividad microbiológica que pueda causar pérdidas de sacarosa.

Entre los principales resultados figuran que el sistema se ha desarrollado con el soporte de la integración de tres métodos de control microbianos basados en la acción de los microorganismos como son: la prueba de la resazurina en su forma modificada, la prueba de la fermentación espontánea y la determinación de dextrana en jugos, cuyo integración se propuso para lograr más fiabilidad, sencillez, precisión, y sobre todo, p su viabilidad y disposición para usarlo de forma operativa en las áreas de la fábrica.

Esta metodología se aplicó en la UEB Melanio Hernández, la información se obtuvo de la revisión de documentos y el análisis de datos reportados por el centro en la zafra del 2020-2021. Se demostró a partir de análisis estadístico que las principales causas de contaminación en los molinos de la UEB Melanio Hernández son ocasionadas por el deterioro de la materia prima debido al tiempo prolongado entre el corte y la molienda. Este análisis permitió dar paso a la propuesta de medidas para la prevención, minimización y control de la contaminación en la etapa de extracción del jugo.

En general, se implementa un sistema que permite orientar técnica y objetivamente los procesos y las decisiones operativas y estratégicas para disminuir la actividad microbiana y sus nefastas consecuencias para la industria.

## **Abstract**

The results and opportunities of the application of an integrated microbiological control system that includes monitoring in sugarcane and mills are presented. The objective of this work is to develop an analytical methodology with which it is possible to carry out a representative sampling to quantify the microbiological activity in the juices extracted in mills, and to determine if there is an increase in the microbiological activity that may cause sucrose losses. Among the main results are that the system has been developed with the support of the integration of three microbial control methods based on the action of microorganisms, such as: the test of resazurin in its modified form, the test of spontaneous fermentation and the determination of dextran in juices, whose integration was proposed to achieve more reliability, simplicity, precision, and above all, its viability and readiness to use it operatively in the factory areas. This methodology was applied in the UEB Melanio Hernández, the information was obtained from the review of documents and the analysis of data reported by the center in the 2020-2021 harvest. It was demonstrated from statistical analysis that the main causes of contamination in the mills of the UEB Melanio Hernández are caused by the deterioration of the raw material due to the long time between cutting and grinding. This analysis allowed to give way to the proposal of measures for the prevention, minimization and control of contamination in the juice extraction stage. In general, a system is implemented that allows to technically and objectively guide the processes and operational and strategic decisions to reduce microbial activity and its dire consequences for the industry.

# Índice

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO 1: MARCO TEÓRICO REFERENCIAL DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>4</b>
<b>1.1 Generalidades de la industria azucarera</b> .....	<b>5</b>
1.1.1 Proceso de producción de azúcar crudo.....	6
<b>1.2 Microorganismos contaminantes presentes en el proceso de producción de azúcar</b> .....	<b>8</b>
1.2.1 Bacterias ácido lácticas .....	8
1.2.2 Bacterias termófilas .....	9
1.2.3 Bacterias productoras de exopolisacáridos .....	10
1.2.4 Levaduras .....	10
<b>1.3 Biota de los jugos de caña y la acción que ejercen estos sobre el mismo</b> .....	<b>11</b>
<b>1.4 Atraso de la caña y su importancia económica. Influencia de los sistemas de cosecha</b> .	<b>12</b>
<b>1.5 Deterioro del azúcar crudo y pérdidas de sacarosa</b> .....	<b>13</b>
1.5.1 Pérdidas físicas.....	14
1.5.2 Pérdidas por destrucción de sacarosa .....	14
<b>1.6 Subproductos indicadores del deterioro de la sacarosa</b> .....	<b>15</b>
1.6.1 Azúcares reductores.....	15
1.6.2 Polisacáridos .....	15
1.6.3 Dextrana.....	16
1.6.4 Levana.....	17
1.6.5 Ácido láctico.....	18
1.6.6 Manitol .....	18
1.6.7 Almidón.....	19
<b>1.7 Indicadores de contaminación microbiana en las etapas del proceso</b> .....	<b>19</b>
1.7.1 Caída del Pol.....	20
1.7.2 Caída de pureza.....	20
1.7.3 Incremento del contenido de azúcares reductores.....	21
1.7.4 Incremento del coeficiente glucósico .....	21
<b>1.8 Métodos de control basados en la actividad microbiana</b> .....	<b>21</b>
1.8.1 Método de la resazurina .....	22
1.8.2 Método de la fermentación espontánea .....	22
1.8.3 Método de determinación de dextrana en los jugos.....	23
<b>1.9 Eliminación de las actividades microbianas en la fábrica de azúcar</b> .....	<b>23</b>
1.9.1 Eliminación o disminución de las acciones microbianas en caña cortada no molida .....	24
1.9.2 Lucha contra la contaminación en la sección de extracción de jugos .....	24
<b>1.10 Conclusiones parciales</b> .....	<b>26</b>

<b>CAPÍTULO 2: METODOLOGÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD MICROBIOLÓGICA EN UN TÁNDEM DE MOLINOS .....</b>	<b>27</b>
2.1 Prueba de la resazurina .....	29
2.2 Determinación de dextrana en jugos .....	30
2.3 Prueba de la fermentación espontánea .....	30
2.1 Conclusiones parciales .....	32
<b>CAPÍTULO 3: APLICACIÓN DE LA METODOLOGÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD MICROBIOLÓGICA EN UN TÁNDEM DE MOLINOS. CASO DE ESTUDIO UEB MELANIO HERNÁNDEZ .....</b>	<b>33</b>
3.1 Diagnóstico sobre la calidad de la materia prima y de las condiciones higiénicas en la sección de extracción .....	33
3.1.1 Comportamiento promedio del diagnóstico sobre la calidad de la materia prima y de las condiciones higiénicas en la sección de extracción.....	39
3.1.1 Ejemplo de cálculo de las pérdidas de azúcar por la acción de los microorganismos en los molinos. 41	
3.2 Propuesta de medidas para la prevención, minimización y control de la contaminación en las primeras etapas del proceso de producción de azúcar crudo. ....	45
3.3 Conclusiones parciales .....	47
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>49</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>50</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>51</b>

## Introducción

A nivel mundial y en lo particular, Cuba posee una rica tradición de más de cuatro siglos en la producción de azúcar de caña, que la avala como gran productora de esta gramínea a nivel mundial y es en la actualidad esta exuberante planta, la que ocupa el mayor uso de la tierra cultivable del país por lo que constituye una de las fuentes principales de alimentación para el hombre, además del amplio uso que tienen los productos derivados a partir de procesos industriales de este cultivo de acuerdo a (Rossi 2008)

La fabricación de azúcar crudo en Cuba, se lleva a cabo mediante la obtención de sacarosa a partir de la caña de azúcar. El proceso se inicia en la estación de los molinos cuando es extraído el jugo que contiene la caña, es en esta etapa de la tecnología del proceso del azúcar donde la actividad microbiológica es más pronunciada. Las características fisicoquímicas del jugo de la caña hacen de él un medio adecuado para el desarrollo de una gran variedad de microorganismos.

En la producción de azúcar, la calidad y la cantidad de sacarosa recuperada depende de factores que van desde la planta en el campo hasta la elaboración de los cristales de azúcar en fábrica. Condiciones de clima, humedad, suelo, disponibilidad de agua y nutrientes, variedades, enfermedades, plagas, prácticas agronómicas y agrícolas son componentes que afectan el cultivo; en fábrica, la eficiencia y rendimiento se relacionan con balances en el sistema, que influyen en la recuperación de la sacarosa.(Serrano 2006)

Las pérdidas de sacarosa se relacionan principalmente con dos factores, las pérdidas físicas, donde prácticas operacionales salen de control y pueden desencadenar derrames de los materiales y las pérdidas por destrucción de sacarosa que, aunque son menos perceptibles a simple vista que las pérdidas físicas, a menudo son mayores. La destrucción de sacarosa puede presentarse de tres formas: inversión ácida, inversión por enzimas propias de la caña e infección microbiológica, donde en esta última, por inversión, los microorganismos consumen la sacarosa para producir una variedad de productos propios de su metabolismo. (Rein 2012)

Es por ello que resulta de vital importancia el control estricto de la acción de los microorganismos en la etapa de extracción del jugo de la caña, es decir en la estación de los molinos ya que en ellos se puede regular el contenido bacteriológico presente en los jugos de caña que afectan directamente el rendimiento de los azúcares cristalizables. Por ello se han desarrollado un gran número de investigaciones enfocadas a disminuir las pérdidas de

sacarosa en el desarrollo de la producción de azúcar. Trabajos realizados en el mundo y en Cuba, relacionan las pérdidas de sacarosa, en gran parte a la formación de metabolitos no deseados producidos por microorganismos contaminantes.

Ya ha sido demostrado que indicadores tradicionales como la caída de pureza, el incremento del coeficiente glucósico, glucobrix o reductores, no son medidas confiables de este fenómeno, incluso pueden indicar valores en el sentido contrario de lo que está realmente sucediendo. Mientras, otras técnicas más confiables para medir la densidad microbiológica o sus efectos, son demasiado complicadas o caras para aplicarlas en un control microbiológico sistemático como lo demanda la industria (Hernández and Sainz 1987). En las últimas décadas del siglo pasado se comenzó a trabajar en la industria azucarera cubana para desarrollar técnicas analíticas confiables, sencillas y baratas que fueran viables en condiciones fabriles y aptas como indicadores para acciones operativas puntuales que permitan tomar decisiones estratégicas acertadas basándose en sus resultados.

**Problema científico:**

No se dispone de una metodología que integre y organice todos los procedimientos para la determinación de la presencia de microorganismos causantes de contaminación en los molinos, garanticen su detección y la toma de medidas para evitar problemas fabriles y reducir pérdidas económicas.

**Hipótesis de la investigación:**

Si se aplica una metodología para la evaluación de la actividad microbiana en los molinos es posible establecer acciones para la reducción de las pérdidas en el proceso e incrementar la calidad del azúcar.

**Objetivo general:**

Proponer una metodología para evaluar la actividad microbiana en el tándem de molinos en un central azucarero.

**Objetivos específicos:**

- Realizar una revisión bibliográfica sobre los efectos que trae consigo la acción de los microorganismos en la industria azucarera.
- Elaborar una metodología para la evaluación de la actividad microbiológica en un tándem de molinos.

- Aplicar la metodología propuesta para determinar el grado de contaminación por acción total de los microorganismos y la cuantificación de la sacarosa degradada, en un caso de estudio: UEB Melanio Hernández.

## Capítulo 1: Marco teórico referencial de la investigación

Uno de los principales problemas tanto en las plantas de fabricación de azúcar como de alcohol carburante, es la contaminación microbiana, cuya producción de metabolitos es causada por una innumerable variedad y cantidad de microorganismos presentes en la caña desde el campo hasta la fábrica. En la fábrica de azúcar, como consecuencia de la actividad microbiana, se produce inversión de sacarosa y la consecuente formación de compuestos como ácidos orgánicos, CO<sub>2</sub>, etanol, manitol o el polisacárido dextrana, que es sintetizado por bacterias del género *Leuconostoc* spp., el cual es uno de los microorganismos causante de la mayor contaminación de la industria azucarera al igual que las levaduras. (Mora, Rincón et al. 2009) Estos microorganismos ocasionan problemas en la producción, al reducirse el potencial de transformación de azúcares, la presencia de los metabolitos producidos determinan las características físico químicas de los jugos obtenidos e influyen en el desarrollo de la etapa de elaboración (Serrano 2006), disminuyen el pH, producen componentes coloreados y permanecen en el proceso afectando la calidad de subproductos posteriores al tener todos ellos un efecto melazigénico, es decir, que arrastran sacarosa con ellos a las melazas; por esta razón los subproductos metabólicos son tomados como indicadores directos de las pérdidas de sacarosa en el proceso.

Autores como (Honig 1969) y (Cerutti de Guglielmo, Diez et al. 2000) reportan que las condiciones favorables para el crecimiento y proliferación de microorganismos se encuentran limitadas a la etapa de extracción de jugo, debido a que las condiciones extremas de temperatura y actividad acuosa durante la etapa de elaboración de azúcar no son óptimas para el crecimiento de los microorganismos. Sin embargo, en recuentos de rutina que se realizan en los ingenios diariamente se han encontrado microorganismos termorresistentes y osmofílicos durante ésta etapa de producción de azúcar. (Daza, Martínez et al. 2009)

Existen pocos estudios acerca de la diversidad microbiana presente en los procesos de azúcar relacionados con la identificación (género-especie) de microorganismos contaminantes. Dichas investigaciones caracterizan los microorganismos contaminantes por técnicas convencionales, como lo son técnicas bioquímicas y morfológicas las cuales muestran ubicaciones taxonómicas erróneas. (www.cenicana.org/pop\_up/fabrica/diagrama\_obtencion.php 2004)

En este capítulo se analizan los conceptos fundamentales de la microbiología de la caña de azúcar, así como la del proceso de producción de azúcar crudo y las variantes de control

microbiológico. De igual manera, se hace un estudio descriptivo de los referentes teóricos del objeto de estudio de la investigación.

### 1.1 Generalidades de la industria azucarera.

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L) es una gramínea tropical, un pasto gigante emparentado con el sorgo y el maíz en cuyo tallo se forma y acumula un jugo rico en sacarosa, compuesto que al ser extraído y cristalizado en el ingenio forma el azúcar; alcanza entre 2 y 5 m de altura y entre 2 y 5 cm de diámetro. Se conocen diversas variedades cultivadas, que se diferencian por el color y la altura del tallo. (Seijias 2001)

La azúcar en el mundo es obtenida de dos fuentes principales: la caña de azúcar o a partir de la remolacha azucarera (*Beta vulgaris* L), mediante los procedimientos industriales convencionales. Para su obtención se requiere de un largo proceso, desde que la semilla germina hasta que el azúcar se comercializa mediante procedimientos industriales tradicionales. (Austin 1992)

En nuestro país la azúcar es obtenida a partir de la caña de azúcar, las proporciones de los componentes varían de acuerdo con la variedad (familia) de la caña, edad, madurez, clima, suelo, método de cultivo, abonos, lluvias, riegos, etc. Sin embargo, algunos valores de referencia general pueden ser los que se muestran en la tabla 1.1.

**Tabla 1.1 Componentes de la caña de azúcar en Cuba**

Componentes	Proporción	Componentes	Proporción
Agua	73 -76 %	Glucosa	0.2 – 0.6 %
Sacarosa	8 – 15 %	Fructuosa	0.2 – 0.6 %
Fibras	11 – 16 %	Sales	0.3 – 0.8 %
Ácidos orgánicos	0.1 – 0.8 %	otros	0.3 – 0.8 %

Durante el período de crecimiento requiere de altas temperaturas y abundante agua. Con la ayuda del cruce sistemático para el mejoramiento, se han producido variedades adecuadas para una amplia gama de climas y altamente resistentes a períodos de sequía, así como a plagas.

Para el cultivo de la caña es necesario tener en cuenta tanto las características de las diferentes variedades de suelos como de lograr la combinación más eficaz. (Morrell 1984)

Las industrias azucareras son las encargadas de procesar la materia prima, para la obtención del azúcar; cada día su proceso de producción se hace más complejo, buscando mejoras en calidad del producto y minimizando el daño al ecosistema. (Heijungs 1992)

### **1.1.1 Proceso de producción de azúcar crudo**

La caña de azúcar ha sido uno de los productos de mayor importancia para el desarrollo comercial en el continente americano y europeo. El azúcar se consume en todo el mundo, puesto que es una de las principales fuentes de calorías en las dietas de todos los países.

La sacarosa de la caña de azúcar es un disacárido natural formado por el enlace bioquímico de los monosacáridos glucosa (azúcar de uvas o dextrosa) y fructosa (azúcar de frutas o levulosa), se obtiene de la planta de la caña por la reacción de fotosíntesis debiéndose separar en el proceso de fabricación otros componentes como son las fibras, las sales minerales, ácidos orgánicos e inorgánicos y otros, obteniéndose una sacarosa de alta pureza en forma de cristal.

El proceso de obtención del azúcar crudo en las industrias del mundo consta de 9 etapas como se indica en la figura 1.

La materia prima comienza su trayectoria por la sección de recepción y limpieza donde se prepara la caña para su posterior tratamiento. Luego esta caña procesada pasa a través de los molinos donde es separado el jugo que contiene la sacarosa del resto de la caña para obtener un jugo que pasa por filtros para reducir los sólidos disueltos que este arrastra de la etapa de molienda, el cual posteriormente será tratado con lechada de cal para neutralizar las condiciones ácidas de la sacarosa.

Una vez que se le ajusta el pH al jugo, este comienza la etapa de calentamiento donde se procede a elevar su temperatura a valores cercanos a su punto de ebullición para acelerar la reacción de sedimentación que ocurre en la sección de clarificación y filtración del jugo donde a partir de floculantes hace que los sólidos que aún quedan disueltos en el jugo sedimenten y el jugo pueda ser filtrado para que pase a la etapa de evaporación.

Aquí se le extrae la mayor cantidad de agua posible al jugo para concentrar sus niveles de sacarosa. Una vez concentrado el jugo este pasa a la etapa de cristalización y centrifugación, donde finalmente se forma el grano de azúcar que más tarde será separado de la miel para obtener finalmente el azúcar crudo.

Es necesario destacar que las etapas de mayor riesgo microbiológico son la etapa de preparación de la caña y la molienda donde los microorganismos se nutren de los componentes azucarados que caracteriza a la caña de azúcar.

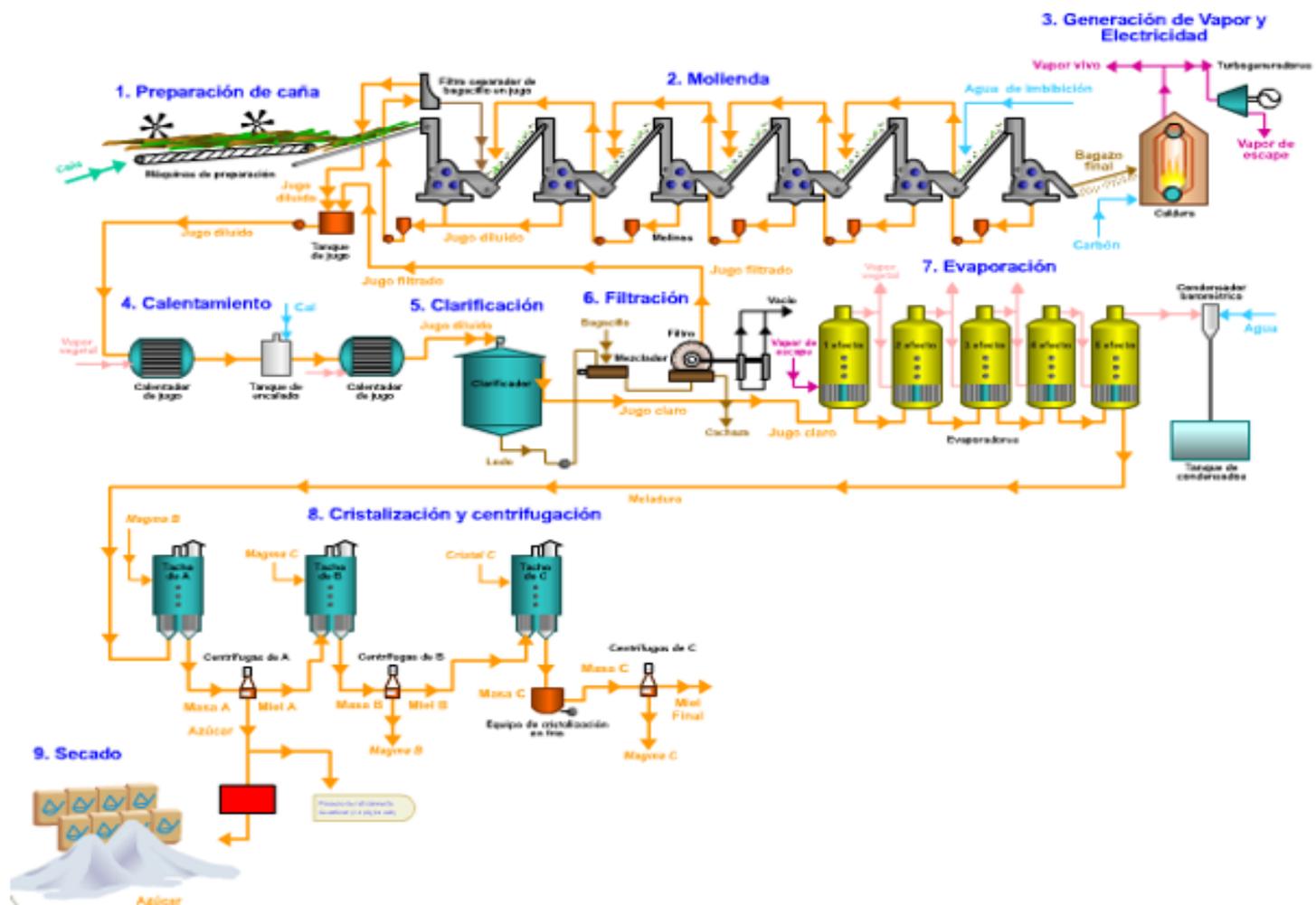


Figura 1: Proceso de elaboración de azúcar crudo.

Tomado de: [http://www.cenicana.org/pop\\_up/fabrica/diagrama\\_obtencion.ph](http://www.cenicana.org/pop_up/fabrica/diagrama_obtencion.ph)

## **1.2 Microorganismos contaminantes presentes en el proceso de producción de azúcar**

Los microorganismos que ingresan con la caña, ubicuos del suelo o el aire contaminan el jugo diluido. De acuerdo con el organismo que predomine, los productos de la actividad microbiológica pueden ser uno o más de los siguientes: dextranas, etanol, oligosacáridos y ácidos orgánicos.

Los microorganismos mesófilos son los responsables de degradar los jugos de bajo Brix que se encuentran a temperatura ambiente durante la etapa de la extracción de jugos mediante molinos. (Rein 2012)

Los microorganismos tienen acción en el procesamiento del jugo de caña, donde se observa un desarrollo de sulfuro cuando los jugos se mantienen a temperaturas por debajo de 60°C y en condiciones anaerobias. (Honig 1969) La contaminación microbiana es causada por ciertos microorganismos, resaltándose la especie *Leuconostoc mesenteroides*, que invierte la sacarosa para formar una variedad de productos de alto peso molecular principalmente dextranas, manitol y ácidos orgánicos durante todo el proceso azucarero hasta el azúcar crudo. La presencia de estos metabolitos incrementa la viscosidad y puede afectar seriamente procesos posteriores tales como la cristalización, la filtración y la remoción de color, incluso cuando se encuentran presentes en pequeñas cantidades. Se ha encontrado que las contaminaciones microbianas (especialmente debido al crecimiento de *Leuconostoc*) son usualmente una de las principales causas de destrucción de sacarosa. (Rein 2012) Estudios realizados por Cenicaña, han evidenciado que la acción de microorganismos y de enzimas invertasas propias de la caña, son las responsables de más del 80% de la inversión de sacarosa en jugos a temperatura ambiente. (Peredo 2017)

En el caso de una proliferación severa, es posible percibir olores desagradables y apreciar crecimientos pegajosos y blandos. Otros productos de la transformación microbiológica de la sacarosa en los molinos incluyen el etanol (producido por levaduras tales como *Saccharomyces*) y ácidos orgánicos, principalmente lácticos, fórmicos, y acéticos, que disminuyen el pH, aumentan la demanda de cal para la neutralización y conducen a incrementos de las pérdidas en miel final. (Rein 2012)

### **1.2.1 Bacterias ácido lácticas**

Las bacterias ácido lácticas (BAL) forman un grupo heterogéneo, con características generales tales como, gran positivas, catalasas negativas, no esporuladas microaerófilos, no

presentan motilidad, no tienen actividad citocromo oxidasa, ni reducen los nitratos, no producen pigmentos y algunas presentan gránulos metacromáticos. Son anaerobias facultativas y fermentadoras de azúcares en condiciones diversas, respondiendo a diversos tipos morfológicos, se diferencian los cocos de forma redondeada u oval y los bacilos o bastones de forma alargada. (Long, Lory et al. 2014) Según el catabolismo de los azúcares, las bacterias ácido lácticas pueden ser homo y heterofermentativas, las primeras originan ácido láctico (80-90%) utilizando la vía glicolítica de Embden-Meyerhof. A partir de la ruta Warburg-Dickens (vía pentosa fosfato), las heterofermentativas metabolizan la glucosa, originando además de ácido láctico, significativas cantidades de anhídrido carbónico, acetaldehído, etanol, diacetilo, ácido acético, acetoina, etc. (MINAZ 1995)

### **1.2.2 Bacterias termófilas**

Las bacterias termófilas poseen una especial propiedad de crecimiento a temperaturas de entre 44 a 55 °C o más, reportándose también la tolerancia a temperaturas aún más altas, incluso hasta 95°C o más. Obviamente, las posibilidades de su supervivencia en diferentes productos de azúcar de caña durante el proceso de fabricación de azúcar son más, a pesar de las altas temperaturas que prevalecen. Varias de éstas son bacterias ácido lácticas caracterizadas por ser formadoras de ácidos orgánicos. (Kumar and Agrawal 2002) El nivel mínimo de bacterias termófilas se encuentra en la caña que ingresa a la fábrica y éstas se hallan en un nivel de entre 600 y 800 UFC/10gr en la etapa de zumo. Parece que este nivel permanece más o menos constante durante la extracción y la clarificación, y podría considerarse como un valor de referencia. La disminución de la calidad de la caña, las averías frecuentes o las condiciones de proceso aumentan el número de termófilos, y gracias a esto se hace necesario el uso de biocidas para su control. Las bacterias termófilas acidófilas representan aproximadamente del 10 al 25% de la población termófila global en el molino, y no parecen tener un efecto en el proceso. (Clarke 1968, Austin 1992) En cuanto a bacterias hipertermófilas, su mayor producto de degradación es el ácido láctico, el cual puede ser determinado de manera rutinaria. Estas bacterias pueden ser generalmente activas a temperaturas de hasta 70°C. (Mackrory, Cazalet et al. 1984) y otros han establecido que por cada parte de ácido láctico formado se pierde aproximadamente ocho partes de sacarosa en el tándem de molinos, la cual es dependiente de la temperatura y otros factores.

### **1.2.3 Bacterias productoras de exopolisacáridos**

Varias bacterias son capaces de formar gomas o sustancias mucilaginosas como material capsular o como producto excretorio extracelular. Un número grande de dichas bacterias se encuentran presentes en el jugo de caña. (Kumar and Agrawal 2002). En la industria azucarera *Leuconostoc mesenteroides* es el principal microorganismo que contamina la caña. El nivel de exposición del tejido interno de la caña se incrementa con el corte mecanizado, el trozado o por la quema, lo cual provoca la inactivación de las enzimas fenol oxidasas la cual tiene acción protectora o bactericida en la planta. (Cuddihy, Porro et al. 2001)

Bajo condiciones favorables de temperatura y humedad, la dextranasacarasa hidroliza la sacarosa y forma dextranas. Junto con el jugo, estas dextranas se extraen en los molinos y contaminan los flujos del central. Su nivel en el jugo llega a exceder las 10 000 ppm (1%) en los casos extremos. (Jiménez 2005) Según (Cuddihy, Porro et al. 2001) durante las primeras 6 horas de crecimiento a 30°C, una cepa de *L. mesenteroides* consume la sacarosa a razón de 8.46 g/L/h.

### **1.2.4 Levaduras**

Las levaduras y los mohos poseen la capacidad de crecer en una amplia variedad de sustratos, incluidos azúcares simples y polisacáridos. Las levaduras que crecen en condiciones anaerobias requieren una concentración de azúcar comparativamente más alta que las que crecen en aerobiosis. En consecuencia, el jugo de caña puede servir como un medio ideal para la supervivencia de las levaduras. (Kumar and Agrawal 2002) Las condiciones a las cuales la caña se encuentra expuesta determinan en gran medida si el producto residual del deterioro serán dextranas o etanol. La producción de etanol y ácidos orgánicos es característica por el consumo de sacarosa de levaduras que se encuentren bajo condiciones de poca humedad. La velocidad con la cual estos organismos metabolizan la sacarosa también depende en gran medida de la temperatura, debido a esto, su actividad se reduce considerablemente en clima frío. (Rein 2012)

Las principales especies identificadas en caña de azúcar y sus jugos son: *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces pombe*, *Candida tropicalis*, *Candida micoderma*, *C. Intermedia*, *Kloeckera apiculata*, *Prochia membranofaciens*, *P. farinosa*, *Kluyvoromyces fragilis* y *Hansenula anomala* (Serrano 2006) se hizo análisis teóricos acerca de la biota de los jugos de la caña y la acción que ejercen estos sobre el mismo.

### **1.3 Biota de los jugos de caña y la acción que ejercen estos sobre el mismo**

La caña de azúcar, es cosechada en regiones subtropicales, tales como Cuba, Hawai, India, Islas Mauritius, Sudáfrica, Australea, Perú, Venezuela, Brasil, Panamá, Nicaragua, el sur de EE. UU y otros países de la Cuenca del Caribe. En estas zonas, las abundantes radiaciones solares, altas temperaturas y copiosas precipitaciones conforman las condiciones climáticas propicias para el desarrollo de esta planta, que es cultivada en grandes extensiones territoriales en cada una de los países mencionadas. (Hernández 1986)

Cuando la caña arriba a la fábrica de azúcar, viene acompañada de una variada biota, cuyo origen ha sido objeto de discusión durante años.

Los factores que influyen en la biota que presentan los jugos de caña van desde el lugar donde se cosecha la caña hasta la forma en que es cortada. A decir de (Hernández 1986) la caña cosechada en las zonas montañosas tenía una biota más pobre que las cosechadas en las llanuras. Además, las hojas enfermas constituyen también una importante fuente de contaminación de los jugos, sobre todo en cuanto a hongos y bacterias, siendo alrededor del suelo donde se encuentra la mayor concentración de *A. aerogenes* y el *L. mesenteroides* por lo que hacen pensar que es esta la fuente de donde acceden estas especies al tallo aún en pie o ya cortado en el campo.

De la biota del jugo también depende el tipo de cosecha con que se lleve a cabo; esta se puede hacer de forma manual o mecanizada, o a partir de la quema de la caña. Investigaciones recientes demostraron que las acciones de los microorganismos en cañas verdes enteras y troceadas y en cañas quemadas en condiciones similares, la diferencia de biota en la caña es ligeramente mayor en la caña verde troceado lo que indica que mientras mayor sea el número de cortes, mayor será la posibilidad de invasión de los jugos. Ver anexo 1.

Cuando la caña es molida en el central, los microorganismos adheridos a su superficie son arrastrados por el jugo. A ellos se unen los que están contenidos en las partículas de tierra, hojas secas y otras materias extrañas que entran con la caña al molino y que enriquecen su biota tanto en número como en variedad de especies. El aire, que arrastra partículas de polvo, puede también enriquecer el contenido de microorganismos del jugo y el contacto de este con los equipos sucios, con resto de materiales en estado de descomposición, hace aún más grave la situación, si las condiciones higiénicas en la estación de molienda no son las adecuadas. (Hernández 1986, Hernández and Sainz 1987)

Se puede decir que la biota de los jugos de caña y de la primera etapa del proceso de elaboración de azúcar es esencialmente aerobia o facultativa, mesófila, capaz de utilizar la sacarosa, ya sea por la vía de la asimilación o la fermentación, mayoritariamente apta para la formación de polisacáridos y ácidos orgánicos a partir de la sacarosa o de las hexosas que se originan en su hidrólisis. (Hernández 1986)

#### **1.4 Atraso de la caña y su importancia económica. Influencia de los sistemas de cosecha**

Como se ha ido explicando, la acción de los microorganismos sobre los jugos se intensifica a medida que transcurre el tiempo de cortada la caña. Este proceso se ve además acelerado por las condiciones en que ocurre la cosecha. La introducción de máquinas cosechadoras y estaciones de limpieza han acortado el tiempo a partir del cual estas acciones comienzan a ser significativas. Ver anexo 2.

Varios investigadores han señalado la incidencia negativa del troceado de la caña si esta no es molida inmediatamente, y más aún si es quemada.

Se halló que el deterioro se manifestaba por la disminución significativa del contenido de sacarosa, caída del pH, incremento de azúcares reductores, de la dextrana y la viscosidad del jugo, así como de los conteos microbianos.

Hernández y otros estudiaron el efecto del sistema de cosecha sobre el deterioro de la caña por atraso. Encontraron que la caña quemada y troceada se deterioraba en un período muy breve y que en general el troceado de la caña favorece su deterioro de forma muy significativa.

Además, se ha demostrado en trabajos recientes la incidencia de la cepa y la variedad de la caña sobre la velocidad del deterioro que esta pueda tener. Se detectó que ambos factores son trascendentes y que cada variedad posee una forma peculiar en su deterioración. De ello se deriva que es imprescindible tener en cuenta este elemento a la hora de valorar la introducción de una variedad nueva en la producción. La omisión de este aspecto puede traer serias repercusiones para la industria e introducir una variedad de buen rendimiento en azúcar por hectáreas, pero cuya sensibilidad al deterioro exige su molida en un tiempo tan corto que el actual nivel de organización de nuestra agricultura cañera no puede garantizar y por ello se pierde en el campo lo que se ganó al lograr una variedad más productiva. (Hernández 1986)

Por otra parte, ha quedado probado que si los microorganismos son inhibidos o destruidos, o simplemente no se les da tiempo para crecer, se eliminan las dificultades anteriores; el tiempo del que disponen para actuar es un factor de primordial importancia, por lo que la dirección del trabajo del tecnólogo azucarero, que debe tener por objeto minimizar estas acciones, debe ser orientada hacia un menor tiempo de exposición del jugo a estas, bien sea en el campo en la propia fábrica.

### **1.5 Deterioro del azúcar crudo y pérdidas de sacarosa**

El azúcar crudo está constituido por cristales de sacarosa, rodeados de una película de miel más o menos gruesa. El cristal es de una gran pureza y es en la película donde ocurren las reacciones químicas o biológicas que transforman ese producto y llegan incluso a destruirlo.

El deterioro del azúcar crudo durante su almacenamiento es un problema conocido en la industria azucarera desde mediados del siglo pasado. El deterioro de los azúcares almacenados en sacos causaba enormes pérdidas a los productores, por lo que se investigó profundamente en este campo al llegar a la conclusión de que la biota del azúcar crudo era extensa y que la acción deteriorante no podía atribuirse a uno u otro microorganismo aislado, sino que era importante la acción conjunta de ellos, unido a determinados factores que lo propiciaban.

Además, ha sido visto como las malas condiciones higiénicas en el tándem propician el desarrollo de microorganismos que se acumulan en puntos muertos, restos de desperdicios, etcétera, y allí se reproducen y ejercen sus acciones sobre los componentes del jugo. Los polisacáridos y los ácidos orgánicos son los productos metabólicos de los microorganismos que peores consecuencias traen al proceso, los cuales se organizan por la destrucción de la sacarosa, su presencia en los jugos y productos intermedios del proceso daña seriamente la eficiencia de este y la calidad del azúcar obtenido.

El esquema de alcalización utilizado en la fábrica puede favorecer o frenar las acciones microbianas en esta etapa. El calentamiento y concentración posteriores de los productos minimiza la presencia de microorganismos en las etapas intermedias del proceso, pero estos se reincorporan a las masas cocidas en los cristalizadores y centrifugas, procedentes del aire e incrementan la biota de los azúcares producidos. Estos microorganismos se encuentran en la película de miel que rodea el cristal, y si las condiciones de humedad de la misma les son propicias, pueden actuar y deteriorar el azúcar. Por ello, la creación de condiciones higiénicas adecuadas en la fábrica, como corresponde a su clasificación como industria de

alimentos, debe ser una preocupación constante del tecnólogo azucarero, que debe velar por que se cumplan los parámetros límites de contenido de microorganismos en el aire, mediante la higiene adecuada de la fábrica. (Hernández 1986, Hernández and Sainz 1987, Austin 1992, Daza, Martínez et al. 2009)

Por otra parte, las pérdidas de sacarosa se ven influenciadas principalmente por dos factores:

### **1.5.1 Pérdidas físicas**

Donde se ve comprometido el manejo descuidado de los equipos en fábrica. En las pérdidas físicas se encuentra involucrado las fugas en los tubos, canales y bombas glándula, el derramamiento de jugo, el lavado sin cuidado y el mezclado del jugo con la lubricación de las mazas o sistemas de enfriamiento, que se es necesario prevenirlas mediante una observación y atención y detallada. (De Rosa, De Stefano et al. 1988, Hongqiao and Matthias 2001, Long, Lory et al. 2014)

### **1.5.2 Pérdidas por destrucción de sacarosa**

Menos obvias que las pérdidas físicas, pero a menudo mayores, son las pérdidas por destrucción de sacarosa dentro del proceso de molienda. La destrucción ocurre en tres formas: inversión ácida, inversión enzimática y pérdidas microbiológicas.

La inversión enzimática se produce a partir de proteínas, principalmente invertasas, que actúan como un catalizador que promueve la inversión de sacarosa. Las invertasas pueden encontrarse presentes naturalmente en la caña o ser producida por el *Saccharomyces* sp. y es inactiva a temperaturas por encima de aproximadamente 65 °C. Los productos son fructosa y glucosa, que no se cristalizan y por lo tanto no son redimibles como azúcar. Por el contrario, constituyen no-sacarosas melazigénicas que incrementan la cantidad de miel final y por lo tanto la pérdida de sacarosa en mieles. (Rein 2012) Las pérdidas microbiológicas pueden ocurrir en jugos de bajo Brix a temperatura ambiente y los productos principales son dextranas o etanol (p. ej. en la etapa de extracción), o a temperaturas elevadas cuando el producto principal sea el ácido láctico (p. ej. en clarificadores y filtros). Las pérdidas económicas ocasionadas por las dextranas son constantes a lo largo del proceso de producción de azúcar, ya que desde temprano su presencia en los jugos aumenta, de manera falsa, el valor de la cantidad de azúcar calculada para estos y altera los indicadores productivos de la fábrica. (Jiménez 2005)

## **1.6 Subproductos indicadores del deterioro de la sacarosa**

Los subproductos indicadores del deterioro de la sacarosa son sustancias que aparecen en el contenido de la materia prima que indican que la caña de azúcar no se encuentra en sus condiciones ideales. Los elementos que indican el deterioro de la caña son:

### **1.6.1 Azúcares reductores**

Los azúcares reductores se refieren generalmente como azúcares invertidos, determinados al medir el contenido de sustancias reductoras mediante análisis de laboratorio. Los monosacáridos glucosa y fructosa son los componentes no-sacarosos más abundantes en la caña, también conocidos como azúcares reductores. Habitualmente estos se encuentran presentes desde en unas pocas unidades porcentuales de la sacarosa para caña madura hasta casi en 10 por ciento de la sacarosa para caña inmadura. Los monosacáridos son más abundantes en la parte superior del tallo de caña ya que ellos están asociados con el crecimiento de la planta. Por la misma razón, estos componentes son generalmente más elevados en cañas cortadas durante el período de alto crecimiento. (Rein 2012) La calidad del azúcar crudo y de otros productos, dependen, en parte, de la proporción de estos azúcares reductores, los cuales presentan un aumento por causa del deterioro o falta de maduración de la planta, además pueden producir incrementos en el color y grano defectuoso en la panela. (Clarke 1968)

Usualmente los azúcares reductores son estables, no obstante, pueden ser destruidos a temperaturas que superiores a 100°C y a valores elevados de pH. La tasa de reacción no es significativa con un pH de 6, sin embargo, ésta aumenta por un factor de 5 por cada unidad el pH incrementada. (Rein 2012)

### **1.6.2 Polisacáridos**

Los polisacáridos son carbohidratos de alto peso molecular presentes en la caña. Se incluyen entre estos a la celulosa, el almidón, las gomas, dextranas y polisacáridos de paredes celulares, que son constituidas por múltiples unidades de monosacáridos condensados simultáneamente (Rein 2012) y que componen alrededor del 20% al 25% de las mieles. Dependiendo de la variedad de caña, la concentración de polisacáridos varía aproximadamente de 1500 a 3000 mg/kg sólidos disueltos. (Legendre 1992) La concentración de polisacáridos generalmente es más alta en las hojas y cogollos que en el tallo. (Santos, Teixeira et al. 2000) señalaron que el contenido de gomas, hoy denominado más

comúnmente polisacáridos totales, depende significativamente la variedad de la caña y del lugar.

El efecto varietal de la caña de azúcar es muy pronunciado, con un rango de valores entre 6500 y 12000 mg de goma en 1 kg de sólidos disueltos medidos en diferentes variedades. Estos valores son considerablemente mayores que aquellos presentados por (Legendre, Clarke et al. 1999) debido a que se incluye al almidón y éstos fueron obtenidos por desintegración vía húmeda de las muestras y no al exprimir el jugo. (Rein 2012) Los carbohidratos moleculares pequeños, tales como los monosacáridos, los disacáridos y trisacáridos, tienen un sabor dulce, son todos más o menos solubles en agua y son clasificados bajo el nombre colectivo de azúcar. Los polisacáridos de alto peso molecular, sin embargo, ya no son solubles en agua y han perdido su poder edulcorante. Muchos polisacáridos son formados por sacarosa debido a reacciones bioquímicas. El más importante en la industria azucarera es la dextrana producida por *Leuconostoc mesenteroides*, *L. dextranicum*, *Betacoccus arabinosaceus* y por algunas otras bacterias de la sacarosa. (Honig 1969) Otros polisacáridos heterogéneos del tipo almidón-glucógeno (con unidades de fructosa) son producidos por bacterias del género *Neisseria* sp.

### 1.6.3 Dextrana

Las dextranas son polisacáridos de elevado peso molecular, formados por glucosas unidas por enlaces  $\alpha$ -1.6 al menos en el 50%, con ramificaciones enlazadas  $\alpha$ -1.3 aunque también puede presentar otras unidas  $\alpha$ -1.2 o  $\alpha$ -1.4 (Figura 2). Las dextranas no son compuestos propios de la caña, el contenido de estos polisacáridos en la caña es muy bajo o casi cero. Su formación se debe a la acción de la enzima dextransacarasa de microorganismos contaminantes que se alojan en la savia de la planta o la atacan después de ser dañada su corteza. *Leuconostoc mesenteroides* es la bacteria láctica que fundamentalmente ataca la caña. (Cuddihy, Porro et al. 2001) Cuando la cepa de *Leuconostoc mesenteroides* es cultivada en medios ricos en sacarosa, se induce la producción de una enzima extracelular, la dextransacarasa. La sacarosa es el único sustrato conocido capaz de inducir esta producción de enzimas. (Santos, Teixeira et al. 2000)

La dextransacarasa también usa sacarosa como sustrato para producir dextrana y fructosa de la siguiente manera:



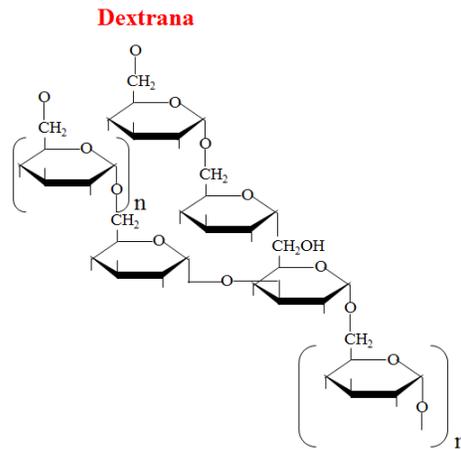
Sacarosa

Dextrana

Fructosa

Bajo condiciones favorables de temperatura y humedad, la dextransacarasa hidroliza la sacarosa y forma dextranas. Junto con el jugo, estas dextranas se extraen en los molinos y posteriormente contaminan los flujos del central, su nivel en el jugo llega a exceder las 10000 ppm (1%) en los casos extremos. (Cuddihy, Porro et al. 2001)

Esta enzima puede ser producida por otras bacterias como *Lactobacillus* y *Streptococcus* sin embargo la cepa más usada en la investigación es *Leuconostoc*. Esta cepa es capaz de crecer a temperaturas entre 5 y 30°C pero el rango óptimo se encuentra entre 25 y 30°C. (Santos, Teixeira et al. 2000) Las dextranas pueden presentar distintas ramificaciones en su cadena molecular, esto depende de la clase de bacteria que las produzca, lo cual causa diferencias estructurales en el polímero.



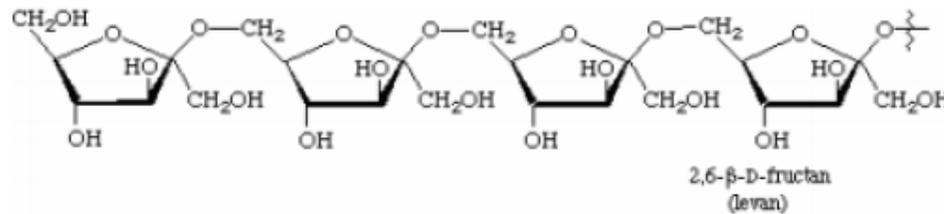
**Figura 2: Estructura molecular de la dextrana.**

Tomado de: <https://biotecnologia.fundaciontelefonica.com/2011/04/26/dextranas-produccion-y-aplicaciones/>

#### 1.6.4 Levana

La enzima extracelular levansacarasa (LS) es una fructosiltransferasa que produce un polímero de fructosa a partir de sacarosa denominado levana, el cual es caracterizado por tener enlaces del tipo  $\beta$  (2-6) para la cadena lineal y  $\beta$  (2-1) para la cadena ramificada. (Figura 3) (Jang, Jang et al. 2002) La levansacarasa ha sido aislada de varias bacterias incluyendo *Bacillus subtilis*, *Streptococcus mutans*, *Zymomonas mobilis*, *Acetobacter diazotrophicus*, *Erwinia amylovora*, y *Pseudomonas syringae*. (Honig 1969) describe cepas de *Aerobacter levanicum* productoras de este exopolisacárido. A diferencia de la levansacarasa producida por bacterias Gram positivas, las levansacarasas de bacterias Gram negativa

tienen masa molecular similar y su expresión es independiente del sustrato. (Hongqiao and Matthias 2001)



**Figura 3: Estructura molecular de la levana.**

Tomado de: <http://www.chem.qmul.ac.uk/.../>

### 1.6.5 Ácido láctico

Las mediciones de productos microbiológicos tales como el ácido láctico es uno de los mejores indicadores de los efectos microbiológicos reales sobre el proceso, incluyéndose a la estación de filtros. Los niveles de ácido láctico se miden rutinariamente en muchos ingenios y se tiene como límite superior objetivo una concentración de 400 mg/kg DS en el jugo (Don, Mellet et al. 1977)

En diversos estudios de industrias azucareras sudafricanas se han reportado especies de *Bacillus* sp., especialmente *B. stearothermophilus* y *B. coagulans*, consumidores importantes de sacarosa, glucosa y fructosa y productores de ácido láctico. (Ravnö 2001)

La medición rutinaria del ácido láctico en el jugo se recomienda como medición de control. Un promedio de 300 mg/kg de sólidos solubles de ácido láctico representa un valor realista tanto para un tren de molinos como para los difusores. (Rein 2012) Cenicaña ha determinado que una concentración superior a 200 mg/Kg de sólidos solubles, es señal de deterioro de los jugos.

### 1.6.6 Manitol

Este es un producto formado por la hidrogenación de la sacarosa en presencia de un catalizador apropiado a razón de 3:1. Posee un leve sabor dulce y pueden utilizarse en alimentos para diabéticos. El manitol usualmente tiene un precio significativamente mayor. (Rein 2012)

### **1.6.7 Almidón**

El almidón se encuentra presente en la caña en forma de pequeños gránulos insolubles al agua y compone una reserva de carbohidratos alimenticios. Es un componente propio de la caña y no producto de acción microbiana. Se forma por condensación de glucosa y radica en una mezcla de dos polisacáridos. El mayor componente es la amilopectina, que representa cerca de un 75 a 85 % del almidón y su estructura es altamente ramificada; el resto, la amilasa, es primordialmente un polímero sin ramificaciones. La variedad de la caña influye en el contenido de almidón que ésta tenga. En Suráfrica las variedades antiguas fueron retiradas gradualmente y sustituidas con variedades de contenido de almidón mucho menor. En Louisiana se ha encontrado que el contenido de almidón puede variar entre 275 y 1500 mg/kg de sólidos, con un promedio de aproximadamente 700 (Legendre 1992). La concentración de almidón es más alta en las hojas y en la zona de crecimiento. La caña madura tiene un contenido ligeramente más bajo de almidón. (Rein 2012) Para la descomposición de proporciones significativas de los almidones presentes en el jugo, se ha realizado amortiguamiento en la fase de encalado, para que la amilasa, una enzima natural del jugo, a su pH natural, pueda reducir el contenido de almidones. Se reflexionó en los indicadores de contaminación microbiana en las distintas etapas del proceso.

### **1.7 Indicadores de contaminación microbiana en las etapas del proceso**

Una de las dificultades más serias que se han enfrentado en el estudio y comprensión de los problemas microbiológicos en las distintas etapas del proceso de fabricación de azúcar crudo, y en la propia materia prima, es la ausencia de indicadores confiables de la actividad microbiana.

Tradicionalmente se han utilizado con esta finalidad los llamados indicadores indirectos, es decir, indicadores que tienen como base la medición de los resultados de la actividad microbiana sobre uno o varios componentes del jugo, aunque no en una forma confiable. Así, por ejemplo, en el deterioro de la caña por atraso o en el análisis del estado higiénico de los molinos, se han utilizado los indicadores siguientes: (Hernández 1986, Hernández and Sainz 1987)

- Caída del Pol
- Caída de pureza
- Incremento del contenido de azúcares reductores

- Incremento del coeficiente glucósico

A continuación, será analizado brevemente cada uno de estos indicadores:

### **1.7.1 Caída del Pol**

Debido a que la sacarosa es el primordial contenido del jugo de caña, y a la vez la que se recupera en el proceso resulta destruida por la mayoría de los microorganismos del jugo, parece lógico medir su degradación o pérdida como una expresión significativa de la actividad microbiana. En el control fabril se emplea para la medición de la sacarosa del jugo y otros productos intermedios la determinación de la variación del plano de la luz polarizada, provocada al pasar ésta a través de un peso dado de solución; este indicador se conoce como lectura del Pol del producto analizado. Este método, aunque no es muy exacto tiene ventajas para el control fabril, pero en la utilización de la sacarosa por los microorganismos se forman sustancias ópticamente activas, como la dextrana, que falsean la lectura del Pol y dan resultados erróneos.

### **1.7.2 Caída de pureza**

La pureza del jugo se define como la proporción de sacarosa en los sólidos solubles de éste.

La sacarosa puede ser medida como Pol o como sacarosa real, y el contenido de sólidos, por areómetro, refractómetro o desecación. Entonces la relación se denomina en forma vareada: pureza aparente, pureza refractométrica, pureza real etcétera.

Si en una solución de sacarosa ésta se degrada químicamente o por acción de la invertasa, se producen los monosacáridos, glucosa y fructuosa, ambos reductores. El índice de refracción de éstos es aproximadamente el mismo de la sacarosa, y por ello en la relación de la caída de pureza al disminuir el numerador y mantenerse el denominador, disminuye el valor de la relación. Por tanto, este coeficiente puede medir de forma eficiente una degradación de sacarosa de este tipo. Pero si la sacarosa es degradada por la acción de los microorganismos, a partir de ella se forman sustancias con diferentes rotaciones específicas de la luz polarizada, como las gomas dextrana y levana, que giran el plano de polarización de la luz hacia la derecha o hacia la izquierda, con intensidad distinta a la glucosa y fructuosa.

Por otra parte, también los sólidos solubles tienen variaciones, por lo que en la relación varían tanto el numerador como el denominador y su resultado es indeterminado. Por esta causa las variaciones de la pureza no miden en forma confiable los cambios que están

ocurriendo en el jugo. Es por ello que en cañas con un grado de deterioro avanzado se observa un incremento de la pureza. De forma semejante se observa un incremento de la pureza de los jugos del tándem cuando existen en éstos una fuerte contaminación.

### **1.7.3 Incremento del contenido de azúcares reductores**

Al degradarse la sacarosa, en el jugo se incrementa el contenido de azúcares reductores. Sin embargo, cuando la sacarosa se degrada por acción microbiana, los azúcares reductores son a su vez metabolizados y su comportamiento en el jugo dependerá de las velocidades relativas de ambas reacciones. Pero como la biota del jugo es tan variada, los azúcares reductores no pueden caracterizar en forma confiable el proceso que ocurre.

### **1.7.4 Incremento del coeficiente glucósico**

El coeficiente glucósico se define como la relación entre el contenido de glucosa (medida como azúcares reductores) y la sacarosa del jugo.

Los estudios realizados revelaron que la variación de los parámetros medidos era independiente de las que experimentaba el contenido de microorganismos en los jugos, que si es un indicador directo de la contaminación en el tándem. Además, se encontró que en la población microbiana del jugo mezclado era superior al de la desmenuzadora, lo que indica la existencia de focos de contaminación en los molinos, desde los cuales los microorganismos se incorporan constantemente al jugo. Esta experiencia demuestra la inaptitud de los llamados índices indicadores para relevar las condiciones higiénicas de una estación de molinos. (Hernández 1986)

## **1.8 Métodos de control basados en la actividad microbiana**

Estudios realizados demostraron la necesidad de desarrollar métodos que permitieran ser empleados en la industria brindando exactitud y confiabilidad en los resultados por lo que se demostraron la aplicabilidad de métodos basados en la actividad microbiana que permiten la identificación de la actividad microbiológica en la caña y su jugo como son:

- Método de la resazurina
- Método de la fermentación espontánea
- Método de determinación de dextrana en los jugos

A continuación, será analizado brevemente cada uno de estos métodos:

### **1.8.1 Método de la resazurina**

Este método consiste en someter una muestra puntual de jugo no preservada a la acción de la resazurina como indicador redox, a una temperatura constante de 37 °C, hasta que se logre la decoloración del indicador. El tiempo que demore el proceso de decoloración determinará el grado de infección de la muestra analizada. Sin embargo, el indicador no se usa en esta forma, sino que se valora el tiempo de decoloración del colorante, en su valor absoluto. Se ha hallado, a través de un número elevado de experiencias, que en los jugos obtenidos de cañas sanas y recién cortadas el tiempo de reducción excede siempre las seis horas, lo cual corresponde a poblaciones del orden de  $10^6$  mo. /ml o menos. Jugos muy contaminados se decoloran en tiempos muy breves, entre 0,5 y 2,0 horas.

Para esta prueba también es necesario tener en cuenta que en un tándem contaminado el tiempo de reducción del jugo de desmenuzadora, lo que indica que este último tiene una población microbiana más alta, es decir, que existe una contaminación considerable en el tándem.

La prueba de la resazurina ha demostrado ser eficaz para detectar las contaminaciones en el tándem, y por últimamente también el deterioro por atraso de la caña. Es además un indicador que reúne las premisas planteadas para poder ser utilizado en el control fabril, que son: respuesta rápida confiabilidad y facilidad para su ejecución.

Sin embargo, se hizo necesario la actualización de este método para hacerla funcional y viable a la industria azucarera en su utilización para evaluar de forma confiable la calidad microbiológica de la caña y de los jugos del tándem. (Jiménez)

### **1.8.2 Método de la fermentación espontánea**

Como el método anteriormente explicado no permite valorar el efecto de las contaminaciones en los jugos. De aquí que Hernández y otros desarrollaron una prueba destinada a estimar las pérdidas de sacarosa que ocurren en el jugo por la acción de su biota. Esta prueba, llamada de la fermentación espontánea, se basa en la relación hallada entre la cantidad de ácidos formados por los microorganismos en los jugos y la sacarosa degradada. A diferencia de la que se aplica en la industria remolachera, en la desarrollada en Cuba se llega a una estimación numérica de las pérdidas ocurridas. (Hernández and Sainz 1987)

La aplicación de esta prueba a los jugos de desmenuzadora y mezclado tiene una primera utilidad en la valoración comparativa de la contaminación en ambos, pues una mayor caída

de pH indica sin dudas una mayor actividad microbiana. Se integra por tanto esta prueba, junto con la de la resazurina, al sistema de técnicas microbiológicas que harán más confiables la detección de contaminaciones en el tándem, como ha sido planteado, pero, además, permite estimar la diferencia en la sacarosa degradada en uno y otro jugo, a partir de lo cual es posible estimar las pérdidas que ocurren en los molinos, si se asume un tiempo de retención del jugo de 0,5 horas en la imbibición.

### **1.8.3 Método de determinación de dextrana en los jugos**

La determinación de dextrana en los jugos es otro útil e importante indicador de la actividad microbiana, puesto que esta no aparece normalmente en los jugos no contaminados. Se emplea para ello el método de Nicholson – Horsley, basado en la formación de una neblina al precipitarse la dextrana por adición de alcohol etílico. (Hernández 1986)

Para determinar las contaminaciones, se compara el contenido de dextrana %Bx de los jugos de desmenuzadora y mezclado, su incremento indica la presencia de contaminaciones en la estación de molida. Este indicador, además permite evaluar la calidad de la caña que se procesa, pues como la caña fresca tiene un contenido de este polisacárido del orden de 0,05 %Bx y se incrementa muy rápidamente según se atrasa, en dependencia del sistema de cosecha empleado. Por tanto, valores superiores a este indican el procesamiento de cañas con un determinado grado de deterioro microbiológico.

## **1.9 Eliminación de las actividades microbianas en la fábrica de azúcar**

En el proceso de producción de azúcar crudo existen áreas donde las actividades microbianas tienen consecuencias significativas que repercuten en el desarrollo de sus etapas y en la calidad del producto final. Estas áreas son:

1. Caña cortada no molida
2. Sección de extracción del jugo
3. Área de cristalización y centrifugación
4. Área de producto terminado

En las dos primeras, la acción de los microorganismos se ejerce sobre el jugo de caña, donde las condiciones son idóneas para el desarrollo de una amplia biota característica. En las dos últimas áreas, los microorganismos actúan sobre el azúcar crudo en fase final de elaboración o ya terminada. La biota del jugo difiere de la de la azúcar tanto cualitativa como

cuantitativamente, y por tanto la lucha contra los microorganismos en ambos medios tienen características distintas. Analizaremos a continuación las formas de lucha contra los microorganismos en caña cortada y no molida y en la sección de extracción del jugo ya que estas son las etapas que se estarán analizando en el desarrollo de este trabajo.

### **1.9.1 Eliminación o disminución de las acciones microbianas en caña cortada no molida**

En la caña cortada, el único método efectivo de acción contra los microorganismos es la molida de esta dentro del tiempo límite acorde con el tiempo de cosecha que se emplee.

La caña entera, verde o quemada tiene un deterioro poco significativo en las primeras 24 horas después del corte, pero a partir de ese momento la velocidad de deterioro crece, en forma acelerada, al alcanzar su biota la fase de crecimiento logarítmico. En forma proporcional se incrementa la degradación de la sacarosa y la formación de ácidos orgánicos, dextrana y otros productos metabólicos. (Hernández 1986)

Por lo que se llega a la conclusión que la forma más efectiva de acción contra los microorganismos en esta etapa es la minimización del tiempo entre el corte y la molida. Lo cual para el sistema de agroindustrias constituye un reto en la capacidad de organización, sobre todo al tener en cuenta que la variedad más extendida en la isla es muy sensible al deterioro por atraso.

### **1.9.2 Lucha contra la contaminación en la sección de extracción de jugos**

La lucha contra los microorganismos en la sección de extracción tiene como premisa la molida de caña de buena calidad, con deterioro mínimo. La molida de caña deteriorada introduce una contaminación en el molino muy difícil de eliminar, por lo que las condiciones higiénicas en el tándem se mantienen malas después de haber molido caña deteriorada, aún cuando se restablezca la molida de caña de buena calidad.

Como es conocido, en los elementos mecánicos que componen el tándem existen zonas de baja velocidad del jugo, donde este permanece un tiempo indefinido o donde se almacenan materiales en estado de descomposición, constantemente bañados por el mismo. La tierra que se acumula en el fondo de los tanques es una fuente importante de contaminación, pues en un gramo de tierra pueden existir millones de células de las más vareadas especies, las cuales permanecen en un medio idóneo y por tanto se desarrollan en forma acelerada.

La actividad microbiana en los jugos del tándem puede ser frenada por medios físicos y químicos. Entre los métodos físicos se han ensayado, en orden de magnitud, el calor, las radiaciones ultrasónicas y la gamma, así como la cavitación, la limpieza profunda y sistemática con agua caliente a presión, que desprenda estos residuos y elimine los cultivos en crecimiento que en ellos se establecen. La eliminación de la tierra del fondo de los tanques y canales, pero sobren toda su minimización como materia extraña adherida a la caña, son las armas para luchar contra el peligro que su presencia representa en la sección de extracción y para el resto del proceso. (Hernández 1986, Hernández and Sainz 1987)

En la literatura se encuentran frecuentemente referencias al uso de agentes químicos en los jugos para frenar la actividad microbiana en estos. Se reportan el uso de sustancias conocidas, como el cloro, los compuestos clorados y el formol, así como de otras sustancias comerciales cuya composición no es totalmente conocida. (Hernández 1986, Hernández and Sainz 1987)

En la actualidad se realizan estudios relacionados con la aplicación de preparados enzimáticos para la reducción de la biota de los jugos procedentes del tándem ya que presentan varias ventajas:

- Son de origen natural
- Son muy específicas en su manera de actuar, por lo que no propician reacciones secundarias indeseables.
- Funcionan en condiciones moderadas de temperatura y de pH y no requiere de condiciones de procesamiento drásticas que puedan alterar la naturaleza del producto, ni de equipo muy costoso.
- Actúan a bajas concentraciones de enzimas.
- Son fácilmente inactivadas una vez alcanzado el grado de transformación deseado.

La hidrólisis enzimática es el método aplicado para la eliminación de dextrana en la industria azucarera a partir de preparados enzimáticos de dextranasa, que desde el punto de vista económico se consideró suficiente hidrolizar las dos terceras partes de las dextranas presentes en el proceso, lo cual aportó una formidable mejora económica a la producción de azúcar.

Los enfoques más recientes proponen la aplicación de la enzima dextranasa para la eliminación del dextrano preformado (Eggleston, Monge et al. 2009) teniendo en cuenta que sus principal limitación en la industria azucarera se deben al costo de preparación del cultivo y purificación (Cuddihy and Day 1999, Riley, Siemer et al. 2003) además de que aún no existe una opinión precisa sobre que dextranasa usar, cómo y dónde agregarla. (Don, Mellet et al. 1977, De Rosa, De Stefano et al. 1988, Riley, Siemer et al. 2003)

### **1.10 Conclusiones parciales**

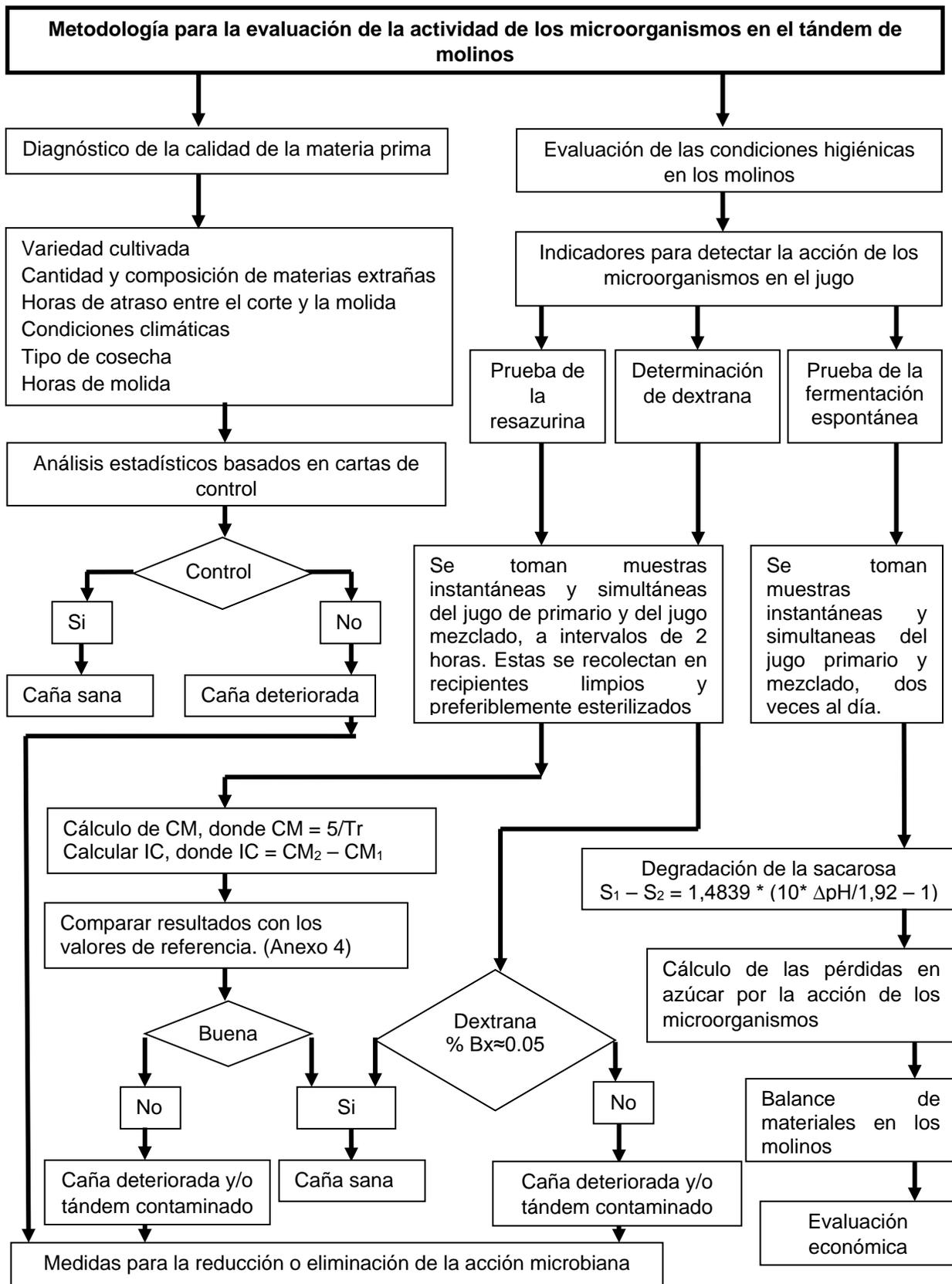
1. Los microorganismos son causantes de acciones perjudiciales en la producción de azúcar crudo tales como la degradación de la sacarosa y la incorporación al proceso de sustancias no deseadas como la dextrana y los ácidos orgánicos, encontrándose entre las etapas de mayor riesgo microbiológico las de preparación de la caña y la molienda.
2. En el deterioro de la materia prima influyen gran variedad de factores como el tipo de cosecha, las condiciones climáticas y principalmente el tiempo entre el corte y la molido.
3. Los métodos utilizados tradicionalmente para detectar contaminaciones en los jugos como la caída del Pol, la caída de pureza, el incremento del contenido de azúcares reductores y el incremento del coeficiente glucósico, no son medidas confiables, por lo que se han desarrollado nuevos métodos, tales como la prueba de la resazurina, la fermentación espontánea y la determinación de la dextrana en jugos factibles para su empleo en la industria.
4. Para el control de la acción de los microorganismos en las primeras etapas del proceso de fabricación de azúcar crudo se emplean métodos físicos, químicos y biológicos, siendo los más empleados los métodos físicos, además en la actualidad tiene gran importancia los biológicos como lo es el empleo de preparados enzimáticos (dextranasa).

## **Capítulo 2: Metodología para la evaluación de la actividad microbiológica en un tándem de molinos**

La calidad de la caña de azúcar que ingresa a la fábrica es un factor importante que influye directamente en el proceso de elaboración de azúcar. Los metabolitos microbianos suelen ser utilizados como indicadores de calidad microbiológica, por ser indicadores tempranos de deterioro. Es inherente la presencia de estos metabolitos en todos los materiales de la fábrica, sin embargo, es deseable que su concentración sea la más baja posible.

El análisis de la bibliografía demostró que la acción de los microorganismos en la industria azucarera constituye una de las principales causas de las pérdidas en el proceso de recuperación de la sacarosa. En base a el deterioro que puede traer consigo la acción de los microorganismos en las etapas de la elaboración del azúcar crudo se hace necesario implementar en la industria un sistema de métodos que permita evaluar los niveles de contaminación que existen, para así poder controlarlos o eliminarlos de forma temprana evitando que las pérdidas en la industria no sean cuantiosas. Este trabajo se desarrolló en la UEB Melanio Hernández por solicitud de esta entidad ante las afectaciones causadas al proceso por los altos contenidos de dextrana en la etapa de extracción del jugo.

En la figura 4 se presenta la metodología de trabajo propuesta para la evaluación de la actividad microbiológica en un tándem de molinos que utiliza de forma integrada tres métodos que permiten la identificación del grado de contaminación por acción total de los microorganismos, por formación de dextrana, la cuantificación de la degradación de la sacarosa incluyendo la evaluación económica de las pérdidas, así como la propuesta de medidas para el control y minimización de dichos efectos.



El procedimiento para la determinación de los indicadores propuestos en esta metodología se describe a continuación:

## 2.1 Prueba de la resazurina

La prueba de la resazurina empleada en este trabajo utiliza la combinación de los tes propuestos por (Hernández and Sainz 1987) según los siguientes pasos:

1. Se toma 1 ml de jugo colado de cada muestra y se inocula con pipeta estéril a un tubo de cultivo de 15x125mm que contiene la solución de resazurina en la concentración de 1/100000, previamente esterilizada a vapor por fluente por 1 hora. Los tubos se tapan con tapón de goma y se invierten por tres veces para homogenizar su contenido. Se colocan en un baño de agua termostatzada a 37°C, al abrigo de la luz. Se utilizan dos tubos para cada muestra.
2. Se anota el color inicial de la mezcla jugo – solución colorante y a intervalos de 0,5 horas se observa y anota de nuevo el color de los tubos. Se computa el tiempo total de decoloración de los mismos como el tiempo correspondiente al intervalo en el cual la mezcla se decoloró totalmente.
3. Se llevan a un gráfico los tiempos de reducción de ambos jugos durante las horas de la molida. En el eje de las abscisas se coloca el tiempo de molida y en las ordenadas el tiempo de decoloración total del colorante, para cada jugo muestreado.

La modificación del test comprendió el establecimiento de la relación de inoculación jugo/solución y aireación (ausencia) que redujera el tiempo y se observara mejor el punto final considerando las características del jugo analizado; y el reporte de los resultados fácilmente descifrables con la introducción de 2 indicadores: Coeficiente Microbiológico (CM), para estimar la actividad microbiológica en jugos u otros materiales azucarados; y el Incremento de CM (IC), este último para medir el incremento de la actividad microbiológica entre dos puntos consecutivos en el proceso.

Las ecuaciones para definir estos indicadores son los siguientes:  $CM = 5/ Tr$  donde CM es el Coeficiente Microbiológico: indicador de la actividad microbiológica en un jugo específico, y Tr es el tiempo de respuesta (decoloración a neutro) de la solución resazurina-jugo, expresado en horas.

$IC=CM_2 - CM_1$  donde IC indica el incremento de la actividad microbiológica entre dos puntos consecutivos (1 y 2) en el proceso; y  $CM_1$  y  $CM_2$  son los Coeficientes Microbiológicos de los

respectivos productos, como pudieran ser jugo primario (1) y jugo mezclado (2). Ver Anexo 3: Valoraciones para el CM e IC, según niveles establecidos para un ingenio.

## 2.2 Determinación de dextrana en jugos

La evaluación del contenido de dextrana en jugos se realizó a través de la determinación turbidimétrica de dextrana en jugos según el Manual Analítico de Control Unificado (MACU).(MACU 1975, MINAZ 1995)

## 2.3 Prueba de la fermentación espontánea

Para la ejecución de esta prueba se empleó la metodología propuesta por (Hernández and Sainz 1987)

1. Se ajusta el valor del jugo a analizar hasta pH de 5,5 por adición de NaOH.
2. Se incuba la muestra durante 4 horas en un baño termostático, a 37°C
3. Se determina el pH del jugo al final de la incubación.
4. Se aplica la fórmula:

$$S_1 - S_2 = 1,4839 * (10 * \Delta pH / 1,92 - 1)$$

Donde:  $S_1 - S_2$ : degradación de la sacarosa en el tiempo de incubación

$\Delta pH$ : caída del pH del jugo.

5. Se halla la diferencia y será la pérdida para 4 horas. Dada la linealidad hallada entre la degradación de sacarosa y el tiempo, permite entonces calcular la sacarosa degradada en un período mucho más pequeño (0,5 horas en los molinos)
6. Se calcula el peso del jugo que está sometido a la acción de esa biota y se considera que la degradación hallada ocurrió en ese peso de jugo (calcular por balances)

En este método es necesario tener en cuenta el procedimiento del balance de masa en los molinos para determinar las pérdidas de azúcar por acción de los microorganismos.

La ecuación que describe el balance de materiales de cualquier proceso es:

Materiales que se acumulan = Materiales que entran – Materiales que salen + Materiales que se generan – materiales que se consumen

Pero como en el caso de los molinos el proceso es estacionario, los materiales que se acumulan son cero, además no existe reacción química así que los materiales que se

generan también son cero y si suponemos que no existe degradación de la sacarosa, los materiales que se consumen se desprecian. Por tanto, la ecuación básica que describe el balance en los molinos se ve definida como:

Materiales que entran = Materiales que salen, es decir:

Masa de caña (A) + Masa de agua de inhibición (B) = Masa de jugo diluido (C) + Masa de bagazo (C)

En esta ecuación el valor que se nos hace necesario determinar es la masa de jugo diluido que será la que nos permitirá determinar las pérdidas.

En dependencia de los datos de los que se dispongan se hará necesario, para facilitar el cálculo, la aplicación de balances parciales en función de fibras o sólidos:

- Para el balance en fibra:

$$\text{Masa del bagazo} = \frac{\text{Masa de la caña} * \% \text{ de fibra en caña}}{\% \text{ de fibra en bagazo}}$$

- Para el balance de sólido:

$$\text{Sól. en jugo diluido} = \text{Sól. en jugo sin diluir}$$

$$\text{Masa de jugo diluido} = \text{Masa de jugo sin diluir} + \text{Masa de agua de dilución}$$

$$\% \text{ de agua de imbibición en caña} = \frac{\text{Masa del agua}}{\text{Masa de caña}} * 100$$

$$\text{Masa del jugo mezclado} = \% \text{ extracción del jugo mezclado} * \text{Masa total de caña}$$

$$\text{Masa del jugo diluido} = \text{Volumen del jugo diluido} * \rho$$

Es necesario aclarar que la incorporación de la prueba de la fermentación espontánea a la prueba de la resazurina y a la determinación de dextrana en jugos le va a aportar a este sistema integrado de métodos la capacidad, además de identificar la presencia de microorganismos tanto en el jugo como en la caña, determinar las pérdidas por degradación de la sacarosa y evaluar su repercusión en la esfera económica; permitiendo una mayor exactitud, confiabilidad, sencillez y menores costos en el uso fabril para lograr la toma de decisiones estratégicas que frenen o mitiguen la acción de los microorganismos basándose en sus resultados.

## **2.1 Conclusiones parciales**

1. Se propone una metodología que integra y organiza los procedimientos para la evaluación de la actividad microbiana en un tándem de molinos que permite identificar el grado de contaminación por la acción microbiana, por formación de dextrana y la cuantificación de la sacarosa degradada.
2. La metodología propuesta permitirá establecer medidas de control de la actividad microbiana en la sección de extracción del jugo.

## **Capítulo 3: Aplicación de la metodología para la evaluación de la actividad microbiológica en un tándem de molinos. Caso de estudio UEB Melanio Hernández**

Se realiza un análisis del comportamiento de los principales parámetros que reflejan las acciones microbiológicas en los molinos y en la materia prima procesada en la UEB Melanio Hernández durante los meses de enero hasta marzo de la pasada zafra correspondiente al 2020 – 2021.

El diagnóstico es una herramienta que permite obtener información primaria relacionada con la presencia de los microorganismos en la etapa de extracción del jugo de caña. Mediante la toma y análisis de datos obtenidos del laboratorio de la UEB se puede conocer los principales factores que provocan un mal funcionamiento de las condiciones higiénicas de los molinos, lo cual es fundamental para planificar cualquier tipo de estrategia para su control; sin embargo, no fue posible obtener la totalidad de los datos necesarios para la aplicación de la metodología propuesta debido a la situación de pandemia que ha estado afectando a nuestro territorio y al resto del mundo durante la realización de este estudio. De ahí la importancia de realizar diagnósticos que proporcionen datos precisos y actualizados, como elementos críticos para la adecuada gestión de la acción microbiana en este sector industrial.

### **3.1 Diagnóstico sobre la calidad de la materia prima y de las condiciones higiénicas en la sección de extracción**

En la sección de los molinos de la UEB Melanio Hernández la caña ya pesada y lavada es conducida a los molinos donde pasa por 2 juegos de cuchillas (picadoras) que cortan la caña en pedazos, con esto se consigue una mejor preparación de la caña para la molienda, aumentando el área de contacto entre la caña y los molinos. La combinación de tres masas dispuestas en forma triangular es la unidad de molienda. La caña se hace pasar por cinco molinos dispuestos en forma de serie. Al mismo tiempo se agrega agua proveniente de los condensadores a una temperatura entre 50 y 60°C para mejorar la extracción del jugo e inhibir el desarrollo microbiano.

El jugo que sale del primer molino se conoce como jugo primario, el cual no contiene agua de dilución, el jugo que sale de los molinos ya mezclado con agua se llama jugo diluido y cuando estos se juntan al final de la estación toman el nombre de jugo mezclado.

En las tablas 3.1, 3.2 y 3.3 se reportan datos con los resultados obtenidos diariamente del contenido de dextrana presente en el jugo primario, en el jugo mezclado y en el producto final, así como factores de gran importancia en el deterioro de la materia prima y el jugo de caña como son el porcentaje de caña quemada, el porcentaje de caña atrasada y el porcentaje de materias extrañas.

**Tabla 3.1: Datos del mes de enero**

Mes de Enero								
Día	Jugo Primario Dextrana (% Brix)	Jugo Mezclado Dextrana (% Brix)	Dextrana Azúcar (ppm)	Horas de Molida (h)	Caña Quemada (%)	Caña Atrasada (%)	Carros Atrasados (%)	Materias Extrañas (%)
10	0,69	0,4		9	0	8,8397	1,111	7,73
11	0,29	0,31	<b>396</b>	10	0	10,7952	10,6195	8,97
12	0,14	0,38	183	8	0	40,781	28,5114	11,27
13	0,65	0,49	194	9	0	37,4322	29,0698	7,86
14	0,45	0,37	196	6	0	53,8595	44,7368	10,1
15	0,39	0,35	193	9	0	49,6537	47,5	9,11
16	0,24	0,4	187	6	0	27,9492	24,5902	13,19
17	<b>Parada</b>							
18			<b>267</b>	2	0	100	100	6,67
19	0,51	0,96	<b>281</b>	9	0	96,0404	98,913	8,35
20	0,42	0,37	198	10	0	38,8326	35,1064	9,98
21	0,26	0,34	194	9	0	41,2837	37,5	11,67
22	0,38	0,33	197	8	0	26,2421	20,4545	8,29
23	0,37	0,47	177	8	0	20,0898	16,8675	6,17

24	0,4	0,26	186	7	0	18,1753	10,6667	8,49
25	0,26	0,36	172	8	0	9,0507	6,4516	9,64
26	0,08	0,29	136	4	0	0	0	13,07
27	0,09	0,22	153	11	4,061	41,7498	32,6316	9,62
28	0,11	0,29	188	9	0	23,0444	20,7317	9,48
29		0,13	161	5	13,4604	73,4859	75,4717	8,32
30		0,14	147	9	3,7699	46,4084	42,7083	4,63
31	0,24	0,41	170	10	0	30,6132	24,2424	6,62
Prom.	0,33	0,36	198,80	7,90	1,01	37,83	33,71	9,01

En el mes de enero el comportamiento de la dextrana en el producto final de forma general se comportó sobre la norma con valores entre 136 y 198 con afectaciones en 3 días donde los valores sobrepasaron la norma. Estos valores en este mes se ven afectados en dos de los casos en que el total de la materia prima presentó atraso en la llegada a la industria lo que provocó un aumento en la biota del jugo primario y el jugo mezclado alcanzando valores de hasta 0,96 % de dextrana en jugo lo que indica que la mayor afectación ya venía en la caña a procesar y en el otro caso la causa fundamental de contaminación se presentó a parte de los carros atrasados, a las horas de molienda.

**Tabla 3.2: Datos del mes de febrero**

Día	Jugo Primario Dextrana (% Brix)	Jugo Mezclado Dextrana (% Brix)	Dextrana Azúcar (ppm)	Horas de Molidas (h)	Caña Quemada (%)	Caña Atrasada (%)	Carros Atrasados (%)	Materias Extrañas (%)
1-Feb	0,2	0,17	194	9	0	27,2048	19,2771	6,81
2	0,16	0,26	124	5	0	26,1962	19,6721	8,55
3		0,14	187	5	0,2156	81,5184	85,7143	6,44
4	0,19	0,28	103	11	0	0,5949	23,3645	10,33

5	0,04	0,08	133	8	0,2892	35,3623	31,1688	5,73
6	0,33	0,38	154	6	0	34,005	27,6923	9,35
7			Parada					
8		0,24	147	8	0	23,9741	23,0769	9,46
9	0,22	0,36	171	7	0	23,6696	10,4478	10,58
10	0,22	0,38	128	10	0,9335	33,7488	27,6596	6,22
11	0,23	0,31	182	6	3,8215	15,4859	8,4746	5,21
12	0,22	0,31	188	7	8,2255	76,2289	75,8065	4,81
13	0,45	0,5	191	9	7,5682	65,0339	54,9451	6,27
14	0,78	0,85	176	5	3,3289	90,6206	84,0909	7,97
15			142	7	1,5214	64,6837	64,4068	6,44
16	0,56	0,43	322	8	2,5146	58,231	46,9136	6,07
17			273	8	3,8443	40,216	26,1905	9,24
18	1,03	1,46	256	7	0	23,3837	11,6667	9,19
19			221		2,7461	57,3198	40,9091	9,83
20			269		1,8098	36,1686	32,0755	8,82
21			236		3,385	46,7865	38,5417	8,29
22			183		0	70,0645	58,8235	7,94
23	0,96	0,73	366	5	2,918	13,0329	15,5556	7,44
24	0,67	0,48	315	5	5,2864	100	100	9,32
25	0,87	0,95	292	9	10,1488	43,5873	45,7447	9,44
26		0,2	404	9	4,966	26,7497	23,3333	8,29
27	0,89	0,56	387	10	2,94	44,1081	34,8837	7,3
28	0,8	0,5	333	7	0	49,3205	36	7,85
Prom.	0,49	0,46	225,07	7,43	2,43	44,71	39,50	7,90

Durante el mes de febrero las afectaciones por el polisacárido resultaron más severas ya que de 27 días de molienda, 12 se vieron afectados por la presencia de la dextrana. En este caso al igual que en el anterior mes, las principales causas de la contaminación ya venían desde el campo debido al atraso de los carros, a las horas de molienda y a las condiciones de la caña quemada lo que propiciaron que el contenido de dextrana en el jugo primario se elevara, trayendo consigo infección en los molinos que provoca alteraciones en la calidad del producto final.

**Tabla 3.3: Datos del mes de marzo**

<b>Día</b>	<b>Jugo Primario Dextrana (% Brix)</b>	<b>Jugo Mezclado Dextrana (% Brix)</b>	<b>Dextrana Azúcar (ppm)</b>	<b>Horas de Molienda (h)</b>	<b>Caña Quemada (%)</b>	<b>Caña Atrasada (%)</b>	<b>Carros Atrasados (%)</b>	<b>Materias Extrañas (%)</b>
1	0,43	0,93	308	9	1,9615	53,0024	34,375	7,92
2	0,68	0,95	369	10	8,9415	83,5028	87,6404	8,22
3					Parada			
4		0,5	436	3	2,7683	87,5418	71,875	10,1
5	0,42		391	12	11,0997	78,6248	67,7966	4,62
6	0,55	0,8	342	6	6,1946	45,2426	34,6939	9,38
7	0,19	0,33	379	6	10,9048	81,2401	73,0769	7,13
8	0,82	0,3	248	9	9,0453	82,1348	79,5455	9,24
9								
10								
11					Parada			
13								
14								
15		0,3	422	8	4,597	93,8059	89,6104	8,15

16		0,29	337	7	1,8201	64,9328	62,5	10,91
17	0,21	0,46	448	7	1,2904	32,5462	26,8657	9,91
18	0,25	0,44	396	7	2,7782	25,2406	22,4138	9,36
19	0,22	0,42	364	8	6,2112	47,116	36,3636	6,05
20	0,41	0,61						
21		0,35	337	8	4,727	64,602	58,9041	7,07
22	0,4	0,65	281	7	1,1334	55,3166	47,3684	9,24
23	0,76	0,87	496	4	3,0933	72,2493	35,8974	7,66
24	0,22	0,24	465	8	1,6429	37,9127	32,0513	7,61
25	0,25	0,3	471	6	15,8456	33,8098	22,6415	6,87
26	0,67	0,75		7				
27	0,61	1,12	485.5	8	26,2598	39,9147	23,8095	7,46
28	0,55	0,97	515	5	15,6677	72,6018	56,6038	7,26
29	0,26	0,61	486	8	21,4399	70,0387	0	0
30	0,22	0,37	449	5	32,8226	11,1309	6	8,84
31								
Prom	0,43	0,57	401,21	7,18	9,06	58,69	7,76	7,76

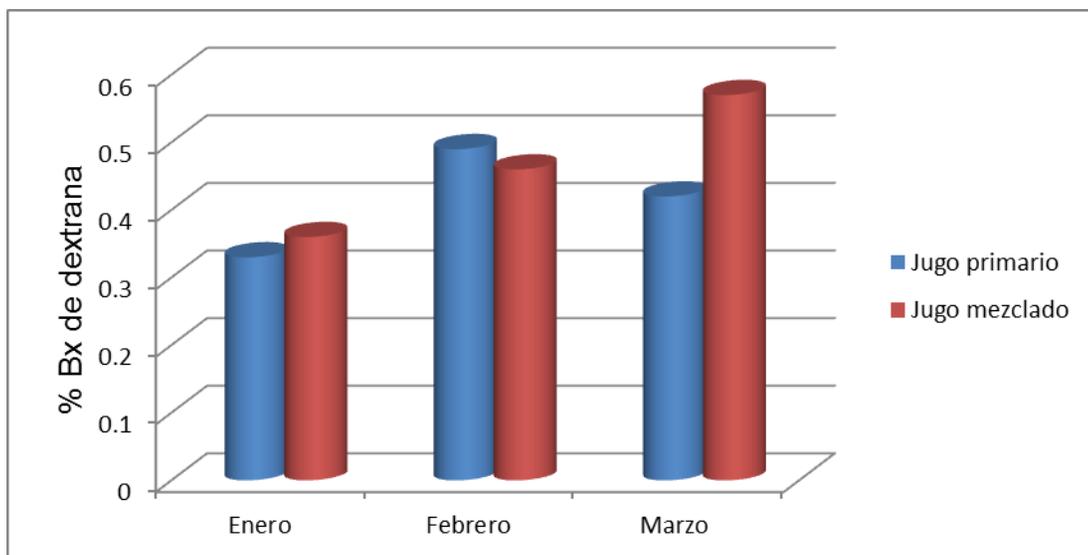
En este mes se puede apreciar claramente que ya existía en el tándem de este central una alta actividad microbiana, cuando a pesar del atraso de los carros y que la caña fuera quemada, las mayores afectaciones se ven en el aumento del contenido de dextrana durante el paso del jugo por los molinos, (valores en aumento del jugo primario al jugo mezclado) lo cual indica que las condiciones higiénicas en esta sección no eran las adecuadas a pesar de que los valores de dextrana en el jugo primario también estaban elevados debido al deterioro de la caña de azúcar. Los datos evidencian la necesidad de aplicar medidas para la minimización de la acción microbiana en la UEB caso de estudio.

### 3.1.1 Comportamiento promedio del diagnóstico sobre la calidad de la materia prima y de las condiciones higiénicas en la sección de extracción.

Desde la cosecha de la caña hasta la extracción de los jugos son etapas del procesamiento de la caña de azúcar que favorecen la proliferación de los microorganismos y por tanto el incremento de los metabolitos microbianos. Al interior de la fábrica, en los molinos donde el jugo es extraído y éste transita a lo largo del tándem, se hace aún mayor la susceptibilidad de la sacarosa a ser consumida por los microorganismos presentes.

Una vez la caña ingresa al tándem de molinos y se obtiene el jugo de primera extracción, las características de este material son un indicador parcial de la calidad de esa caña.

El comportamiento de los parámetros reportados en las tablas 3.1, 3.2 y 3.3 se puede observar en el gráfico 1.



**Gráfico 1 Porcentaje de dextrana en jugo primario y jugo mezclado por meses.**

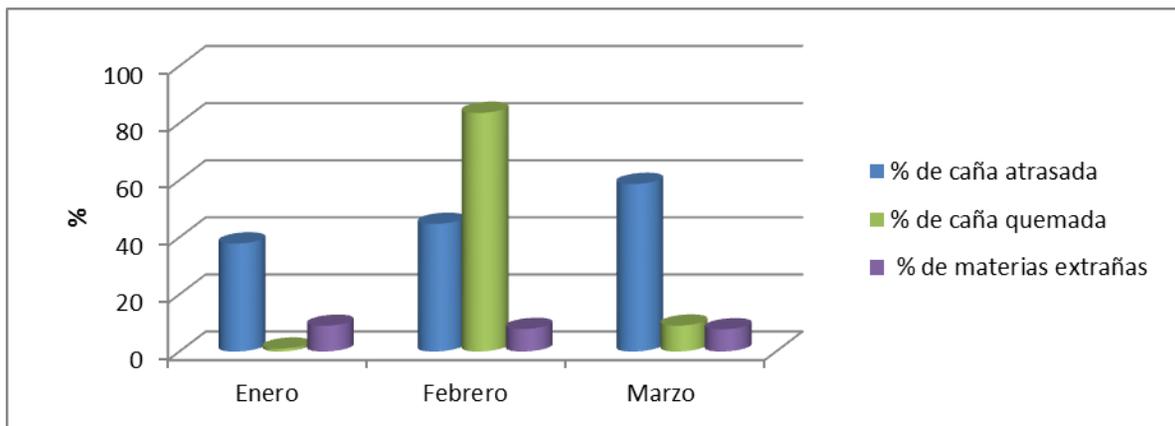
En el gráfico se puede apreciar jugos de diferentes calidades, ya que para que se demuestre que la caña arribó a la fábrica en condiciones favorables los valores de dextrana en %Bx del jugo de primera extracción deben estar cercanos a 0,05 y en este caso analizado el %Bx de dextrana se alejan de 0,05 %Bx aumentando, en el mejor de los casos, en casi 6 veces su valor mínimo, lo que indica que la materia prima muestra indicadores de deterioro desde el inicio del proceso.

Los factores por los cuales se ve influenciado este incremento de la actividad microbiana en el jugo de la primera extracción que indican el deterioro de la caña durante el mes de enero

es el porcentaje de caña atrasada que supera el 30%, lo que infiere que la principal causa del deterioro fue provocada por la demora entre el corte y la molienda.

En el siguiente mes además de la influencia del atraso de la caña al llegar a la industria, otro factor que provocó una biota en la materia prima mayor que la del mes anterior, fue la quema de la caña que alcanzó valores cercanos al 80% del total de la caña molida cuyo tipo de cosecha según la bibliografía analizada unido al retraso favorecen la proliferación microbiana en la caña de azúcar.

Sin embargo, en el transcurso del mes de marzo los valores se comportan de manera similar al del mes de enero solo con un incremento en el %Bx de dextrana que se ve influenciado por el tiempo entre la cosecha y la molienda. Por lo que se puede concluir que en la UEB Melanio Hernández las principales causas del deterioro de la caña de azúcar es provocado por el atraso de los carros que transportan la materia prima y el tipo de cosecha, en este caso, la caña quemada, como se puede apreciar en el gráfico 2.



**Gráfico 2 Comportamiento de los principales parámetros causantes del deterioro de la materia prima.**

Además, en el gráfico 1 se puede observar el comportamiento típico de los metabolitos microbianos en el tándem de molienda, donde se aprecia el incremento de la concentración de dextrana en el jugo primario al pasar por la sección de molienda lo que indica que a pesar de que las condiciones de la caña de azúcar no eran las idóneas, la situación higiénica en esta etapa tampoco eran las requeridas lo que interfirió en que la calidad del jugo primario al pasar a jugo mezclado en vez de mejorarse lo que hizo fue aumentar en número de microorganismos.

Esto indica que en los casos analizados se presenta un aumento de metabolitos a lo largo del tándem, sin embargo es importante mencionar que cuando ingresa caña con porcentaje de retraso superior al 30% las concentraciones de dextrana en el jugo mezclado son elevadas (0.36 hasta 0.57 %Brix respectivamente) y a medida que aumenta el porcentaje de caña atrasada, se hace mayor la generación de metabolitos microbianos, haciendo que los esfuerzos de la fábrica por tener el tándem limpio no sean visibles.

A partir de esta evaluación se llega a la conclusión de que existe presencia de actividad microbiana en el tándem de los molinos de este central, lo que indica que se debe aplicar diferentes indicadores que permitan detectar de forma confiable y precisa la acción de los microorganismos en esta sección.

Este procedimiento no fue posible realizarlo debido a la situación de pandemia que existe en Cuba y el resto del mundo, además de que el estudio se realizó en período de tiempo muerto. Por tanto solo se dispone de la determinación del contenido de dextrana en el jugo primario y el jugo mezclado, tal como se reporta en el análisis del gráfico 1.

Las pruebas de la determinación de dextrana en jugos y la prueba de la resazurina son de gran utilidad para evidenciar la presencia y acción de los microorganismos en el proceso pero no permiten cuantificar las pérdidas que se ocasionan por la degradación de la sacarosa en los molinos, por tal motivo es que proponemos la determinación de un tercer indicador: la prueba de la fermentación espontánea.

### **3.1.1 Ejemplo de cálculo de las pérdidas de azúcar por la acción de los microorganismos en los molinos.**

La prueba de la resazurina y la fermentación espontánea no fue posible aplicarla en este estudio por motivos ya planteados con anterioridad. Dada su importancia y la necesidad de disponer de estos resultados para continuar con la aplicación de la metodología propuesta se trabajó con datos reportados por (Fonseca, #46) donde se realizan muestreos del jugo primario y mezclado cada 2 horas. A ambos jugos se le determinaron las siguientes pruebas:

- Prueba de la resazurina:

Tiempo de reducción de la resazurina (TR) (Valor promedio en 130 días de zafra)

TR Jugo Primario	TR Jugo Mezclado	$\Delta$
2,(Fonseca) 90 horas	2,69 horas	0,21

- Prueba de la fermentación espontánea:

% de degradación de la sacarosa en 4 horas ( $S_1 - S_2$ )

$(S_1 - S_2)$ Jugo Primario	$(S_1 - S_2)$ Jugo Mezclado	$\Delta$
2,46%	3,79%	1,33

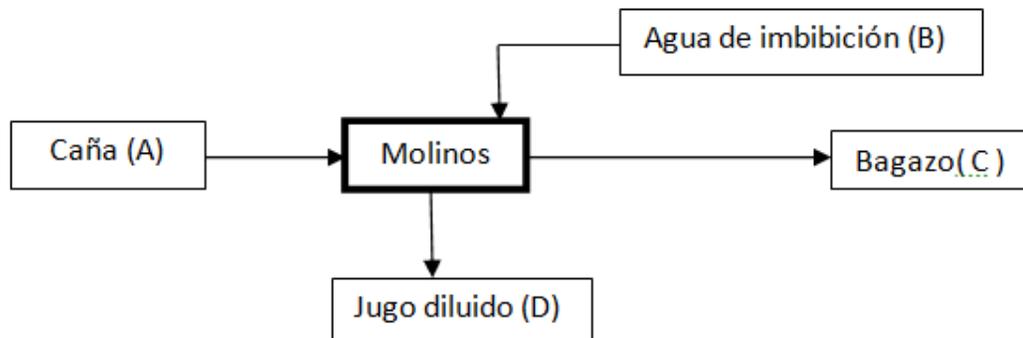
- Determinación del contenido de dextrana (%Bx):

Jugo Primario	Jugo Mezclado
0.064	0.133

Para el cálculo de las pérdidas de origen microbiano en los jugos del tándem durante esta zafra, conociendo el peso del jugo diluido con un valor de 1580.30 toneladas, (duración de la zafra: 130 días) y el precio del azúcar crudo de 3200 \$/t se procede de la siguiente manera:

Datos:

Diagrama de bloque de la sección de molienda



Peso del jugo diluido = 1580,30 t

Duración de la zafra = 130 días

Por datos de la prueba de la fermentación espontánea se tiene que  $\Delta = 1,33$  para una degradación de la sacarosa en 4 h por tanto para 0,5 h, que es el tiempo de retención en los molinos, según análisis bibliográficos,  $\Delta = 0,166$  %

Según el procedimiento descrito anteriormente analizaremos los datos para las tres pruebas:

- La prueba de la resazurina:

Cuando se analiza la tabla de los valores promedios de la zafra como el tiempo de reducción menos el tiempo de reducción del jugo mezclado es igual a 0,21 ( $\Delta$ ) esto se puede traducir a que existe un ligero incremento del número de microorganismos en el tándem y según la relación hallada por Hernández, ya antes descrita, para estimar el número de microorganismos presentes en el jugo se tiene que  $y = 35,36 - 6,78x$  donde  $y$  es el número de microorganismos por mililitros de jugo y  $x$  el tiempo de reducción en horas de la resazurina, por tanto, para;

El jugo de primario:  $y = 15,69$  mo/ml

El jugo mezclado:  $y = 17,12$  mo/ml

Estos resultados indican que el aumento de la actividad microbiana durante el recorrido del jugo por el tándem es ligero.

Para añadirle los avances de la modificación es necesario determinar el IC:

$IC = CM_{JM} - CM_{JP} = 1.86 - 1.72 = 0.14$  este valor indica el incremento de la actividad microbiológica en el transcurso del jugo por la sección de molienda.

Donde  $CM_{JP} = 5 / Tr_{JP} = 5 / 2,90h = 1,72$  y  $CM_{JM} = 5 / Tr_{JM} = 5 / 2,69h = 1.86$

Además, según la tabla de los límites que se reporta en el Anexo 3 nos permite decir que la calidad de la materia prima es buena y la actividad microbiológica en el tándem es mínima.

- Determinación de dextrana en jugos:

Para el análisis de este método se realiza una comparación entre los °Bx de los jugos donde se puede apreciar que la caña en ese período de zafra traía una leve contaminación, es decir al ver el valor de los °Bx del jugo primario se ve que excede el valor mínimo de dextrana que presenta la caña en buen estado, 0,05°Bx, y en el caso del jugo mezclado el valor promedio durante la zafra es de 0.064°Bx lo que indica un pequeño deterioro de la materia prima. Por otra parte, cuando se compara este jugo perteneciente al primer molino con el jugo mezclado se ve que el valor aumenta en 2,078 lo que indica que durante el transcurso del jugo por los molinos la acción del polisacárido es relativamente ligera, al validar así los resultados obtenidos con la prueba de la resazurina.

- Prueba de la fermentación espontánea:

Como se ha podido apreciar en un período de tiempo equivalente a 0,5 h la degradación de la sacarosa alcanza un valor de 0,166 % lo que equivale a valores relativamente bajos. Sin

embargo, cuando se realiza el análisis comparativo entre el jugo primario y el mezclado se tiene que, para un tiempo de 0,5 h, que es el tiempo de retención en los molinos, se obtiene:

El jugo primario:  $(S_1 - S_2) = 0,31 \%$

El jugo mezclado:  $(S_1 - S_2) = 0,47 \%$

Que los niveles de contaminación en los molinos son mínimos lo que valida lo antes determinado por la prueba de la resazurina y la determinación de dextrana en jugo.

Pero como este método también nos permite calcular las pérdidas de sacarosa durante la molienda, basándonos en la metodología anteriormente propuesta y el valor del peso de jugo diluido que dan por datos se puede estimar el valor de las pérdidas.

De la siguiente manera

Pérdidas =  $0,166 \%$  \* Peso del jugo diluido

Pérdidas =  $1,66 \cdot 10^{-3} \cdot 1580,30 \text{ t}$

Pérdidas = 2,62 t de sacarosa

En caso de que no tuviésemos por datos el valor del peso del jugo diluido tendríamos que determinarlo por balances en la estación de los molinos según los datos de los que se dispongan.

Como este método nos da la oportunidad de evaluar económicamente las pérdidas se tiene que:

Pérdidas económicas = 2,62 t de sacarosa \* 3200\$/t de sacarosa = 8384 \$.

La incorporación al proceso de ácidos orgánicos y dextranas como resultado de la acción de los microbios puede presentar problemas no solo de carácter microbiológico sino también de carácter tecnológico como pueden ser: (Normalización 2013)

- Clarificación/ filtración: La presencia de dextranos en los jugos del molino dan lugar a una pobre clarificación. (Stewart 1964) (Tilbury 1971)
- Cristalización: Ocasionalmente ocasionan una reducción en la velocidad total de crecimiento del cristal, así como su elongación a lo largo del eje C.
- Polarimetría: Aumenta una falsa polarización e introduce errores en los análisis del azúcar, alterando el balance de sacarosa de la fábrica. (Chou 1980)

- Viscosidad: influye directamente en las velocidades de transferencia de calor, agotamiento de las mieles y eficiencia del purgado. (Geronimos 1978)

### **3.2 Propuesta de medidas para la prevención, minimización y control de la contaminación en las primeras etapas del proceso de producción de azúcar crudo.**

La necesidad de reducir costos de producción y satisfacer al mercado con azúcar de calidad alta y estable, ha obligado a cambios en la tecnología para desarrollar productos químicos que permitirán reducir los problemas de la dextrana presente en el jugo de caña. Existen métodos físicos para controlar la dextrana como la filtración al vacío, membrana de diálisis y osmosis inversa, que han demostrado que pueden ser utilizados como una alternativa, pero no son económicamente viables. (Jiménez 2005)

También se emplean las técnicas de saneamiento con vapor del equipamiento productivo cada 8 horas durante el funcionamiento del central, y el uso de biocidas sobre la caña en el tándem. Cualquier eventualidad que retarde el arribo de la caña cortada al central, por encima de 14 horas en un ambiente cálido y húmedo, actúa de forma favorable en la formación de las dextranas, las cuales alcanzarán los molinos y entrarán con el jugo al flujo industrial.

Los resultados obtenidos durante el desarrollo de la metodología propuesta generan conductas para el control de la actividad microbiana en tres direcciones: operativa inmediata, operativa diaria y estratégica. Además, se consideran decisiones sobre cultivo, variedades y otras que no dependen de la operación de cosecha y transporte, porque en esta última, la consideración es que la restricción de la actividad microbiológica se realizará principalmente por la reducción del tiempo ente quema-corte-transportación-molida. A continuación, se muestra en la tabla 3.4 una relación del análisis de problema con las posibles conductas a tomar tanto en el laboratorio como en el área de riesgo de contaminación de la materia prima.

**Tabla 3.4: Conductas según resultados de actividad microbiológica en caña.**

Inmediatez de conducta	Resultado	Conducta laboratorio	Conducta lógica Cosecha-transporte
Operativa inmediata	Contaminación por	Aviso al centro de	Lavado de caña con

	microorganismos en la materia prima (caña).	limpieza para la aplicación de medidas	agente desinfectante.
Operativa inmediata	Contaminación por falta de higiene en corte mecánico de la caña (infecciones bacterianas)	Aviso al Tándem para aplicación de medidas asociadas	Técnicas de saneamiento con vapor del equipamiento productivo cada 8 horas.
Operativa inmediata	Muestra con alto contenido de dextrana	Aviso al Tándem para aplicación de desinfectante y medidas asociadas	Prioridad extraordinaria de corte-alza y transportación para la caña

Como la acción de los microorganismos no solo se limita a degradar la calidad de la caña sino también a incorporarle productos no deseados al jugo, pues se orientan medidas dirigidas a reducir o evitar la actividad de los microbios en este preciado líquido como indica la tabla 3.2.

**Tabla 2.2: Conductas según resultados de actividad microbiológica en área de extracción.**

Inmediatez de conducta	Resultado	Conducta laboratorio	Conducta lógica Cosecha-transporte
Operativa inmediata	Contaminación por metabolitos en el proceso	Informa a operario para aplicación extraordinaria de desinfectante a shock	Aplica bactericida extraordinaria en forma de shock
Operativa inmediata	Contaminación por canales de	Informa a operario de asepsia. Declara	Aplica limpieza extraordinaria sobre

	transporte de jugo mezclado, tanques y áreas aledañas no sanitarias.	Punto Crítico.	órganos indicados y aplica vapor si es posible
Operativo estratégico diario y/o semanal	Contaminación por falta de higiene en el área de coladores	Análisis administrativo en área de coladores para tomar medidas que correspondan con resultados generales	Si procede se hacen cambios en procedimientos de limpieza y desinfección, así como en operaciones

A parte de estas medidas propuestas para el control microbiana tanto en la caña como en el jugo, es preciso destacar que en esta entidad se han realizado estudios para la aplicación de la enzima dextranasa como un método de control para la reducción de los altos contenidos de dextrana detectados en esta UEB.

El CIGB de la provincia de Sanctis Spíritus determinó que el empleo de la enzima dextranasa lote 1904 con 1200 U/mL a 15 ppm aplicada a muestras tomadas de jugo primario, jugo mezclado, jugo filtrado, jugo alcalizado y la meladura redujeron los niveles de dextrana presente en ellos con mejores resultados en los dos primeros jugos mencionados, por lo que llegaron a la conclusión de que cabe la posibilidad de que este sea un método eficiente para la hidrólisis de las dextranas en el central azucarero. Para llegar a esta conclusión se basaron en la evaluación a escala de laboratorio de muestras con y sin la enzima para comparar los niveles de reducción del polisacárido.

### 3.3 Conclusiones parciales

1. La caña de azúcar procesada por el central en el periodo analizado muestra indicios de deterioro y contaminación del jugo donde los principales parámetros que lo indican son: tiempo prolongado entre el corte y la molienda y el procesamiento de caña quemada.

2. Las pérdidas por degradación de la sacarosa en los molinos reportan afectaciones económicas en el orden de \$8384 por 130 días de zafra según el caso hipotético analizado.
3. Las medidas propuestas están orientadas fundamentalmente al control de las condiciones higiénicas en el tándem de la UEB Melanio Hernández y a aplicar limpieza sistemática, bactericidas y preparados enzimáticos que minimicen la biota de los jugos y no degraden la calidad de la materia prima.

## Conclusiones

1. La literatura revisada permitió asumir supuestos teóricos acerca de la situación actual de la contaminación por la acción microbiana de la industria azucarera.
2. La metodología propuesta integra y organiza los procedimientos para la evaluación de la actividad microbiana en un tándem de molinos identificando el grado de contaminación por formación de dextrana y la cuantificación de la sacarosa degradada, estos resultados permiten establecer medidas de control.
3. La aplicación de la metodología en la UEB Melanio Hernández demostró que en el período analizado se procesaron cañas con cierto grado de deterioro, causada por el tiempo de retraso entre el corte y la molienda, que ocasionaron ligera infección en los molinos
4. La aplicación de medidas de control de forma inmediata y continua sobre las afectaciones causadas por los microorganismos, permiten un mejor desarrollo del proceso obteniendo que las pérdidas por la acción microbiana para la fábrica no sean significativas.

## Recomendaciones

1. Aplicar la metodología y realizar los cálculos con valores reales de la industria.
2. Mantener el programa de control microbiológico en el tándem, como medida de control para evitar incrementos en la actividad microbiológica, con el estudio del empleo de la enzima dextranasa.
3. Analizar otras posibles causas de incremento en la actividad microbiológica en el tándem de molinos y otras etapas del proceso.

## Bibliografía

1. Austin, R. (1992). Producciones más limpia en la Industria Azucarera.
2. Cerutti de Guglielmone, G., et al. (2000). "Control microbiológico en la industria azucarera: Empleo de agentes de sanitización puros y en mezclas." Rev. Ind. y Agric. De Tucumán **77**(2): 19-27.
3. Clarke, W. (1968). "A study of the role of starch in the growth of sugar cane and the manufacturing of cane sugar." Proc. inter. Soc. Sugar Cane Technol
4. Cuddihy, J. and D. Day (1999). "The process and financial impact of dextran on a sugar factory." Sugar Journal **3**: 27-50.
5. Cuddihy, J. A., et al. (2001). "The presence of total polysaccharides in sugar production and methods for reducing their negative effects." J Am Soc Sug Cane Technol **21**: 73-91.
6. Daza, Z., et al. (2009). Participación en la acción microbiológica en las pérdidas indeterminadas de sacarosa. Memorias del VIII Congreso de Cenicañal.
7. De Rosa, S., et al. (1988). "Cacospongionolide. A new antitumoral sesterterpene, from the marine sponge Cacospongia mollior." The Journal of Organic Chemistry **53**(21): 5020-5023.
8. Don, C., et al. (1977). Calorific values of South African bagasse. Proc S Afr Sug Technol Ass, Citeseer.
9. Eggleston, G., et al. (2009). "Application of dextranases in sugarcane factory: Overcoming practical problems." Sugar Tech **11**(2): 135-141.
10. Fonseca, J. J. Actividad de los microorganismos en el proceso de producción de azúcar orgánico. Departamento de Ingeniería Química, Univercidad Central Marta Abreu de Las Villas. **Trabajo de Diploma.**
11. Heijungs, R. (1992). "Environmental Life Cycle assessment of products, Center of Environmental Science."
12. Hernández, M. T. (1986). "Microbiología de la producción azucarera. Producciones microbianas derivadas." Universidad central de las villas, Cuba.

13. Hernández, M. T. and T. Sainz (1987). "Microbiología de la industria azucarera. ." Ed. Universidad Central de las Villas.
14. Hongqiao, L. and U. Matthias (2001). "Characterization and mutational analysis of three allelic *lsc* genes encoding levansucrase in *Pseudomonas syringae*." *Journal of bacteriology*.
15. Honig, P. (1969). *Principios de tecnología azucarera*.
16. Jang, E.-K., et al. (2002). "Molecular characterization of the levansucrase gene from *Pseudomonas aurantiaca* S-4380 and its expression in *Escherichia coli*." *Journal of microbiology and biotechnology* **12**(4): 603-609.
17. Jiménez, E. R. (2005). "La dextranasa a lo largo de la industria azucarera." *Biotecnología aplicada* **22**(1): 11-19.
18. Jiménez, L. O. N. "CONTROL MICROBIOLÓGICO EN CAÑA Y TÁNDEM. RESULTADOS EN INGENIOS DE GUATEMALA."
19. Kumar, S. and P. Agrawal (2002). "Studies on possibility of using ICUMSA microbiological pour plate methods for refined sugars for enumeration of microbial populations in primary and mixed sugarcane juice." *Sugar tech* **4**(1): 7-13.
20. Legendre, B. (1992). "The core/press method for predicting the sugar yield from cane for use in cane payment." *Sugar J* **54**(9): 2-7.
21. Legendre, B., et al. (1999). "Developments in sugarcane agriculture that affect processing." *Zuckerindustrie* **124**.
22. Long, E. D., et al. (2014). "The Prokaryotes." Londres: Springer Reference.
23. Mackrory, L., et al. (1984). "A comparison of the microbiological activity associated with milling and cane diffusion." *Proceedings of The South African Sugar Technologists' Association-June* **8**: 7.
24. MACU (1975). "Manual analítico para el Control Unificado (MACU) de alcohol y levadura *Sacharomyces*. ." *Control analítico Parte 1*.
25. MINAZ (1995). "Manual de operaciones para la producción de azúcar crudo de caña." Capítulo 12. La Habana.

26. Mora, O., et al. (2009). "Evaluación de biocidas para el control de contaminantes en las plantas de azúcar y etanol de los Ingenios Providencia S.A. y Mayagüez S.A. VII Congreso." Asociación de Técnicas de la Caña de Azúcar.
27. Morrell, I. (1984). "Tecnología azucarera."
28. Normalización, I. N. d. I. e. (2013). "Determinación de POL en Azúcar. Método polarimétrico." NC 83:2000.
29. Peredo, S. (2017). "Factores fisicoquímicos que afectan la sacarosa durante el proceso industrial." Presentacion en Seminario internacional de producción y optimización de la sacarosa. Cali, Colombia: TECNICAÑA.
30. Ravnö, A. (2001). Microbial degradation in sugar cane diffusers. International Society of Sugar Cane Technologists. Proceedings of the XXIV Congress, Brisbane, Australia, 17-21 September 2001. Volume 1, Australian Society of Sugar Cane Technologists.
31. Rein, P. (2012). Ingeniería de la caña de azúcar, Bartens Berlin.
32. Riley, S., et al. (2003). "Adaptive impact management: an integrative approach to wildlife management." Human dimensions of wildlife **8**(2): 081-095.
33. Rossi, G. (2008). Sugarcane Variety notes., An international directory.
34. Santos, M., et al. (2000). "Production of dextranucrase, dextran and fructose sucrose, using *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B512." Biochemical Engineering Journal.
35. Serrano, L. (2006). "Determinación de las Poblaciones Microbiológicas en el Proceso de Extracción de Jugo de Caña de Azúcar en el Ingenio Manuelita SA Trabajo de Grado Microbiólogo Industrial, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá– Colombia." Bogotá, DC Colombia.
36. [www.cenicana.org/pop\\_up/fabrica/diagrama\\_obtencion.php](http://www.cenicana.org/pop_up/fabrica/diagrama_obtencion.php) (2004). Obtenido de Proceso de obtención de azúcar, CENICAÑA.

## Anexos

Anexo 1: Sistema de cosecha o recolección más usados en la actualidad



MANUAL



SEMIMECANIZADO



MECANIZADO

Anexo 2: Superficie cosechada, producción y rendimiento de la caña de azúcar por zafra

	Superficie cosechada		Producción		Rendimiento por hectárea	
	(ha)		(t)		(t)	
	Ambos sectores	No Estatal	Ambos sectores	No Estatal	Ambos sectores	No Estatal
ZAFRAS						
2010/2011	58 771,6	58 771,6	1 810 165,2	1 810 165,2	30,8	30,8
2011/2012	26 150,4	26 150,4	937 491,7	937 491,7	35,9	35,9
2012/2013	28 288,6	28 288,6	1 045 829,6	1 045 829,6	37,0	37,0
2013/2014	34 209,3	34 209,3	1 091 276,4	1 091 276,4	31,9	31,9
2014/2015	26 193,9	26 193,9	1 131 576,4	1 131 576,4	43,2	43,2

Anexo 3: Composición cualitativa de la biota del jugo.

Tipo de cosecha	Tiempo de atraso		
	0 horas	24 horas	48 horas
Verde entera	Micrococcus Staphylococcus Escherichia Arthrobacter	Bacillus Arthrobacter Leuconostoc Staphylococcus	Bacillus Arthrobacter Leuconostoc Aerobacter
Verde troceada	Bacillus Micrococcus Staphylococcus Arthrobacter Escherichia	Bacillus Micrococcus Staphylococcus Arthrobacter Leuconostoc	Bacillus Micrococcus Staphylococcus Arthrobacter Leuconostoc
Quemada entera	Bacillus Micrococcus Staphylococcus Arthrobacter Leuconostoc	Bacillus Staphylococcus Escherichia Arthrobacter Leuconostoc Aerobacter Hansemula	Staphylococcus Arthrobacter Aerobacter Leuconostoc
Quemada troceada	Bacillus Staphylococcus Leuconostoc Aerobacter Hansemula Arthrobacter	Bacillus Staphylococcus Leuconostoc Aerobacter Hansemula Arthrobacter	Bacillus Staphylococcus Leuconostoc Aerobacter Arthrobacter

Anexo 4: Valoraciones previstas al CM e IC dadas por su valor numérico.

<b>CM</b>	<b>Valoración del Resultado</b>	<b>IC = Incremento de CM entre dos puntos o productos</b>	<b>Valoración</b>
Menor a 2.5	<b>Bueno</b>	0 o menor que 0 (se informa 0)	Bueno (no se incrementa)
2.0 a 2.5	<b>Alerta</b>	0 a 0.05	<b>Alerta</b>
2.5 a 3.0	<b>Malo</b>	Mayor que 0.05	<b>Incremento de Actividad Microbiológica</b>
3.0 a 5.0	<b>Crítico</b>		
Mayor de 5	<b>Muy crítico</b>		