

**ANÁLISIS DE LA MICROBIOTA ALTERANTE PRESENTE EN LA SUPERFICIE DE
LOS TANQUES RECIBIDORES Y EN LOS JUGOS DE CAÑA.**

ANA CELANY MÁRQUEZ CAMACHO



**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA
2021**

**ANÁLISIS DE LA MICROBIOTA ALTERANTE PRESENTE EN LA SUPERFICIE DE
LOS TANQUES RECIBIDORES Y EN LOS JUGOS DE CAÑA.**

**ANA CELANY MÁRQUEZ CAMACHO
TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR EL TÍTULO DE
MICROBIÓLOGA**

**ASESOR ACADEMICO
JOSÉ FELIX ORTIZ LEMUS PhD.**

**ASESOR EMPRESARIAL
GISELA QUIÑONEZ WOLFF**

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA**

2021

NOTA DE ACEPTACIÓN:

Firma Del Jurado

Firma Del Jurado

Pamplona, febrero 2021

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	10
1. OBJETIVOS	12
1.1 OBJETIVO GENERAL	12
1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	12
2. JUSTIFICACIÓN	13
3. MARCO REFERENCIAL	14
3.1 ANTECEDENTES	14
3.2 MARCO TEÓRICO	22
3.2.1 Agroindustria de la caña en Colombia	22
3.2.2 Caña de azúcar	23
3.2.3 Composición de la caña de azúcar	24
3.2.4 Proceso de elaboración del azúcar.....	26
3.2.5 Factores responsables del deterioro de la caña	28
3.2.6 Deterioro térmico	32
3.2.7 Deterioro enzimático	34
3.2.8 Deterioro químico	35
3.2.9 Deterioro microbiano	39
3.2.10 Formación de metabolitos por acción microbiana.....	48
4. METODOLOGÍA.....	55
4.1 Lugar de muestreo	55
4.2 Población y Muestra.....	55
4.3 Medios de cultivo utilizados	55
4.4 Análisis de la superficie de los tanques recibidores de jugo	56
4.5 Análisis de los jugos de la caña.	58
4.5.1 Recuento microbiológico	58
5. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	61
6. RESULTADOS Y DISCUSION.....	63
6.1 Recuento microbiológico en la superficie de los tanques recibidores de jugo.	63
Recuentos microbiológicos Superficies de Tanques y Canal.....	63

.....	63
7. CONCLUSIONES.....	72
8. RECOMENDACIONES	73
9. GLOSARIO	74
10. BIBLIOGRAFIA	76
11. ANEXOS	79

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la caña de azúcar

Tabla 2. Componentes de la caña de azúcar.

Tabla 3. Composición química de la caña de azúcar entera

Tabla 4. Promedio de la composición química de tallos y jugos de la caña de azúcar.

Tabla 5. Medio de cultivo y temperatura de incubación para el aislamiento de cada grupo microbiano.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama del Proceso de elaboración de azúcar.

Figura 2. Síntesis general de dextrano a partir de sacarosa.

Figura 3. Mecanismo de reacción para la síntesis de dextrano a partir de la glucosa

Figura 4. Estructura molecular de Levanas.

Figura 5. Puntos de muestreo de los tanques recibidores de jugo.

LISTA DE GRAFICAS

Grafica 1. Recuentos microbiológicos de BAL, expresado en UFC/ cm² en el tanque receptor de jugo 1 y canal.

Grafica 2. Recuentos microbiológicos de BALPE, expresado en UFC/ cm² en el tanque receptor de jugo 1 y canal.

Grafica 3. Recuentos microbiológicos de Levaduras, expresado en UFC/ cm² en el tanque receptor de jugo 1 y canal.

Grafica 4. Recuentos microbiológicos de BAL, expresado en UFC/ cm² en el tanque receptor de jugo 2, 3,4 y 5.

Grafica 5. Recuentos microbiológicos de BALPE, expresado en UFC/ cm² en el tanque receptor de jugo 2, 3,4 y 5.

Grafica 6. Recuentos microbiológicos de Levaduras, expresado en UFC/ cm² en el tanque receptor de jugo 2, 3,4 y 5.

Grafica 7. Relación entre los recuentos microbiológicos expresado en UFC/ g y pH en los diferentes jugos de caña.

Grafica 8. Relación entre los recuentos microbiológicos expresado en UFC/ g y temperatura en los diferentes jugos de caña.

Grafica 9. Relación entre los recuentos microbiológicos expresado en UFC/ g y °Bx en los diferentes jugos de caña.

Grafica 10. Recuentos microbiológicos de Coliformes expresado en UFC/ g en los diferentes jugos de caña.

Grafica 11. Recuentos microbiológicos de *E. coli* expresado en UFC/ g en los diferentes jugos de caña.

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Medios de cultivo y temperatura de incubación para el aislamiento de cada grupo microbiano.

Anexo 2. Placas compact Dry.

Anexo 3. Resultado de los análisis microbiológicos correspondiente a la superficie de los tanques recibidores de jugo 1 y canal.

Anexo 4. Resultado de los análisis microbiológicos correspondiente a la superficie de los tanques recibidores de jugo 2, 3,4, y 5.

Anexo 5. Crecimiento de BAL, BALPE y Levaduras en cajas de Petri.

Anexo 6. Resultado de los análisis microbiológicos correspondiente a la superficie de los tanques recibidores de jugo.

Anexo 7. Resultado de los análisis Fisicoquímicos correspondiente a los diferentes jugos de caña.

INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar se considera uno de los cultivos industriales agrícolas con mayor importancia y contribución en el avance económico. La industria azucarera colombiana es una de las grandes agroindustrias del país, focalizada en el Departamento del Valle del Cauca. Este importante sector ha presentado un crecimiento en la producción y aumento en la economía a lo largo de los años, por lo que ha ganado relevancia por los subproductos diversificados que se generan del proceso y de tal forma contribuyen a la sostenibilidad ambiental, económica y social. Por lo que se adelantan proyectos de investigación para un mejoramiento continuo y optimización de los rendimientos en la producción.

En la producción de azúcar, es muy importante la recuperación de la sacarosa, la cual va a depender de la calidad de la materia prima (cepa), esta calidad va relacionada con las condiciones del cultivo y crecimiento de las plantas de caña, clima, nutrientes del suelo, la cantidad de agua sea por riego mecánico o precipitaciones, la variedad de caña sembrada, la presencia de plagas y enfermedades. Por tanto, ante mejor calidad y condición de la caña, mejor será el rendimiento en la producción de azúcar como producto final, otros factores que inciden en la recuperación son, las condiciones de poscosecha, tiempo entre corte y molienda, tipo de recolección, condiciones atmosféricas al momento de realizar la recolección, retraso entre la cosecha y fresado, daño físico en la caña. Cada uno de estos factores intervienen en el crecimiento y la proliferación microbiana.

Estos microorganismos crecen a un ritmo rápido y forman productos que deterioran la sacarosa, actúan desde el tallo de la caña dificultando así la producción de producto final, azúcar (Solomon, 2009; Misra et al., 2016). Además, la presencia de microorganismos dentro del tallo de la caña de azúcar o en el jugo de caña en los molinos también causa problemas durante el procesamiento. El jugo hirviendo en el paso de clarificación ayuda en la eliminación de microorganismos que están en el tallo de la caña o en el jugo durante el proceso. A pesar de que hay ciertos microorganismos que crecen en el paso clarificador se acentúa aún más en los procesos posteriores (Salomón, 2000).

Por lo tanto, la pérdida de sacarosa no se detecta mediante el recuento microbiano, sino que se registra como pérdidas indeterminadas asociadas normalmente a la actividad microbiológica por la generación de productos como polisacáridos bacterianos, azúcares reductores, ácidos orgánicos, entre otros. Principalmente, estos recuentos determinan si las condiciones en las que se está llevando a cabo el proceso son las adecuadas, evidenciándose su disminución a medida que avanza el proceso, permiten identificar las etapas del proceso de producción donde frecuentemente surge la contaminación. Por lo que cabe resaltar que los microorganismos tienen acción desde la cosecha, poscosecha, extracción del jugo hasta la elaboración de los cristales.

Es de gran importancia este estudio en el Ingenio azucarero para conocer la diversidad microbiana presente durante el proceso de extracción y concentración de la sacarosa, que presentan pérdidas por la inversión. Por lo que se hace necesario realizar un análisis de los microorganismos permitiendo así establecer cuáles se encuentran con mayor frecuencia. Conocer las condiciones que permiten su desarrollo, para evitar su proliferación en gran medida y por consiguiente la producción de los metabolitos que tienen efecto en la recuperación de la sacarosa que causa gran pérdida económica al Ingenio.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar qué tipo de microorganismos alterantes se encuentran presentes en la superficie de los tanques recibidores en el área de molinos y en los jugos de caña durante la extracción en el proceso de elaboración de azúcar.

1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Cuantificar la concentración de Bacterias ácido lácticas (BAL), Bacterias ácido lácticas productoras de exopolisacáridos (BALPE) y Levaduras en la superficie de los tanques recibidores de jugo de caña.
- Establecer la relación entre los recuentos de Bacterias ácido lácticas (BAL), Bacterias ácido lácticas productoras de exopolisacárido (BALPE), Levaduras y las variables fisicoquímicas de pH, temperatura y °brix en los jugos de caña.
- Realizar la determinación de Coliformes, *E. coli* y *Salmonella spp.*

2. JUSTIFICACIÓN

Los análisis fisicoquímicos realizados al jugo extraído de la caña en el Ingenio, presentan subproductos de metabolitos microbianos y azúcares reductores, lo cual disminuyen la calidad de los jugos del proceso de producción de azúcar; debido a esto se busca establecer control de la acción microbiológica tratando de mejorar las condiciones.

Los análisis realizados a las diferentes muestras, manifiestan la presencia de grupos de microorganismos principales causantes del deterioro de la caña y de la inversión de sacarosa, responsables de la producción de metabolitos contaminantes, que causan problemas en la recuperación de la sacarosa en la etapa de elaboración. Siendo esto una de las mayores problemáticas de los ingenios y causante de grandes pérdidas económicas. Es así como surge la necesidad de estudiar la población microbiana que afecta el proceso de elaboración de azúcar y que factores tienen mayor influencia en la variación de sus poblaciones. Por último, es conveniente señalar, que los datos presentados son un acercamiento a la realidad y tienen restricción por parte de la empresa, es decir salvaguardar la información; debido al manejo de política de información empresarial.

3. MARCO REFERENCIAL

3.1 ANTECEDENTES

El desarrollo de las tecnologías, han dado un impulso notable para el mejoramiento en la producción de azúcar con la creación de importantes equipos e instrumentos que permiten un monitoreo minucioso de cada una de las etapas del proceso, poder realizar investigaciones que conduzcan al mejoramiento y por consiguiente produzcan la reducción de pérdidas de los ingenios. Al realizar un recorrido histórico sobre las investigaciones realizadas sobre la población microbiana en la industria azucarera, estos coinciden en el impacto que tienen los microorganismos durante el proceso, las etapas en que se incrementa su acción y cómo actúan; el jugo de caña y los materiales intermedios del proceso de producción de azúcar son un medio propicio para el desarrollo de estos microorganismos que ingresan con la caña a las fábricas, causando cambios que interfieren en la recuperación de la sacarosa, la calidad de los productos y los costos de producción (Mosquera, H., Garzón, G., & Rubio, J. 2012).

Las pérdidas en la producción de azúcar se ponderan mediante recuentos de Sacarosa creando una relación entre su contenido en caña como materia prima, su concentración en los jugos procesados, la que se queda en el bagazo posterior al proceso de extracción y en las aguas de procesamiento químico. Otra fuente posible de pérdida de Sacarosa, se asocia a la actividad microbiológica y a características fisicoquímicas del proceso productivo como los cambios de temperatura y pH (Serrano, 2006).

El deterioro poscosecha de la caña de azúcar es uno de los problemas más molestos de la industria azucarera y ha atraído una atención generalizada en los últimos años. Los informes publicados que indicaban la pérdida de azúcar recuperable después de la cosecha de la caña comenzaron a aparecer a fines del siglo XIX (Stubbs 1895; Weinberg, 1903; Cross y Belile, 1914, 1915). Según estos autores, Went y Geerligts informaron sobre el deterioro de la caña de azúcar en 1894. Los primeros trabajadores enfatizaron la importancia de la demora entre la cosecha y la molienda, así como el ambiente de almacenamiento en el proceso de deterioro.

Müller von Czernicki (1900) y Browne y Blouin (1907) informaron una caída considerable en la pureza del jugo durante el almacenamiento de la caña, sin embargo, el autor no defendió ninguna explicación científica. La primera referencia específica al papel de la invertasa de la caña en el deterioro poscosecha fue hecha en 1907 por Browne y Blouin y más tarde Hall en 1913 utilizó el término inversión para asociarlo con el proceso de deterioro de la caña y posteriormente publicó otro informe sobre la inversión en 1914. En 1915 Cross y Belile realizaron estudios que establecieron la presencia de una enzima inversora en los tallos molidos y en el jugo molido, y se volvieron más activos durante el almacenamiento. Estos trabajadores afirmaron “Nos parecía posible que la inversión en las cañas almacenadas también pudiera deberse al fermento invertasa, por lo que almacenamos parte del jugo de una de estas cañas con cloroformo y tolueno, y lo analizamos después de cierto tiempo. Se encontró que se había producido una inversión considerable. Como las bacterias fueron excluidas por los antisépticos añadidos, la inversión debió deberse a un fermento, probablemente invertasas presentes en la caña deteriorada”. Guilbeau et al (1955, 1956) notaron el fenómeno de maduración posterior asociado con el deterioro de la caña y defendieron que se podrían obtener mayores rendimientos y ganancias de azúcar almacenando la caña cosechada en montones por un período de una semana o más. que el aumento del contenido de azúcar se atribuyó a la pérdida de peso de la caña. Sin embargo, en la práctica, el contenido de azúcar, la pureza del jugo y el tonelaje mostraron una disminución significativa. Un científico australiano informó de efectos algo similares (Egan, 1971). También se informó en Taiwán de una rápida disminución de los CCS (azúcar de caña comercial), representa el contenido de azúcar de la caña. La CCS se determinan convencionalmente a partir del análisis de Pol y brix del primer jugo extraído y la medición de fibra en la variedad de caña y la formación de dextrano en la cosecha de caña de azúcar quemada recolectada mecánicamente (Henri, 1972). Alexander (1973) en Puerto Rico concluyó que ningún aumento significativo en el azúcar recuperable resultó como una respuesta retrasada en la molienda. Muchos investigadores revisaron el trabajo sobre biotecnología poscosecha de cultivos de azúcar y destacaron la importancia de la tecnología de reducción de

pérdidas para mejorar la productividad del azúcar. (Bruijn, 1966; Salunkhe y Desai (1988), Batta y Singh, 1991; Magadum y Kadam, 1996; Eggleston et al., 2001; Sharma et al. 2004; Milintawisamai et al. 2006; Solomon, 2000, 2002, 2004, 2006, 2009; Solomon et al., 1990, 1996, 1997, 1999, 2001, 2003, 2008).

Uno de los primeros estudios realizados en Colombia sobre esta problemática se llevó a cabo en 1993 llevándose a cabo en varias etapas y fue dirigido por Maurice Raimbault en Convenio con ASOCAÑA / ORSTOM denominado impacto de la microbiología en la fabricación del azúcar, su principal objetivo fue Caracterizar la flora microbiana existente en los jugos extraídos de la caña y determinar su efecto sobre la inversión de sacarosa, Aislar e identificar los microorganismos más representativos en los jugos de primera extracción y diluido y establecer un método de muestreo y análisis de rutina para cuantificarlos. se ejecutó desde abril hasta diciembre. Se realizó el conteo de las microflora en diluciones de jugo y numeración de los microorganismos viables en caja Petri sobre medios de cultivos específicos: Microflora total en medio PCA, Microflora láctica total en medio MRS, Genero *Leuconostoc* en medio MHS, Levaduras y hongos en medio PDA. Ante esta realidad, se han analizado diferentes investigaciones que abordan esta problemática, con el fin de crear referencias que guie esta investigación.

En la investigación titulada Microorganismos que afectan las pérdidas de sacarosa poscosecha en la caña de azúcar llevado a cabo por (Misra et al., 2017), dicen que el deterioro de la sacarosa después de la cosecha es un problema común e importante tanto de los productores de caña de azúcar como de los molineros. Este problema varía con la diferencia de variedades, así como con otros factores asociados que causan este problema. Después de las pérdidas de sacarosa que se producen por pérdidas químicas, se sitúan las pérdidas por microorganismos. Se sabe que los microorganismos, independientemente de si causan enfermedades o no, residen en las partes internas de muchas plantas de cultivo. La caña de azúcar, al ser rica en azúcares y minerales, ofrece condiciones muy favorables para la proliferación y desarrollo de muchos microorganismos. Muchos de ellos se han aislado de tejidos parenquimatosos del tallo sano de la caña. La presencia de microorganismos en el tallo de la caña de azúcar hidroliza el azúcar lo que a su vez afecta la recuperación del azúcar. La principal razón

detrás del crecimiento y proliferación del microorganismo en la caña de azúcar es el lapso de tiempo entre la trituración y la molienda que proporciona tiempo y oportunidad de crecimiento y proliferación. La presencia de microorganismos en el tallo de la caña o en el jugo no solo provoca una menor recuperación de azúcar, sino que incluso dificulta muchos procesos de procesamiento. Las levaduras, los mohos y *Leuconostoc* son los principales microorganismos de las pérdidas de sacarosa poscosecha en la caña de azúcar. Estos microorganismos provocan enormes pérdidas económicas. Por lo tanto, este documento se centra en los microorganismos que afectan negativamente el contenido de sacarosa en la caña cosechada y su papel en la reducción de la recuperación de azúcar.

Johany et al., 2009, realizaron estudio del impacto de las concentraciones salinas en la abstención de la bacteria *Leuconostoc mesenteroides* en el proceso productivo de un ingenio azucarero del Valle del Cauca. En este artículo, se menciona que el proceso de obtención de Sacarosa es impactado por diferentes microorganismos; entre estos, la bacteria ácido-láctica *L. mesenteroides* se reseña como una de las principales fuentes de pérdidas de Sacarosa a causa de la fermentación que esta sufre al descomponerse en los azúcares reductores formando sustancias como dextranas, ácido láctico y etanol; generando una disminución de la concentración de azúcar recuperable en el proceso de cristalización y producto final. Adicionalmente, la investigación pretendió mostrar algunas formas de controlar la actividad microbiana ocasionada por la *Leuconostoc mesenteroides* mediante el empleo de diferentes concentraciones de sales químicas, estando entre ellas CaCl_2 , NaClO , EDTA, NaNO_2 , Na_2SO_3 y $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ en el sustrato de crecimiento bacteriano; a su vez este trabajo permitió identificar diferentes formas de inhibición de la bacteria que pueden ser implementadas en la industria. Una de las más relevantes por su bajo costo y simplicidad es la adición de sales químicas.

Bois-Rouge en su estudio realizado en 1996 titulado “control microbiológico en azucarería de caña: implicaciones en la calidad del azúcar y en las pérdidas”, obtuvo resultados de Población termofílica donde logran observar que el nivel mínimo de bacterias termofílica se encuentra en la caña que ingresa a la fábrica y un nivel entre 600 UFC y 800 UFC se encuentra en la etapa de jugo. Parece que este nivel permanece más

o menos constante durante la extracción y clarificación, y podría considerarse un nivel de referencia. La disminución de la calidad de la caña, los frecuentes deterioros o las condiciones del proceso aumentan el número de termófilos, por lo que se hace necesario el uso de un biocida. El principal tipo de población microbiana es la mesófila que ingresa a la fábrica con la caña, al parecer estos microorganismos tienen dificultad para sobrevivir en la etapa difusora y en jugo clarificado. Las bacterias agrias son glucosa positiva, productoras de ácido termofílico plano, es decir, en una placa de Petri se distinguen por la presencia de un halo amarillento alrededor de las colonias, debido a la degradación de la glucosa en diferentes ácidos orgánicos. Estas bacterias representan alrededor del 10 al 20% de la población termofílica global en la planta y no parecen tener mucho efecto en el proceso. En la etapa de jarabe estas bacterias son bastante abundantes y se observó que hubo un aumento significativo de población en el tanque de almacenamiento, similar a las bacterias termófilas. La población mesófila, es el grupo más abundante en el proceso, con más de 20.000 bacterias por cada 10 g de producto que ingresan continuamente. El grupo disminuye con el calentamiento (80 ° C) del jugo en la entrada del difusor. Las bacterias mesófilas no necesariamente destruye la sacarosa y existe principalmente en un estado inactivo. Por otro lado, es probablemente el grupo microbiano el que puede resistir las altas temperaturas en los evaporadores son las levaduras que podrían estar en una forma esporulada, inactiva, estando así protegida. Después de las evaporaciones, las levaduras osmofílicas pueden desarrollarse en una solución de sacarosa con altas concentraciones y, por lo tanto, no tienen dificultad para multiplicarse en los tanques de jarabe. *Leuconostoc sp.*: la presencia de estas bacterias suele indicar problemas de saneamiento. Debe hacerse un gran esfuerzo para controlar este microorganismo en el molino en tándem con la prensa jugo y también en la estación de filtración con el filtrado jugo. Concluyeron que la calidad del azúcar comienza en el campo, con el sistema de cosecha, y continúa con el manejo del patio de caña. Las condiciones climáticas pueden minimizar o acentuar el problema de contaminación de la caña, por lo que los niveles de poblaciones microbianas que ingresan a la fábrica pueden tener picos espectaculares. Al igual que el color y el tamaño del grano, la población microbiana del azúcar es un parámetro de calidad importante. Las evaluaciones microbianas de diferentes partes de la fábrica deben obtenerse durante la temporada y

usarse para mejorar la calidad microbiana en jugo, jarabe y azúcar. La experiencia adquirida indicó el tipo de microorganismos para los que deben buscarse las acciones correctoras adecuadas. Esto también está relacionado con los biocidas. Cada fábrica debe desarrollar un Programa de Gestión de Saneamiento que minimice las pérdidas indeterminadas.

La investigación, Impacto de los tratamientos químicos en la bacteria *Leuconostoc* de la caña recolectada almacenada / caña vieja llevada a cabo por Misraa y sus colaboradores en el 2020, relacionan que las pérdidas de sacarosa poscosecha son siempre un problema crítico para las industrias azucareras. Un factor predominante que está causando estas pérdidas poscosecha que afecta la recuperación de azúcar es la bacteria *Leuconostoc spp.* Este estudio tiene como objetivo comprobar la eficacia de determinados tratamientos químicos para reducir la proliferación de esta bacteria. Nuestro estudio basado en un medio específico de *Leuconostoc* reveló que la aplicación de una solución acuosa al 0,5% de cloruro de benzalconio y metasilicato de sodio (BKC + SMS), formaldehído, glutaraldehído, cloruro de sodio y aceite de pino mostró una reducción significativa en la zona de proliferación. Considerando formaldehído y glutaraldehído como control, los tratamientos más efectivos fueron formulaciones químicas de cloruro de benzalconio junto con metasilicato de sodio, aceite de pino y cloruro de sodio para frenar la proliferación de esta bacteria. La aplicación de estos tratamientos tiene un inmenso potencial en la industria azucarera para reducir las pérdidas de azúcar poscosecha. Nuestro estudio concluyó que el crecimiento de *Leuconostoc sp.* (responsable de la baja recuperación de azúcar) podría controlarse mediante el uso de ciertos productos químicos y compuestos ecológicos que podrían ayudar a mejorar la recuperación de azúcares hasta cierto punto. BKC + SMS, Las cañas tratadas con aceite y agua salada exhibieron mejores perfiles de calidad de jugo en comparación con el jugo de caña normal no tratada. De todas las cañas tratadas, el jugo obtenido de BKC + SMS tuvo la tasa más baja de inclinación en la actividad de dextrano e invertasa ácida junto con sacarosa alta (%) en el jugo, azúcares de caña comerciales (%), coeficiente de pureza y pérdidas relativamente menores en el peso de la caña. Además, el jugo obtenido de cañas tratadas con BKC + SMS tuvo la tasa más baja de

disminución en el pH y la tasa más alta de inclinación en el índice de acidez titulable y azúcares reductores. El uso de estos tratamientos sobre las cañas no solo ayudaría a controlar esta bacteria, sino que incluso podría controlar el dextrano, así como la tasa de actividad de la invertasa ácida soluble hasta cierto punto que aumenta rápidamente después de la cosecha. Esto conduciría a una pérdida relativamente menor en la recuperación de azúcar en general, lo que ayudaría a minimizar las pérdidas de sacarosa posteriores a la cosecha.

En el artículo llamado "Calidad Microbiológica de Materiales del Proceso de Producción de Azúcar". La calidad de la caña de azúcar que ingresa a 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, siendo el manitol el más recomendado por ser un indicador temprano de deterioro además de ser estable a temperatura lo cual permite su trazabilidad a lo largo del proceso de fabricación. El ácido láctico también es utilizado como un indicador confiable, sin embargo, no es estable en condiciones de temperatura y pH. 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. Se señalan los límites críticos de concentración de metabolitos (manitol y ácido láctico) para cada material a partir de los cuales hay señal de deterioro microbiano y por tanto se consideran como una alarma para tomar acciones correctivas y se indican prácticas preventivas para minimizar el impacto ocasionado por microorganismos en la fábrica de azúcar. Concluyeron El manitol y el ácido láctico son indicadores precisos que reflejan la actividad de los microorganismos en las diferentes etapas del proceso fabril. Los materiales del procesamiento de la caña, son susceptibles al deterioro por acción de microorganismos, por cuanto todo el ingenio debe realizar acciones conjuntas para reducir las condiciones que propician el desarrollo de los microorganismos y su impacto sobre la sacarosa como son la reducción de los tiempos de permanencia y las prácticas de limpieza y sanitización al interior de la fábrica (Sierra et al., 2018).

Cada uno de las investigaciones mencionadas anteriormente presentan una misma problemática y es el efecto negativo de los microorganismos en la industria azucarera

especialmente en las etapas de extracción del jugo, donde los más incidentes es la población bacteriana ácido láctica y las bacterias productoras de exopolisacáridos causantes de la descomposición de los jugos de caña en monosacáridos, ácidos y dextranas que afectan el proceso de elaboración de azúcar. Los estudios se diferencian en la determinación de la vía de acción para reducirlos donde depende de las condiciones y necesidad del ingenio. Se debe tener en cuenta la Implementación de un programa de limpieza y desinfección en los Ingenios azucarero durante cada una de las fases de transformación.

En el centro de investigación *Cenicaña*, se han realizado diferentes estudios que abordan esta problemática, De acuerdo con Carolina Prieto, microbióloga de Cenicaña, “en los últimos años, el Centro de Investigación ha avanzado en la tarea de identificar los microorganismos que prevalecen en las diferentes etapas de los procesos industriales, en evaluar su comportamiento y conocer su impacto. Esa identificación se ha realizado con técnicas estandarizadas de biología molecular, que secuencian genes específicos en cada microorganismo”. En la investigación se aislaron aleatoriamente las cepas de los microorganismos más representativos en diferentes corrientes del proceso de producción de azúcar como jugo claro, meladuras y mieles. Entre los microorganismos aislados están bacterias ácido lácticas, bacterias productoras de exopolisacárido, bacterias termófilas y levaduras. “Se identificó que las bacterias pertenecientes a los géneros *Lactobacillus spp.*, *Enterococcus spp.* y *Bacillus spp.* son las más predominantes, dado que son capaces de crecer en un rango muy amplio de temperatura”, explicó la investigadora. Respecto al comportamiento de algunos de los microorganismos identificados Cenicaña confirmó que el material más susceptible al deterioro es el jugo y, por lo tanto, las etapas de molienda y filtración son aquellas donde hay mayor proliferación de microorganismos.

3.2 MARCO TEÓRICO

3.2.1 Agroindustria de la caña en Colombia

El sector azucarero colombiano se encuentra ubicado en el valle geográfico del río Cauca, que abarca 47 municipios desde el norte del departamento del Cauca, la franja central del Valle del Cauca, hasta el sur del departamento de Risaralda. En esta región hay 225.560 hectáreas sembradas en caña para azúcar, de las cuales, el 25% corresponde a tierras propias de los ingenios y el restante 75% a más de 2.750 cultivadores de caña. Dichos cultivadores abastecen a 12 ingenios de la región (Cabaña, Carmelita, Manuelita, María Luisa, Mayagüez, Pichichí, Risaralda, San Carlos, Riopaila-Castilla, Incauca y Providencia). Desde 2005, cinco de los doce ingenios tienen destilerías anexas para la producción de alcohol carburante (Incauca, Manuelita, Providencia, Mayagüez y Risaralda) (Asocaña, 2020) y en 2015 Riopaila siendo una de las más recientes.

De estos, nueve están en el Valle y los otros dos en Cauca y Risaralda. Por capacidad de producción de azúcar, los más grandes son, en su orden Incauca, Manuelita, Providencia y Riopaila Castilla. En total, el área sembrada en caña de azúcar suma 298.000 hectáreas en Colombia. Es el tercer cultivo más extendido del país, después del café y la palma de aceite.

Se trata de una agroindustria que muele al año 24 millones de toneladas de caña. Esto alcanza para producir 2,2 millones de toneladas de azúcar, 438 millones de litros de etanol, 6,5 millones de toneladas de bagazo (con el que se hace papel, plásticos, entre otros); y 1.637 GWh de energía, lo suficiente para alimentar a una ciudad de 3,7 millones de habitantes (o un departamento como Valle del Cauca) (Cenicaña, 2020).

Gracias al clima privilegiado de la región, y al contrario de lo que sucede en el resto del mundo (con excepción de Hawaii y el norte de Perú), se puede sembrar y cosechar caña durante todos los meses del año. Esta condición agroclimática, sumada al avance tecnológico impulsado por el Centro de Investigación de la Caña (Cenicaña), que funciona con el aporte de todos los cultivadores e ingenios, ha llevado a que la región se

especialice en el cultivo y ostente el liderazgo en productividad a nivel mundial: más de 14 toneladas de azúcar por hectárea al año (Asocaña, 2020).

3.2.2 Caña de azúcar

La caña de azúcar, *Saccharum officinarum* L., es una gramínea originaria de Nueva Guinea; se cultivó por primera vez en el Sureste Asiático y la India occidental. Alrededor de 327 A.C. era un cultivo importante en el subcontinente indio. Fue introducido en Egipto alrededor del 647 D.C. y alrededor de un siglo más tarde, a España (755 D.C.). Desde entonces, el cultivo de la caña de azúcar se extendió a casi todas las regiones tropicales y sub-tropicales. En los viajes de Cristóbal Colón a América la trasladaron a las islas del Caribe y de ahí pasó a la parte continental americana, particularmente a la zona tropical. A México llegó en la época de la conquista (1522 aprox.), fue así como la primera plantación se llevó a cabo en el estado de Veracruz, instalándose posteriormente los primeros ingenios azucareros en las partes cálidas del país como parte de la colonización (SAGARPA,2015).

Esta planta gramínea tropical, que se caracteriza por la acumulación de sacarosa en su tallo en el período de maduración teniendo gran importancia mundial en la producción de azúcar y sus derivados (Agrotendencia, 2020).

Es un pasto gigante que tiene un tallo macizo de dos a cinco metros de altura y entre cinco a seis centímetros de diámetro. Las tierras en donde se cultiva tienen que ser lugares calientes y soleados para que el fenómeno de la fotosíntesis se oriente hacia la producción de carbohidratos, como la celulosa y otras materias que constituyen el follaje y el soporte fibroso del tallo. Durante su desarrollo, la siembra requiere de una adecuada cantidad de agua para que se permita la absorción, transporte y asimilación de los nutrientes. El periodo de crecimiento varía entre los 11 y 17 meses, dependiendo de la variedad de caña y de la zona (Siap, 2020).

El tallo acumula un jugo rico en sacarosa, compuesto que al ser extraído y cristalizado en el ingenio forma el azúcar. La sacarosa es sintetizada por la caña gracias a la energía tomada del sol durante la fotosíntesis con hojas que llegan a alcanzar de dos a cuatro

metros de longitud. El tronco de la caña de azúcar está compuesto por una parte sólida llamada fibra y una parte líquida, el jugo, que contiene agua y sacarosa (Idard, 2020).

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la caña de azúcar.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Subclase	Commelinidae
Orden	Poales
Familia	Poaceae
Subfamilia	Panicoideae
Tribu	Andropogoneae
Género	Saccharum
Especie	<i>S. officinarum</i> L.

Fuente: SAGARPA, 2015.

3.2.3 Composición de la caña de azúcar

La caña de azúcar está constituida por jugo y fibra. La fibra es la parte insoluble en agua y está formada principalmente por celulosa, la cual, a su vez, está compuesta por azúcares sencillos como glucosa (dextrosa). El contenido porcentual de sólidos solubles en agua se denomina comúnmente brix (sacarosa, azúcares reductores y otros constituyentes). (Clarke, 1968). Además de los azúcares presentes en el jugo, existen otros constituyentes químicos de naturaleza orgánica e inorgánica, representados por sales de ácidos orgánicos, minerales, polisacáridos, proteínas y otros no-azúcares.

Tabla 2. Componentes de la caña de azúcar.

Componentes	Porcentaje (%)
Agua	73-76
Sacarosa	8-15
Fibra	11-16

Fuente: Perafán, 2002.

Tabla 3. Composición química de la caña de azúcar entera.

Fracciones	Materia seca (%)
Materia seca	29
Cenizas	5
Lignina	7
Celulosa	27
Hemicelulosa	20
Azúcares solubles	40
Proteína bruta, Nx6,25	2

Fuente: Cuarón y Shimada, 1981.

Tabla 4. Promedio de la composición química de tallos y jugos de la caña de azúcar.

Constituyente químico	Porcentaje (%)
En los tallos:	
Agua	73 -77
Sólidos	24 -27
Sólidos solubles	10 -17
Fibra (seca)	11 -16
En el Jugo:	
Azúcares	
-Sacarosa	75 - 92
-Glucosa	70 - 88
-Fructosa	2 - 4
Sales	
-Inorgánicas	3.0 - 3.4
-Orgánicas	1.5 - 4.5
Ácidos orgánicos	
Aminoácidos	1.5 - 2.5
Otros no azúcares	
Proteína	0.5 - 0.6
almidones	0.001 - 0.050
Gomas	0.3 - 0.6
Ceras, grasas, etc	0.15 - 0.50
Compuestos fenólicos	0.10 - 0.80

Fuente: Meade & Chen, 1991.

3.2.4 Proceso de elaboración del azúcar.

El proceso se inicia con la adecuación del campo y el estudio del suelo, teniendo en cuenta la topografía del terreno, y de acuerdo a ella se localizan canales de riego, drenaje y vías de acceso. El suelo se rotura haciendo uso de maquinaria y equipos especializados, dejándolo en adecuadas condiciones para la siembra. El cultivo de la caña requiere agua en la cantidad y forma oportuna para alcanzar una buena producción. Se realizan análisis foliar, control de malezas y aplicación técnica de fertilizantes para obtener un adecuado desarrollo del cultivo. El corte se realiza manual o mecánicamente. Una vez cortada la caña, es alzada del campo a través de una máquina y transportada a la fábrica en tractores y tractomulas con los menores tiempos de permanencia.

A continuación, la caña es pesada y lavada para retirarle la mayor cantidad posible de materia extraña. Luego se descarga en las mesas transportadoras para pasar a las picadoras y desfibradoras, que la convierten en pequeños hilachos facilitando la extracción del jugo en los molinos. Es aquí cuando comienza la fase de molienda. A través de un tándem de molinos que extrae el jugo de caña. En esta etapa se agrega agua caliente para obtener la máxima extracción de sacarosa y el proceso es llamado maceración y el producto es el jugo diluido.

El jugo obtenido es pesado y luego bombeado a dos columnas de absorción en paralelo. En ellas, el jugo se pone en contacto con los gases producidos en la combustión de azufre obteniéndose jugo sulfatado. Estos gases decoloran el jugo, tienen un efecto bacteriostático y ayudan a reducir su viscosidad, pero trae como consecuencia una disminución del pH, que conlleva a la inversión de sacarosa en glucosa y fructuosa que no son cristalizables. Para evitar esto, se adiciona lechada de cal para neutralizar la acidez y precipitar las impurezas orgánicas e inorgánicas; aquí se obtiene jugo encalado. Para acelerar la reacción de la cal se eleva la temperatura del jugo encalado de 30°C a 105°C. Este calentamiento también pasteuriza el jugo.

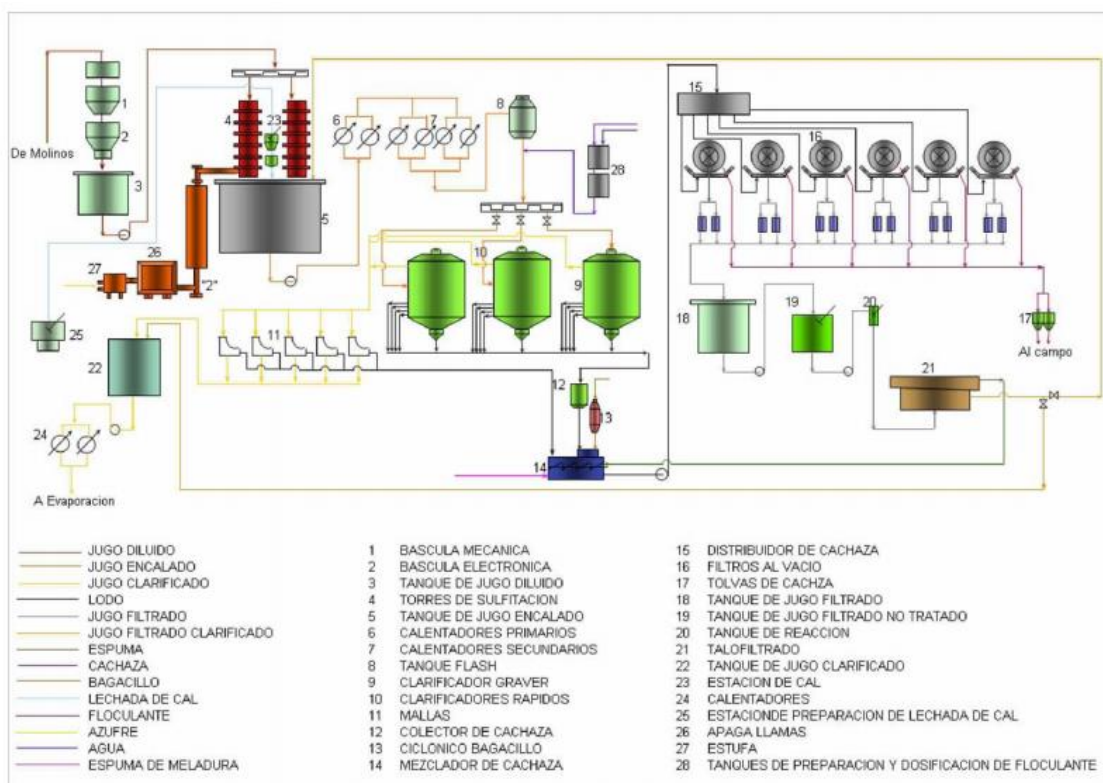
El jugo encalado caliente pasa por un tanque de expansión súbita, con el fin de expulsar el aire ocluido en el jugo y luego se distribuye éste a los clarificadores de sedimentación;

en el Ingenio se utiliza un clarificador Graver y dos clarificadores rápidos con una capacidad de 250 m³ cada uno. El principio de la clarificación es precipitar por gravedad impurezas, esencialmente barro y coloides, con la ayuda de un producto floculante. En este proceso se obtiene en los niveles superiores de los clarificadores un jugo limpio y transparente, llamado jugo clarificado. Por el fondo de los clarificadores se extrae un jugo espeso y sucio similar al lodo, que se envía al área de filtración donde están ubicados unos filtros rotatorios al vacío en los cuales se obtiene jugo filtrado y cachaza. El jugo filtrado es clarificado por flotación, se le adiciona ácido fosfórico, cal y floculante, que coagulan las impurezas y los lodos, y por medio del aire micronizado estas impurezas y lodos suben a la superficie y luego son enviados de nuevo a los filtros. El jugo filtrado clarificado se extrae por la parte inferior del equipo, mezclándose con el jugo clarificado o enviándose al tanque de encalado para ser reprocesado. La cachaza es enviada al campo como acondicionamiento del suelo para el cultivo.

El jugo claro es enviado a un tándem de evaporación para ser concentrado con el objetivo de eliminar el agua hasta obtener la meladura. La meladura que viene de evaporación, es enviada al clarificador de meladura y la operación es similar a la descrita para clarificar jugo filtrado. Luego la meladura es enviada a los tanques de alimentación de tachos al vacío, donde se forma el cristal de azúcar, dando como resultado una masa densa denominada templa o masa cocida. Luego estas templas se descargan a los cristalizadores. Posteriormente se bajan a los mezcladores y desde éstos a las centrífugas de alta velocidad. En las centrífugas se separa el cristal (azúcar) del líquido (miel) de las templas. La miel es almacenada en un tanque, esta miel es conocida como miel final y es un subproducto utilizado para la producción de alcohol o como materia prima en la industria sucroquímica.

El azúcar se pasa a través de secadoras rotatorias para disminuir su humedad, en estos equipos se introducen en contracorriente el azúcar y aire calentado por vapor. El azúcar seco se transporta por medio de equipo sanitario adecuado hasta las tolvas que alimentan unas básculas electrónicas que lo pesan. Luego se envasa en sacos y bolsas para ser llevados a la bodega para su despacho (Barco, 2006).

Figura 1. Diagrama del Proceso de elaboración de azúcar.



Fuente: (Barco, 2006).

3.2.5 Factores responsables del deterioro de la caña

3.2.5.1 Variedades de caña de azúcar

Las variedades de caña de azúcar juegan un papel crucial en la recuperación de la sacarosa, dependiendo del clima (Lauritzen y Balch, 1948). Se ha notado una diferencia muy grande en la susceptibilidad al deterioro poscosecha, lo cual es importante en países donde hay retrasos prolongados entre la cosecha y la molienda. Las variedades de caña de azúcar, además de su comportamiento de inversión, también pueden tener un efecto sobre su susceptibilidad a la infección por *Leuconostoc*. (Ahmad y Khan, 1988; Balusamy et al., 1990; Dendsay et al., 1992; Chiranjivi Rao, 1993; Uppal y Sharma, 1999; Solomon et al. 1997; 1999, 2001, 2003; Uppal et al., 2000, Larrahondo et al., 2002; Las variedades de caña de azúcar han sido evaluadas por su desempeño poscosecha en climas

tropicales y subtropicales (Raja Rajeshwari et al, 2006; Siddhant et al. 2008). Las variedades fibrosas muestran una mayor reducción de sacarosa en comparación con las menos fibrosas. Una gran cantidad de factores como la temperatura ambiente, la humedad, la naturaleza de la variedad, el período de almacenamiento, las actividades de las invertasas solubles en la caña, el estado de madurez, etc.

3.2.5.2 Madurez del cultivo

La caña completamente madura no se deteriorará tan rápidamente como la caña inmadura o sobre madura. Este deterioro es relativamente más rápido en climas cálidos. La madurez de la caña es un factor importante que rige la tasa de inversión de la caña cosechada. A medida que aumentaba el nivel de maduración, el grado de deterioro disminuía.

3.2.5.3 Caña verde y quemada

La caña verde completa es menos susceptible al deterioro poscosecha en comparación con la caña picada / quemada (Boneta-Gareia y Lugo-López, 1962; Turner y Rojas, 1963; Young, 1963; Foster, 1969; Foster et al., 1977a & b; Foster e Ivin, 1981; Sang et al., 1986; Chiranjivi Rao 1989). La caña picada quemada se deteriora más rápido en comparación con la verde caña picada. Retrasar la recolección de caña en pie quemada o el suministro de caña recolectada quemada podría conducir a una pérdida marcada en el rendimiento de azúcar (Samules y Gayere, 1967; Amin et al., 1971; Ivin y Foster, 1977; Cox y Sahadeo, 1992; Eggleston y col., 2001).

3.2.5.4 Factores ambientales

El clima tiene una influencia profunda en el deterioro de la caña, a mayor temperatura y humedad, y más húmedo, mayor es el deterioro (Solomon et al., 1997; 2006; Uppal y Sharma, 1999; Uppal et al, 2000). Los efectos nocivos de las altas temperaturas (> 40 ° C) y la baja humedad atmosférica (25-35%) tienen un efecto en la calidad del jugo. Un estudio reciente de la India subtropical muestra que la pérdida de CCS (contenido de azúcar), fue de 0,35, 1,0 y 1,32 unidades por día durante los períodos de

trituration temprana (trituration de invierno), media temporada (primavera) y tardía (trituration de verano), respectivamente. La humedad es especialmente perjudicial en la cosecha recolectada mecánicamente y se reiteró que, si es posible, las operaciones de recolección deben suspenderse durante el tiempo lluvioso (Wold, 1946). La lluvia no afecta el deterioro o la formación de dextrano, pero las condiciones del campo fangoso creadas por las fuertes lluvias sí lo hacen. La caña fangosa favorece la multiplicación de bacterias productoras de polisacáridos como *Leuconostoc sp.* que viven en el suelo y, por lo tanto, se mantienen en estrecho contacto con los tejidos de la caña de azúcar. Además, estas bacterias prefieren un ambiente anaeróbico y se multiplican rápidamente cuando el aire está bloqueado por el barro. Es bien conocido el efecto de la temperatura ambiente sobre el deterioro de la caña. La temperatura más alta durante la noche desencadena la producción de dextrano en la caña almacenada. Estas observaciones apoyan que el medio ambiente juega un papel importante en la disminución de la calidad después de la cosecha, sin embargo, el factor variedad también influye en el proceso de deterioro, pero hasta cierto punto.

3.2.5.5 Recolección mecánica

La introducción de la recolección mecanizada y el posterior picado de la caña quemada en verde conduce a la pérdida de calidad y la formación de dextrano, un factor disuasorio en el procesamiento. La cosecha mecánica con el consiguiente retraso en la entrega de la caña a la azucarera continúa siendo uno de los mayores problemas que afectan la eficiencia de la fábrica y la calidad del azúcar. Egan (1968) informó que las pérdidas poscosecha en la cosecha recolectada por la picadora en Queensland (Australia) representaron del 6 al 11 por ciento de la CCS original presente, en comparación con una pérdida del 1 al 2 por ciento en la caña entera almacenada. Egan (1971) encontró que el tamaño de la palanquilla era más crucial en el deterioro poscosecha. Un estudio de Singh y Solomon (2003) mostró que las palanquillas, en general, registraron una disminución significativamente mayor en el azúcar recuperable, la pureza y el pH del jugo. Los contenidos de dextrano y azúcares reductores también fueron significativamente más altos en las palanquillas en comparación con la caña entera después de 7 días de envejecimiento. Se ha demostrado que la recolección mecánica

de caña quemada o sin quemar reduce la calidad de la caña en comparación con la recuperación de azúcar en muchos países (Egan, 1963, 1968, 1971; Irvine y Legendre, 1973; Larrahando, 2005; Larrahando et al., 2002, 2006). En caña de azúcar recolectada mecánicamente con alto contenido de basura, se reportó caída en la pureza, contenido de sacarosa y fosfato (Larrahando, 2005) con mayores niveles de dextrano. Un estudio reciente de Solomon et al. (2008) con palanquillas de caña de azúcar durante el período de molienda tardía indicaron una disminución de más de 1.0 unidad en la CAC por día, mientras que en la caña verde de tallo entero cosechada convencionalmente fue relativamente menor.

3.2.5.6 Efecto del estrés biótico y abiótico

En las cañas afectadas por estrés biótico y abiótico, el proceso de deterioro se inicia antes de la cosecha, lo que conduce a una fuerte pérdida de calidad si el retraso entre corte y triturado es mayor. En cultivos afectados por estrés se han observado importantes alteraciones fisiológicas y químicas que conducen a un mayor deterioro de la calidad de la caña. La caña congelada y el deterioro inducido por las heladas son a veces un asunto serio en Florida, Argentina y otras regiones situadas en la periferia norte y sur del mundo de la caña de azúcar. La caña deteriorada por congelación puede causar problemas en el procesamiento y, a veces, conduce al cierre de la fábrica. Las temperaturas por debajo de 22 ° F matan todas las partes aéreas de las variedades comerciales, mostraron cambios dañinos significativos en la calidad del jugo, es decir, contenido de sacarosa, pureza, rendimiento de azúcar, pH, acidez y concentración de dextrano. (Eggleston y Legendre, 2003; Eggleston y col., 2004; Legendre y col. 2007).

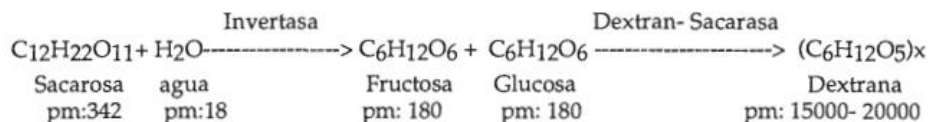
3.2.5.7 Inversión de la Sacarosa

Uno de los problemas de la industria azucarera, es la pérdida de sacarosa durante la fabricación del azúcar la cual empieza con la caña misma y su cosecha. Dichas pérdidas pueden ser causadas por varios factores tales como: inversión por las altas temperaturas (mayores a 80°C), pérdidas debidas a la acción de microorganismos a temperaturas

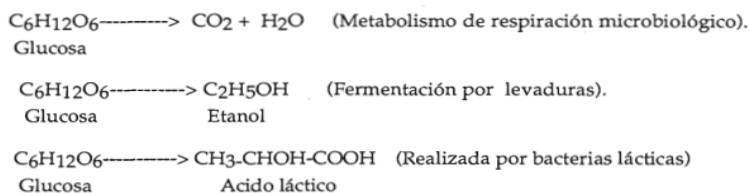
menores de 70 °C, por acidez y degradación alcalina. Después del corte de la caña en el campo la sacarosa empieza a desdoblarse en sus monómeros, glucosa y fructosa.

La inversión es un proceso en el cual la enzima invertasa, convierte la sacarosa obtenida en el jugo en glucosa y fructosa, hecho que afecta el rendimiento de azúcar y ocasiona pérdidas económicas. Los agentes responsables de la inversión son: Caña caída, tiempo transcurrido entre el corte de la caña y molienda, temperatura del jugo, acidez del jugo y Presencia en el jugo de microorganismos que excretan invertasa.

La reacción de inversión y formación de dextranas es la siguiente (Mora, 1994):



La glucosa también puede ser bioconvertida en otros subproductos (Mora, 1994):



3.2.6 Deterioro térmico

La temperatura juega un papel crucial en la descomposición de la sacarosa. Durante el procesamiento de los jugos y el almacenamiento del azúcar tiene lugar la descomposición de la sacarosa debida al calor, formándose componentes poliméricos y coloreados, este proceso se conoce generalmente como formación de caramelo. Las reacciones que tienen lugar son esencialmente las mismas en los azúcares sólidos que en los jugos y siropes del proceso, en el caso de los azúcares sólidos la mayor parte de la descomposición tiene lugar en la miel que rodea al cristal, donde hay suficiente agua para que ocurra la reacción química (Batule, 2008).

La pérdida de sacarosa durante el almacenamiento aumenta con el incremento de la temperatura, y el descenso de la polarización va acompañado por la formación de color, que de hecho viene precedido por la misma, ya que tanto en los jugos y siropes como en el azúcar se percibe antes de que sea observable la pérdida de sacarosa (Batule, 2008).

Un aumento en el color indica una pérdida de sacarosa, pero se han realizado pocas estimaciones cuantitativas para relacionar la aparición de color con la pérdida de sacarosa, se cree que el incremento de color es más o menos directamente proporcional al hidrólisis del azúcar cuando las moléculas de glucosa y fructosa se relacionan mediante un factor limitante. Ello se debe a que haya diversas reacciones causantes de la coloración, así como una amplia gama de grados de intensidades de color en los productos de dichas reacciones. La mayoría de los productos de la reacción de descomposición de la sacarosa no son de hecho coloreados (Batule, 2008).

El descenso de la polarización puede ser una medida errónea de las pérdidas de sacarosa. Si, en primer lugar, se invierte la sacarosa, reaccionando a continuación la fructosa, el azúcar invertido se obtiene en proporciones desiguales, la polarización puede ser artificialmente alta si la fructosa desaparece más rápidamente que la glucosa, o puede ser artificialmente baja si la glucosa desaparece más rápidamente que la fructosa. El primer caso es normal en las refinerías, mientras que el segundo es común en los ingenios azucareros (Batule, 2008).

La cantidad de sacarosa hidrolizada durante la evaporación excede todas las otras pérdidas térmicas, particularmente si el evaporador se opera a temperaturas altas. En un evaporador típico la cantidad de sacarosa hidrolizada puede ser de 9 g por cada 100 g de sacarosa, bajo condiciones de jugo procedentes de cañas frescas. El efecto es más pronunciado en la industria del azúcar de caña que en la de remolacha, ya que en la primera el jugo es menos estable (Batule, 2008).

El incremento de color en los evaporadores va acompañado de la caída del pH, causada por los productos de descomposición ácidos del azúcar invertido. Aparte de la alta temperatura, también el bajo pH y un tiempo de residencia alto incrementa el nivel de

hidrólisis de la sacarosa. Las moléculas de glucosa y fructosa continúan reaccionando con las aminas y aminoácidos para producir compuestos coloreados las cuales afectan la calidad del azúcar blanco debido al incremento del color (Batule, 2008).

Los compuestos coloreados que se forman durante el procesamiento provienen de la descomposición térmica de la sacarosa y de los azúcares reductores (glucosa o fructosa), o se originan en las reacciones de estos carbohidratos con compuestos amino nitrogenados presentes en la planta mediante la reacción de Maillard, produciendo polímeros coloreados denominados melanoidinas (Larrahondo, 1995).

3.2.7 Deterioro enzimático

La caña de azúcar es una planta que por naturaleza contiene enzimas, la mayoría de las cuales resultan indispensables para su desarrollo, mientras que otras permanecen inactivas en la planta cuando ésta aún no ha sido cosechada. Sin embargo, en el momento en que ésta es cortada, la planta se considera sin vida, por lo cual pierde paulatinamente su sistema de defensa anti-enzimático, dando lugar al deterioro de la misma. Este deterioro puede observarse al comparar, a través de muestreos por laboratorio, cañas recién cortadas contra otras que poseen varios días de atraso, siendo notoria la disminución de la pureza del jugo contenido en la misma, cuyos resultados son debidos a la conversión de sacarosa en azúcares invertidos (glucosa y fructosa) (Zepeda, 2012).

El efecto enzimático o fisicoquímico en sus azúcares reductores, glucosa y fructosa, es conocida como reacción de inversión de la sacarosa. En sentido químico, inversión se refiere al cambio de actividad óptica dextrógira a levógira, o viceversa que ocurre como resultado de la hidrólisis ácida o enzimática de una solución de sacarosa que produce una mezcla de azúcares invertidos de glucosa y fructosa. La inversión de la sacarosa por la enzima invertasa tiene lugar en la caña de azúcar cosechada. La actividad enzimática depende de la edad, variedad y temperatura de la planta. La rápida inversión de la caña inmadura en la época de calor da por resultado valores más bajos de pureza. El metasilicato de sodio actúa como inhibidor de la invertasa en el jugo de la caña y la

inversión enzimática se detiene cuando las enzimas son destruidas durante el proceso de clarificación del jugo (Mead y Chen, 1997).

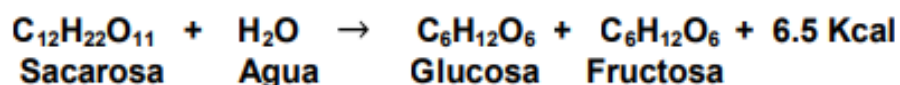
La enzima invertasa (β -D fructofuranósido fructohidrolasa ó β - fructofuranosidasa) en el jugo de caña tiene 2 orígenes: la caña de azúcar y la actividad microbiológica. La caña de azúcar sintetiza y cataboliza la sacarosa mediante esta enzima para obtener la energía necesaria para sus funciones fisiológicas y la producción enzimática varía de acuerdo a los requerimientos nutricionales y el tiempo entre corte (cosecha) y molienda.

La planta produce 2 tipos de enzimas diferentes: una es más activa bajo condiciones ácidas y está presente en células inmaduras como las del cogollo, mientras que la otra es más activa en condiciones normales y se encuentra en tejidos maduros; sin embargo, esta actividad enzimática se da en pequeña proporción por lo cual las pérdidas atribuidas a este factor son poco significativas (Serrano, 2006).

Este proceso resulta a partir de proteínas, principalmente invertasa, que actúa como catalizador para promover la inversión de sacarosa. La invertasa puede encontrarse presente naturalmente en la caña o ser producida por *Saccharomyces sp* y se 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 recuperables como azúcar. Por el contrario, incrementan la cantidad de miel final y por lo tanto la pérdida de sacarosa en mieles (Peter, 2012).

3.2.8 Deterioro químico

Esta reacción es conocida como hidrólisis o inversión y se expresa por la ecuación siguiente:



Este es un efecto secundario producido por el crecimiento microbiano. Este deterioro consiste en el incremento de la acidez del jugo de caña conforme se incrementa el tiempo

transcurrido desde el rozado de la planta. Éste incremento de acidez se debe a la formación de compuestos orgánicos producto de las reacciones metabólicas de los microorganismos, lo cual acelera el proceso de inversión de la sacarosa a causa del descenso en el pH del medio (Zepeda, 2012).

Cuando sobre una solución de sacarosa actúa un agente de inversión, tal como un ácido, la molécula de sacarosa se divide o invierte por la acción de una molécula de agua para formar una molécula de glucosa y una de fructosa, a la mezcla de esos dos azúcares se les llama azúcares invertidos (Batule, 2008).

3.2.8.1 Tipos de reacciones de descomposición química

3.2.8.1.1 Reacciones efectuadas bajo condiciones ácidas

Inversión ácida envuelve la inversión química de sacarosa en fructosa y glucosa bajo condiciones ácidas. La tasa de inversión se incrementa a menor pH y con mayores niveles de temperatura. Incluso con el pH natural del jugo de caña que es de 5.5, la cantidad de inversión es despreciable bajo las temperaturas de molienda. (Peter, 2012)

La reacción inicial de la descomposición química es la inversión de la sacarosa en glucosa y fructuosa. En el guarapo esta reacción puede resultar catalizada por la enzima invertasa y, en cualquier medio ambiente por un pH bajo. La enzima invertasa se inactiva por un aumento en la temperatura a 80 °C o más, y la inversión ácida se inhibe mediante la elevación del pH por encima de 6.0. El pH óptimo para la estabilidad de la sacarosa se sitúa entre 8.0 y 8.5 (Batule, 2008).

Siempre hay algo de azúcar invertido presente, y estos azúcares invertidos se descomponen de nuevo a través de una serie de reacciones formando compuestos coloreados, precursores de colorantes y compuestos orgánicos no coloreados, esto da origen a un efecto melasigénico; es decir, un arrastre o desplazamiento de sacarosa hacia las mieles finales provocado por todos los compuestos distintos de la sacarosa (Batule, 2008).

Generalmente, se considera que el nivel de inversión depende de la temperatura y de la concentración de iones de hidrógeno (pH), sacarosa y agua (Batule, 2008).

Los azúcares invertidos son comparativamente estables en solución ácida, pero se produce una formación continua de color, en parte debida a la descomposición a través de varias sustancias intermedias en 5-hidroximetilfurfural (HMF) y en sus productos coloreados de descomposición. Otros caminos, de formación de color en medio ácido es la condensación HMF con los aminoácidos para formar compuestos amarronados y nitrogenados, y la condensación de glucosa con compuestos amínicos para formar un producto que se polimeriza tras sufrir una redistribución de Amadori, formando los productos o compuestos coloreados, también llamados Melanoidinas. A esta reacción se le conoce como reacción de Maillard. Estos productos de color con un pH bajo tienen lugar al destruirse la sacarosa en el guarapo o en cualquier otra etapa del proceso en donde se localice momentáneamente una zona de pH bajo (Batule, 2008).

La inversión ácida se inicia antes de la clarificación y continúa durante todo el proceso; ésta reacción depende tanto de la temperatura como del pH. Cuando el pH del jugo es de 5.8 y la temperatura es de 120 °C, la inversión reduce la concentración de sacarosa a una tasa de 2 % cada hora de operación. A medida que se disminuyen el pH y la temperatura, se mantiene este nivel de inversión hasta que el pH y la temperatura llegan a 4.6 y 90 °C respectivamente (Mead y Chen, 1997). La inversión ácida se reduce al mínimo por la adición de cal o de otro agente alcalinizante a fin de mantener el pH a un valor de 7.0 o ligeramente superior. El procesamiento a la más baja temperatura permisible reduce asimismo la reacción de inversión (Mead y Chen, 1997).

3.2.8.1.2 Reacciones efectuadas bajo condiciones básicas

Desde el punto de vista de la pérdida directa de sacarosa, la descomposición de la misma bajo condiciones básicas no es tan seria como la que se produce bajo condiciones ácidas, pero es más seria desde el punto de vista de la formación de color y mayor generación de miel final.

La formación de color bajo condiciones básicas es un campo extremadamente complejo. La descomposición alcalina de la sacarosa en azúcares reductores es probablemente la primera etapa de la reacción, aunque existe la reserva de la ausencia de glucosa y fructosa en la hidrólisis básica. Los productos principales de la descomposición alcalina son los ácidos orgánicos, especialmente el láctico que tiende a disminuir el pH, y los productos coloreados poliméricos, bien sean melanoidinas o compuestos formados mediante una serie de ácidos sacáridos, o una serie de reacciones catalizadas por iones de calcio.

La presencia de azúcares reductores en un medio alcalino es óptima para la formación de color; es decir, es la peor situación. Esta situación aparece cuando se permite que el guarapo se mantenga ácido durante cierto tiempo antes de la elevación del pH del mismo. En este caso, se dice que la cal destruye el azúcar invertido, ello es así, pero las reacciones de destrucción generan color. Además, el azúcar invertido en solución reaccionará con los componentes amínicos, procedentes de la ruptura de las proteínas, formando melanoidinas. El exceso de cal catalizará así mismo la ruptura de la sacarosa en ácidos orgánicos.

La descomposición alcalina de la sacarosa se produce inicialmente vía la división de la cadena glucosídica produciendo D-glucosa y D-fructosa, o formas iónicas de esos monosacáridos.

La sacarosa es en cierto modo estable al ataque alcalino y relativamente lábil a la degradación alcalina. Sin embargo, la sacarosa puede degradar a la D-glucosa y D-fructosa en una solución alcalina ligera a pH hasta de 8.3 pero esta degradación procede por el mecanismo de hidrólisis ácida normal. En la fabricación de sacarosa; por tanto, la reacción principal que causa pérdidas de sacarosa, entre un pH de 7 y 8.3, es la hidrólisis ácida que ocurre a pH ácidos o más bajos.

Las reacciones catalizadas por ácidos de los azúcares reductores son complejas, y en muchos años al menos inicialmente, similares a las reacciones alcalinas, pero generalmente más lentas. Bajo las condiciones ácidas (pH 5 - 6 desde 0 - 60 °C) los

azúcares reductores se ionizan y producen una mutarrotación, a pH más bajos (< 3 ó 4) y a temperaturas altas (100 °C) ocurre la enolización y la isomerización.

Bajo las condiciones básicas del proceso de fabricación del azúcar, la mayoría de los procesos de degradación de los azúcares reductores se produce mediante la reacción con los aminoácidos (reacción de Maillard) y los subsecuentes re-arreglos, enolización y ciclizaciones para los productos de la reacción de Maillard y los azúcares reductores. Esas reacciones contribuyen significativamente a las pérdidas de sacarosa y a la formación de color indeseable (Batule, 2008).

3.2.9 Deterioro microbiano

Este deterioro, como su mismo nombre lo indica, consiste en la proliferación de microorganismos en la caña de azúcar, principalmente en cañas cortadas. Este efecto es causado principalmente por un conjunto de bacterias del género *Leuconostoc*, las cuales consumen la sacarosa produciendo largas cadenas de glucosa (Dextrana), dando lugar a la fermentación de la fructosa produciendo ácidos orgánicos que deterioran la cosecha. El daño causado por el fuego durante la quema, el corte, el viento, los insectos y el daño mecánico causado por el manejo y alce de la caña, causan heridas en los tallos que permiten la entrada del *Leuconostoc* y propician la formación de dextrana (Zepeda, 2012).

Gran parte de las pérdidas de sacarosa en el proceso de fabricación del azúcar son debidas a las poblaciones microbiológicas presentes en la caña, la cuales se encuentran en las etapas iniciales del proceso un medio ideal para su crecimiento y desarrollo. Aunque la mayoría de las poblaciones no sobreviven las operaciones de calentamiento posteriores, éstas son capaces de producir importantes pérdidas de sacarosa en las primeras etapas del proceso, aumentando su significancia en la etapa de extracción del jugo (Guerrero, 2018).

3.2.9.1 Fuentes de contaminación microbiana

El origen de los organismos contaminantes se remonta al suelo adherido al tallo y las hojas de la caña. Se detecta una pequeña cantidad de organismos en la superficie de la caña verde y quemada, pero no dentro del tallo. Los extremos cortados del tallo de la caña se infectan con *Leuconostoc* en el momento de la cosecha por contacto con machetes de cortador de caña contaminados, suelo y la flora epífita de la planta. La infección de *Leuconostoc* penetra rápidamente en el tallo y coloniza el tejido. Los organismos se multiplican rápidamente en la caña cosechada y exhiben una curva característica de crecimiento exponencial, alcanzando máximos recuento de 10^7 a 10^8 células / ml dentro de los 3 a 4 días posteriores a la cosecha, seguido de una ligera disminución.

Durante la molienda, la mayoría de los microorganismos de los tallos de caña se lavan en el jugo extraído donde el desarrollo microbiano ocurre inmediatamente porque el jugo proporciona un ambiente natural y altamente nutritivo, rico en nutrientes orgánicos e inorgánicos. Además, el jugo se airea a medida que cae de los molinos. A medida que el jugo pasa por el tándem de molienda, se detiene en las regiones de estancamiento o baja velocidad y los microorganismos en él encuentran condiciones favorables para su crecimiento. Se recibe un suministro continuo de nutrientes frescos y, simultáneamente, los productos metabólicos se incorporan al flujo de jugo. Los microorganismos utilizan sacarosa y otros azúcares presentes en el jugo como fuente de energía al tiempo que entregan una variedad de productos metabólicos como ácidos orgánicos, azúcares reductores, etanol y polímeros con cadenas largas y complejas. Estos productos metabólicos de microorganismos pueden causar diversos problemas en procesos posteriores de fabricación de azúcar. El deterioro de la calidad comienza desde el campo mismo, poco después de la cosecha y la condición se agrava en conjunto debido a la presencia de nutrientes, aireación y estado dinámico de jugo.

Los siguientes sitios proporcionan caldo de cultivo para los microorganismos que destruyen la sacarosa: reciclaje del agua de lavado que transporta una cantidad considerable de microorganismos, al otro lado del molino, los canales recolectores de jugo debajo del molino son áreas principales para la multiplicación de *Leuconostoc*, las áreas detrás de las pantallas de jugo también albergan microorganismos productores de

dextrano, todas las pantallas son una fuente importante de infección bacteriana, tanques de jugo diluido, porque recibe jugos contaminados y tuberías y válvulas que contienen jugo sin limar.

El jugo de caña contiene sacarosa, compuestos nitrogenados y muchos factores de crecimiento que aceleran el proceso de multiplicación microbiana. Si el crecimiento de estos microbios continúa, como resultado de un saneamiento deficiente del molino y la ausencia de un biocida efectivo, el agotamiento de la sacarosa se vuelve muy rápido y conduce a una disminución en la recuperación (Solomon, 2009).

3.2.9.2 Microorganismos en el proceso de fábrica

Las condiciones favorables para el desarrollo de los microorganismos en las fábricas de azúcar de caña, están limitadas a una etapa en particular: el proceso de extracción. Las altas temperaturas y el bajo contenido de agua característicos de la mayor parte del proceso de fabricación se consideran como las principales condiciones adversas para una actividad microbiológica excesiva, mientras que en el área de molinos el jugo extraído presenta características físicas y químicas que lo convierten en un excelente sustrato para el desarrollo de una gran variedad de microorganismos.

Las etapas de operación posteriores a la extracción consisten en un tratamiento químico a alta temperatura (purificación), seguido de sedimentación y filtración, la concentración del jugo clarificado y la cristalización de la sacarosa. El número de microorganismos presentes en cualquier punto desde el clarificador hasta el azúcar bruto, es relativamente bajo en comparación con el jugo de caña crudo. Las poblaciones microbiológicas que degradan la sacarosa y los azúcares reductores presentes en el jugo determinan las características fisicoquímicas del mismo e influyen en el desarrollo posterior del proceso de extracción; por esta razón, los subproductos metabólicos son tomados como indicadores indirectos de las pérdidas de sacarosa en el proceso, aunque las pérdidas reales son mayores que las que se pueden calcular con base en estos indicadores debido a que están influenciados por factores ajenos a la actividad microbiana.

Los azúcares reductores son el producto intermedio de la descomposición de la sacarosa y son el índice más empleado para la detección de pérdidas en jugos; sin embargo, estos azúcares son utilizados por la gran variedad de microorganismos encontrados en los jugos como fuente de carbono para desarrollarse y generar otros productos metabólicos como etanol, ácidos orgánicos y CO₂. Por esta razón, algunos autores sugieren la cuantificación de otros productos finales del metabolismo como el ácido láctico, que son indicadores más precisos de pérdidas de sacarosa por actividad microbológica en el tándem de molinos, pero se hace necesario realizar estudios que permitan tener criterios de selección entre los indicadores que muestren mayor correlación con el metabolismo de los microorganismos.

El deterioro microbológico causa la mayoría de las pérdidas por inversión, disminuyendo la producción de azúcar y aumentando la producción de melazas; los microorganismos encuentran en la sacarosa un buen sustrato para su crecimiento y en su desarrollo excretan la enzima invertasa. (ICMSF.1980).

3.2.9.3 Microorganismos en el proceso

Las condiciones favorables para el desarrollo de los microorganismos en las fábricas están limitadas a un área particular: el ciclo de extracción, puesto que las altas temperaturas y el bajo contenido de agua, característicos de la mayor parte del proceso de fabricación, se consideran como las principales condiciones adversas para una actividad microbológica excesiva. La extracción comprende una operación de molienda en la que se obtiene el jugo mixto de la caña o jugo crudo, cuyas características físicas y químicas lo convierten en un excelente sustrato para el desarrollo de una gran variedad de microorganismos (Cerutti de Guglielmonte et al., 2000; Hoing, 1969).

Las etapas de operaciones posteriores a la extracción consisten en cierta forma de tratamiento químico a alta temperatura (clarificación), seguido de sedimentación y filtración, la concentración de jugo clarificado y la cristalización del producto comercial. El número de microorganismos presente en cualquier punto desde el clarificador hasta el

azúcar bruto, es relativamente bajo en comparación con el jugo de caña crudo (Antier, 1996; Hoing, 1969).

Desde el momento que se corta la caña hasta que se clarifica el jugo extraído a altas temperaturas, la sacarosa está expuesta a la acción enzimática de una multitud de microorganismos que pueden provenir del suelo, de la suciedad en los tallos y de las hojas de la caña o del aire contaminante, y que se ven favorecidos por factores como las operaciones de quema, corte, condiciones de temperatura, alta humedad y tiempos entre corte y molienda.

Cuando la caña entra en el molino, sus jugos circulan a través de los mismos y entran en contacto con los microorganismos que se encuentran adheridos a las superficies metálicas; sin embargo, la presencia de éstos microorganismos en el azúcar o en cualquier producto intermedio de fabricación, no significa necesariamente que se estén produciendo cambios perjudiciales, ni que éstos tendrán significado representativo desde el punto de vista económico, a menos que factores del medio como la temperatura, la humedad, el oxígeno y los nutrientes sean favorables para el rápido crecimiento de los microorganismos (Serrano, 2006).

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 P., 1953).

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).

3.2.9.3.1 Bacterias ácido lácticas

Las bacterias ácido lácticas (BAL) forman un grupo heterogéneo, con características generales tales como, Gram positivas, catalasa negativa, no esporuladas microaerófilas, 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 con morfología de cocos de forma redondeada u oval y los bacilos o bastones de forma alargada. (DeLong, Lory, Stackebrandt, & Thompson, 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 glucolítica 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, acetoína, etc. (Hernandez, 1995).

3.2.9.3.2 Bacterias productoras de exopolisacárido

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 & 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, & JS, 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 (Rodriguez, 2005). Según (Cuddihy, Porro, & JS, 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.

3.2.9.3.3 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 & 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 característico 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).

3.2.9.4 Mecanismo de acción del microorganismo en el proceso

Egan informó que *Leuconostoc mesenteroides* es la principal causa de deterioro de la caña cosechada (Egan, 1965). Los microbios infectan la caña donde quiera que se dañe o corte el tallo. Coloniza rápidamente el tejido dañado, seguido de una disminución del contenido de sacarosa, la pureza del jugo y el pH. La acidez titulable aumenta notablemente dentro de los dos días posteriores a la infección. La pérdida de CCS se hace evidente en la caña picada en comparación con el tallo entero (Egan, 1968; Tilbury, 1969). Microorganismos como *Leuconostoc* y algunas bacterias productoras de ácido se encuentran en el interior del tallo de la caña inmediatamente después del corte. La infección es más grave si la caña se corta en la mañana, antes de que se seque el jugo extraído. Se ha establecido que los sitios para la multiplicación microbiana, como los glóbulos de jugo extruidos, las grietas de crecimiento y las áreas protegidas debajo de la vaina, proporcionan un lugar suficiente y agradable para la multiplicación microbiana (Beavan y Bond, 1971). La infección masiva se encuentra hasta seis pulgadas de los extremos cortados después de aproximadamente una hora y media de almacenamiento. Organismos como levaduras, *Leuconostoc*, *Xanthomonas* y *Aerobacter*, los tres últimos productores de material mucoide como el dextrano, están presentes en los extremos cortados o en los sitios dañados. También se registró la presencia de *Penicillium*, *Actinomyces* y *Streptomyces* productores de ácido en la caña cosechada (Kulkarni y Kulkarni, 1987).

El deterioro por microorganismos también se conoce como biodeterioro y es causado principalmente por *Leuconostoc sp.* (*L. mesenteroides* y *L. dextranicum*). Estos organismos forman colonias nodulares después de la multiplicación, en condiciones favorables, al convertir la sacarosa en polisacáridos, como el dextrano. El microorganismo es un anaerobio facultativo y se reproduce rápidamente en condiciones anaeróbicas, como las cañas cubiertas de barro y las cañas almacenadas en grandes pilas con poca ventilación. La reacción de sacarosa a dextrano es catalizada por enzima dextransucrasa o invertasa exógena. La dextransucrasa cataliza la transferencia del resto de glucosa de la sacarosa al cebador para la formación de dextrano, un polisacárido de cadena larga. La glucosa y la fructosa se convierten en ácidos orgánicos y manitol por las enzimas secretadas por la bacteria.

Además de la entrada de muchos microbios externos, los tallos de la caña de azúcar contienen una flora microbiana endofítica, a saber, *Acetobacter*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Bacillus* y el grupo del ácido láctico que aumentaron varios pliegues durante el envejecimiento y también son responsables del deterioro de la calidad del jugo. La población bacteriana heterotrófica dentro de los tejidos parenquimatosos de las cañas frescas y rancias varió de $1,5 \times 10^5$ a 7×10^6 ufc por g⁻¹ a 9×10^5 a 7×10^6 ufc por g⁻¹ de tejido, respectivamente. El deterioro es provocado por la invertasa endógena, así como por la invertasa de origen bacteriano, seguida de la producción de metabolitos secundarios como el ácido orgánico, el dextrano, la goma y el alcohol. Además, es necesario reducir considerablemente la población bacteriana muy alta en la caña rancia para minimizar las pérdidas de azúcar (Suman et al., 2000). Saengon y Daengsubha (1984) informaron que *Streptococcus sp.* fue la población principal y mostró mayor actividad en la descomposición de la sacarosa en el jugo de caña de azúcar. Adicionalmente, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* y *Lactobacillus cellobiosus* también se encontraron algunos que predominaron y mostraron actividad de descomposición en el jugo. Es bien sabido que la caña de azúcar deteriorada afecta negativamente el procesamiento en la fábrica, debido al alto contenido de dextrano.

3.2.10 Formación de metabolitos por acción microbiana

En la industria azucarera, la formación de productos metabólicos poscosecha de origen microbiano tiene especial importancia debido a su efecto en las operaciones de recuperación y procesamiento de sacarosa (Ravelo et al. 1991). Estos metabolitos de gran importancia de origen microbiano que pueden utilizarse como indicadores del deterioro de la caña.

Los principales productos de la actividad microbiológica, además de la masa celular y los polisacáridos, son los azúcares reductores así como productos intermedios, el manitol, ácidos orgánicos como el ácido láctico que sirve como indicador de la pérdida de azúcar, ácido acético, etanol, nitritos, H₂ y CO₂, dependiendo de la composición microbiana determinada por condiciones de diseño y operación de las plantas, así como de ciertas propiedades de la materia prima; estos productos metabólicos disminuyen el pH, producen componentes coloreados y permanecen en el proceso afectando la calidad de subproductos posteriores teniendo todos ellos un efecto “melasigénico”; es decir, que arrastran sacarosa con ellos a las melazas, disminuyendo la cantidad de sacarosa recuperada(Serrano, 2006).

3.2.10.1 Azúcares reductores

Los azúcares reductores se refieren generalmente como azúcares invertidos, determinados midiendo el contenido de sustancias reductoras mediante análisis de laboratorio. Los monosacáridos glucosa y fructosa son los componentes no-sacarosas 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).

3.2.10.2 Ácidos orgánicos

Los ácidos orgánicos como el ácido láctico, el ácido acético y el ácido butírico producidos por microorganismos conducen a la pérdida de sacarosa y a la disminución del pH del jugo. Por cada gramo de ácido producido se degradan aproximadamente 2,77 g (*L. mesenteroides*) y 11,09 g (*E. coli*) de sacarosa. El jugo que contiene un exceso de ácido requiere una adición de cal para neutralizar la acidez. La reacción entre los ácidos y la cal da como resultado una gran formación de incrustaciones en los calentadores de jugo, lo que reduce la eficiencia del calentamiento. El índice de acidez titulable (TAI) es, por tanto, un valioso indicador de deterioro (Gupta y Lal, 1984).

3.2.10.3 Etanol

una gran cantidad de levadura está invariablemente presente en el jugo, lo que no solo favorece la producción de ácido sino también de etanol a expensas de la sacarosa. En Sudáfrica, la acumulación de etanol se utiliza como un indicador de la pérdida de azúcar en los extractos de caña y como un indicador del retraso de quemado a triturado. Es 2-3 veces mayor para la caña quemada en comparación con la caña sin quemar (Cox y Sahadeo, 1992).

3.2.10.4 Oligosacáridos

La acumulación de oligosacáridos durante el período posterior a la cosecha también es indicativa de actividad bacteriana enzimática. Se encontró que las kestosis (1-6-y neokestosis) eran los principales oligosacáridos formados. Eggleston (2002) informó

niveles más altos de kestosis en la caña cosechada almacenada bajo diferentes condiciones de cosecha.

3.2.10.5 Manitol

La tasa de formación de manitol a partir de la reducción de fructosa por la enzima de *Leuconostoc* fue mucho mayor que la asociada con otros oligosacáridos o etanol. Por lo tanto, la formación de manitol se consideró como uno de los indicadores más confiables del deterioro de la caña (Eggleston, 2002; Eggleston y Harper 2006; Eggleston et al., 2005).

3.2.10.6 Polisacáridos bacterianos

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. (Naidoo & Lionnet, 2000) señalaron que el contenido de gomas, hoy denominado más comúnmente polisacáridos totales, depende significativamente la variedad de la caña y del lugar.

Los microorganismos presentes en el jugo de la caña son capaces de formar polisacáridos, que consisten especialmente de dextranas y Levanas, las cuales afectan el proceso de producción de azúcar bloqueando y limitando la funcionabilidad del proceso.

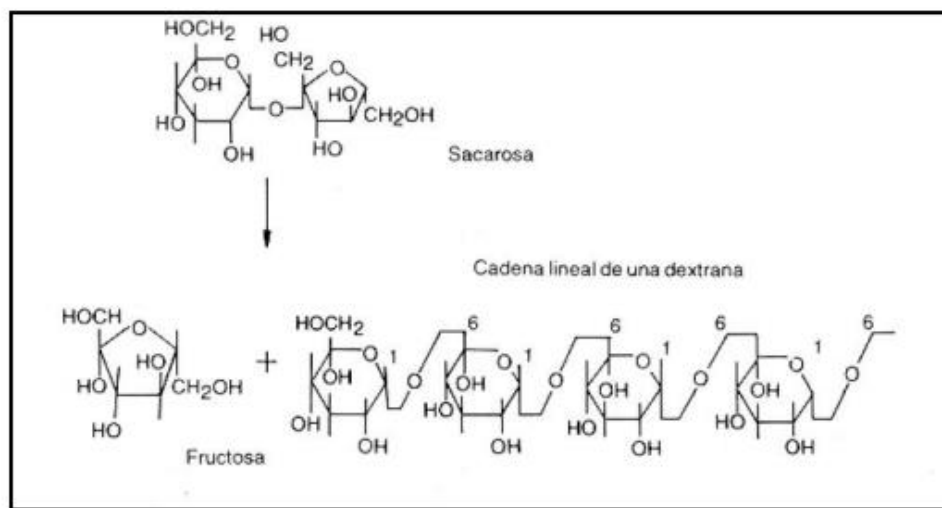
3.2.10.7 Dextranas

Las dextranas son polisacáridos de elevado peso molecular, formados por glucosas unidas por enlaces α -1.6 al menos en el 50%, con ramificaciones enlazadas α -1.3 aunque

también puede presentar otras unidas α -1.2 o α -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 dextranasa 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, & Rauh, 2001). Cuando la cepa de *Leuconostoc mesenteroides* es cultivada en medios ricos en sacarosa, se induce la producción de una enzima extracelular, la dextranasa. La sacarosa es el único sustrato conocido capaz de inducir esta producción de enzimas (Santos, Teixeira, & Rodrigues, 2000).

En la Figura 2 se puede observar la síntesis de las dextranas que ocurre extracelularmente a partir de la sacarosa, el proceso se lleva a cabo mediante la acción de la enzima dextranasa también llamada dextranosa, una glucosiltransferasa excretada por ciertos microorganismos y que cataliza la transferencia de residuos glucosídicos obtenidos por la hidrólisis de la sacarosa a un polímero de dextrano, liberando D-fructosa. Esta es una enzima inducible por su propio sustrato, capaz de catalizar la formación de muchos tipos de enlaces permitiendo la formación de polímeros ramificados (Serrano, 2006).

Figura 2. Síntesis general de dextrano a partir de sacarosa.



Fuente: Larrahondo, 1995.

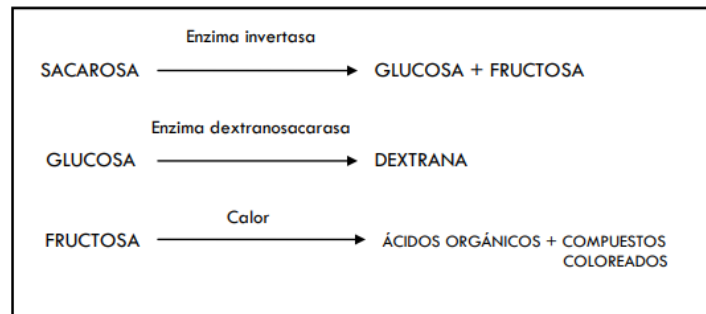
Bajo condiciones favorables de temperatura y humedad, la dextransacarasa hidroliza la sacarosa y forma dextranas. Junto con el jugo, estas dextranas se extraen en los molinos y posteriormente contaminan los flujos del central, su nivel en el jugo llega a exceder las 10000 ppm (1%) en los casos extremos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

La estructura y propiedades del dextrano varían según el microorganismo, las condiciones de cultivo, la concentración de sacarosa, pH, temperatura y aireación. Son producidos por bacterias ácido lácticas entre las que se encuentran *Lactobacillus sp.*, *Leuconostoc sp.* y *Streptococcus sp.*, dentro de los cuales el *Leuconostoc mesenteroides* y el *L. dextranicum* son los más conocidos; en este género se agrupan microorganismos anaerobios facultativos que tienen su hábitat natural en el cañaveral y que al producirse cualquier fisura en la superficie externa de la caña, la invaden y se reproducen rápidamente formando fácilmente polisacáridos bajo las condiciones de temperatura comprendidas entre 20 y 40 °C, pH de 5 a 6 y concentración de sacarosa de 10 % a 15 %, encontrada en la caña de azúcar cosechada (Serrano, 2006).

En cada molécula de azúcar que se consume se utiliza solamente la fracción de glucosa en la síntesis de la dextrana, permaneciendo como subproducto la fructosa la cual se descompone en ácidos orgánicos y otros productos coloreados que inducen un descenso del pH; lo anterior ocasiona un aumento en la tasa de inversión de la sacarosa por catálisis ácida y contribuye en consecuencia, al incremento de pérdidas adicionales de 63 azúcar (Larrahondo, 1995).

Como se observa en la figura 3, el mecanismo de reacción para la síntesis de dextrana a partir de la glucosa, la enzima invertasa no desaparece activa en el sistema, ya que actúa como un catalizador y no se consume en la reacción. La invertasa proviene del proceso fisiológico del crecimiento de la caña o desde las secreciones de microorganismos tales como levaduras, hongos, y bacterias. Esta enzima se inactiva incrementando la temperatura a 80 °C (176 °F) o en un valor superior (Batule, 2008).

Figura 3. Mecanismo de reacción para la síntesis de dextrano a partir de la glucosa

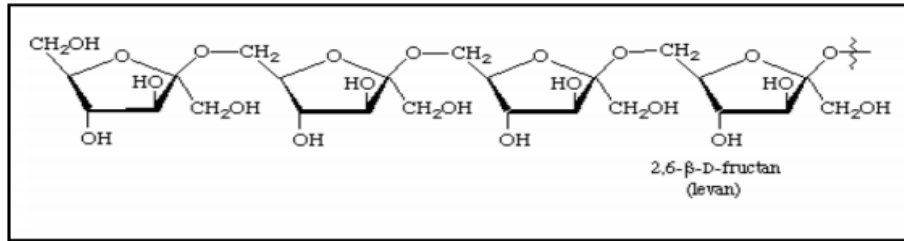


Fuente: Batule, 2008.

3.2.10.8 Levanas

En la figura 4 se puede observar la estructura de Levanas, es una 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 β (2-6) para la cadena lineal y β (2-1) para la cadena ramificada (Jang, y otros, 2002). Son de alto peso molecular, solubles en agua con rotación óptica negativa, formados por la acción de la enzima levanosacarasa que hidroliza la sacarosa y transfiere la D-fructosa a cadenas crecientes de fructanos para formar levanos. La levansacarasa ha sido aislada de varias bacterias incluyendo *Bacillus subtilis*, *Streptococcus mutans*, *Zymomonas mobilis*, *Acetobacter diazotrophicus*, *Erwinia amylovora*, y *Pseudomonas syringae*. (Honig P.,1969) describe cepas de *Aerobacter levanicum* productoras de este exopolisacarido. 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 & Matthias, 2001).

Figura 4. Estructura molecular de Levanas.



Fuente: Serrano, 2006.

4. METODOLOGÍA

4.1 Lugar de muestreo

Las muestras se tomaron en el Ingenio, ubicado en el departamento del Valle del Cauca. Los análisis fueron realizados en el laboratorio de Microbiología del Ingenio, se cuantifico la concentración por enumeración en medios de cultivos selectivos de los microorganismos representativos, obtenidos en la superficie de los tanques recibidores y en los jugos de caña.

4.2 Población y Muestra

Para el análisis de la microbiota alterante, se estipularon seis puntos de muestreo para la superficie de los tanques que fueron: tanque1, 2, 3, 4,5, canal y en los jugos de caña los puntos de muestreo fueron cinco: jugo de primera extracción, jugo diluido, jugo sulfitado, jugo encalado y jugo claro.

4.3 Medios de cultivo utilizados

Los medios de cultivo utilizados para cada grupo microbiano, condiciones de incubación y método de referencia para la realización del trabajo se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Medio de cultivo y temperatura de incubación para el aislamiento de cada grupo microbiano.

Grupo Microbiano	Medio de cultivo	Temperatura de Incubación	Tiempo	Método de referencia
BAL: bacterias ácido lácticas.	Agar APT (se le agrego 1 ml de azul de anilina al 1 % y 1 ml de Cicloheximida al 0,1 % por cada 100 ml de agar). ver anexo 1.	30 °C a 35 °C	24 — 48 horas.	ICUMSA GS2/3-43

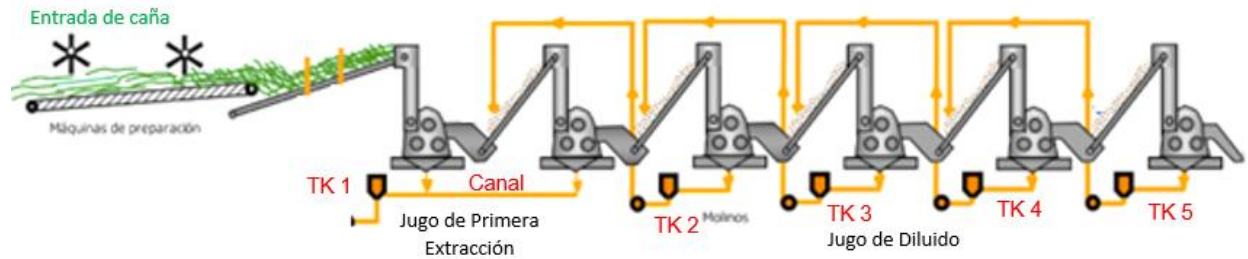
BALPE: bacterias ácido lácticas productoras de exopolisacárido.	Agar APT (se le agrega sacarosa al 10 %). Ver anexo 1.	30 °C a 35 °C	24 — 48 horas.	ICUMSA GS2/3-45
Mohos y Levaduras.	Agar YGC: Agar de cloranfenicol glucosa extracto de levadura. Ver anexo 1.	30 °C	48 — 72 horas.	ICUMSA GS 2/3-47
Coliformes y <i>E.coli</i>	compact Dry EC. Ver anexo 2.	37 °C	24 —48 horas.	ICUMSA GS2 / 3-52
<i>Salmonella spp.</i>	compact Dry SL. Ver anexo 2.	44 °C	24—48 horas.	NTC 4574

4.4 Análisis de la superficie de los tanques recibidores de jugo

4.4.1 Muestreo

Se tomó el hisopo y se humedeció en el tubo que contenía 10 ml de agua peptona estéril, quitando el exceso de agua presionando contra las paredes del tubo de ensayo. Seguidamente se realizó el frotis con el aplicador estéril húmedo en la superficie, nuevamente se introdujo el hisopo en el tubo que contenía los 10 ml de agua peptona estéril. Este procedimiento se llevó a cabo para cada uno de los puntos de muestreo correspondiente que son: tanque recibidor 1, 2, 3, 4,5 y canal. Los tubos de ensayo se rotularon de acuerdo al sitio donde se tomó la muestra. Se transportó la muestra al Laboratorio para realizar el análisis microbiológico.

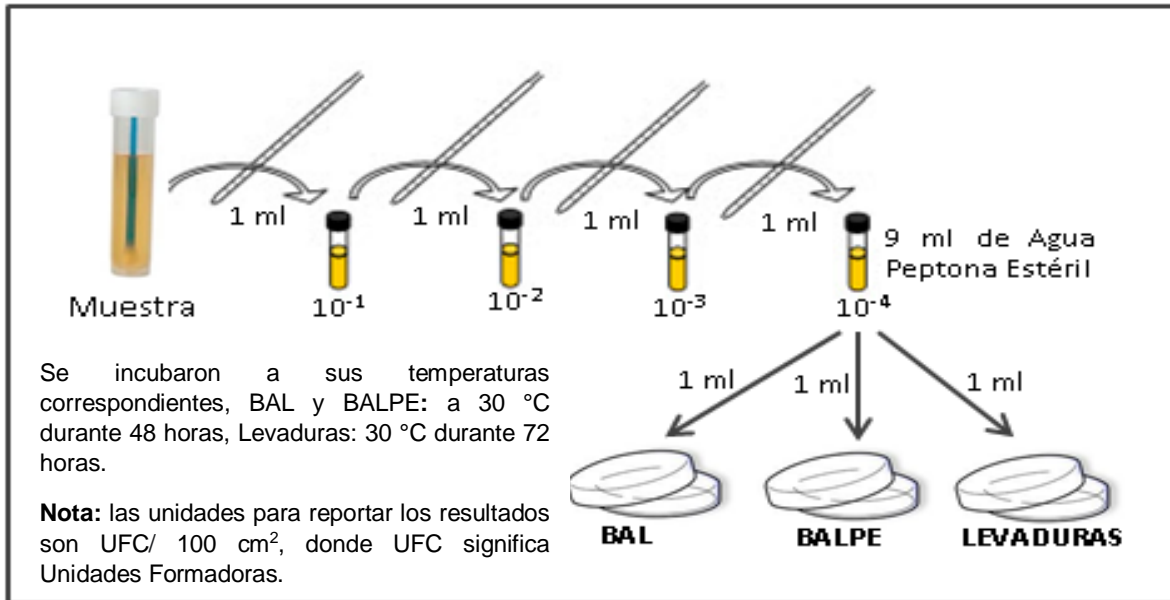
Figura 5. Puntos de muestreo de los tanques recibidores de jugo.



Fuente: Cenicaña, 2011.

4.4.2 Recuento microbiológico

En el siguiente diagrama de flujo se muestra cómo se realizó la siembra de cada una de las muestras, en la que se tiene que tener en cuenta lo siguiente: El número de diluciones seriadas va desde 10^{-1} a 10^{-4} , estas podían variar de acuerdo a las condiciones climáticas o dependiendo de los resultados de la carga microbiana de las muestras anteriores, Se rotularon las cajas de Petri con los datos necesarios que permitían su trazabilidad (fecha, dilución, muestra y microorganismo analizar). Se realizó siembra en profundidad y Este procedimiento se repitió con cada una de las muestras de la superficie de los tanques recibidores de jugo 1, 2, 3, 4,5 y la canal.



4.5 Análisis de los jugos de la caña.

4.5.1 Muestreo

Las muestras se tomaron de manera puntual usando recipientes de plástico estériles, con una capacidad de muestreo de 250 ml. Cada una de las muestras de jugo de primera extracción, jugo diluido, jugo sulfitado, jugo encalado y jugo claro. Fueron trasladadas al laboratorio de microbiología donde posteriormente fueron procesadas.

4.5.2 Recuento microbiológico

4.5.2.1 Coliformes y *E. coli*

De las muestras se tomaron 10 ml y se diluyeron en 90 ml de agua peptonada estéril, seguidamente se realizaron diluciones seriadas tomando 1 ml de esta y se llevó a un tubo con 9 ml de agua peptona estéril, solo se realizó dilución hasta 10⁻¹. A partir de esta dilución se sembró 1 ml en las placas de compact Dry EC que están diseñadas para la determinación tanto de Coliformes totales y *Escherichia coli* de manera enzimática, dichas placas contienen dentro de sus componentes agentes cromogénicos los cuales corresponden a Magenta Gal (5-bromo-5-chomo3-indoxy-β-D-Galactosidasa) el cual es

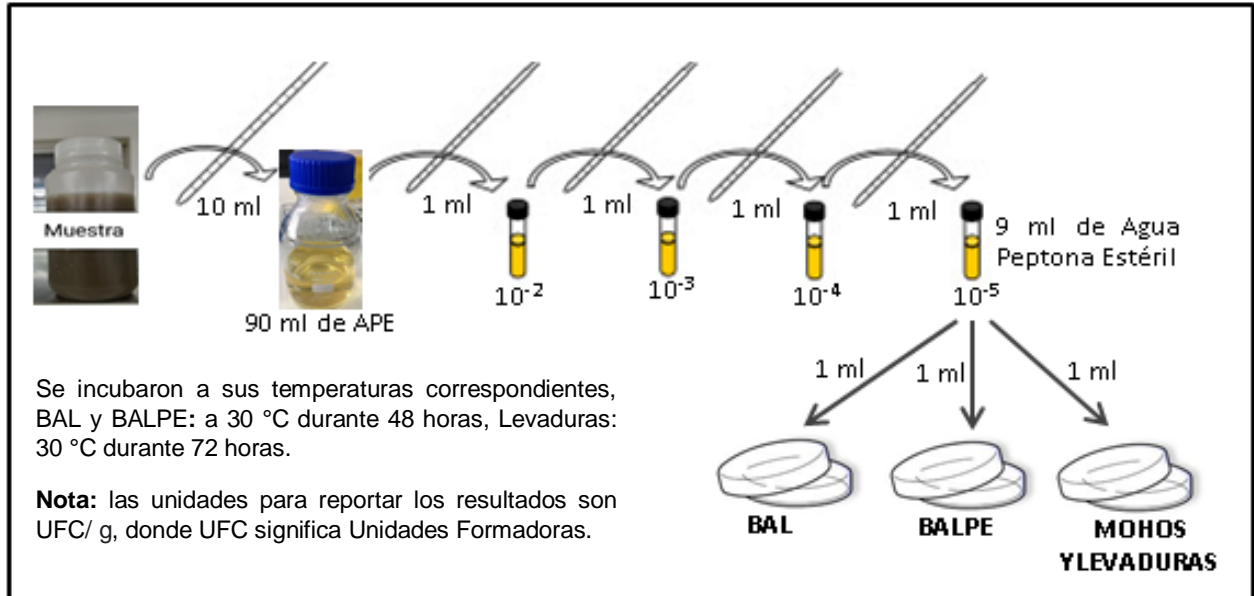
separado por la enzima β -D Galactosidasa característica para coliformes generando una pigmentación roja y X-gluc (5-bromo-5-chloro-3-indoxyl- β -D-glucuronido) debido a la formación de la β -D glucuronidasa característica de *Escherichia coli* la cual corta el sustrato glucurónido generando una coloración azul oscura (Pharmaceutical, 2019). Se incubaron durante 24 horas a 37 °C. Este procedimiento se llevó a cabo para cada una de las muestras.

4.5.2.2 *Salmonella spp*

De las muestras se tomaron 10 ml y se diluyeron en 90 ml de agua peptonada estéril y se incubaron a 37 °C. pasado el tiempo de incubación se tomó 1 ml y se sembró las placas compact Dry SL en Que sirven para verificar Salmonelas, que se realiza de un modo seguro y rápido basándose en un triple criterio como lo es el cambio de color, causado por la alcalización del medio por obra de la decarboxilasa de lisina específica de la Salmonela, surgimiento de colonias verdinegras por biodegradación del sustrato cromógeno, así como por el sulfuro de hidrogeno producido específico por las Salmonelas y capacidad de enjambre de las Salmonelas (hyserve,2019). Se incubaron durante 24 horas a 44 °C. Este procedimiento se llevó a cabo para cada una de las muestras.

4.5.2.3 BAL, BALPE, Levaduras y Mohos

En el siguiente diagrama de flujo se muestra cómo se realizó la siembra de cada una de las muestras, en la que se tiene que tener en cuenta lo siguiente: Se rotularon las cajas de Petri con los datos necesarios que permitían su trazabilidad (fecha, dilución, muestra y microorganismo analizar). Se realizó siembra en profundidad. Cada uno de los procedimientos mencionados, se repitieron para cada una de las muestras de jugos de caña.



4.6 Análisis fisicoquímicos

4.6.1 Grados Brix

Se agito la muestra para una buena homogenización, se tomaron 200 ml de la muestra en un vaso de precipitado y se filtró para remover las partículas gruesas. Se agregó en la unidad óptica del refractómetro agua destilada para la verificación del cero en la escala del Brix. Se adiciono en la unidad óptica del refractómetro una porción del jugo, se esperó a que la lectura se estabilice. Se registró la lectura del refractómetro. Este procedimiento se realizó con cada uno de los jugos.

4.6.2 pH

Después de recolectar la muestra se llevó a temperatura ambiente. Se lavaron los electrodos y el recipiente primero con agua destilada y luego con una porción de la muestra. Se llenó el vaso de precipitados con la muestra hasta cubrir el bulbo de los electrodos. Se midió el pH una vez estabilizada la lectura. Se enjuagan los electrodos del peachimetro y se dejan sumergidos sobre agua destilada. Este procedimiento se llevó a cabo para cada uno de los jugos.

4.6.3 Temperatura

Los resultados de temperatura fueron cedidos por el laboratorio de fábrica.

4.6.4 Análisis estadístico de los datos

Después de obtener los resultados se estableció una relación entre los recuentos microbiológicos y variables fisicoquímicas evaluadas. El procesamiento de los datos se realizó en Microsoft Excel del paquete Microsoft Office para la tabulación y representaciones gráficas.

5. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

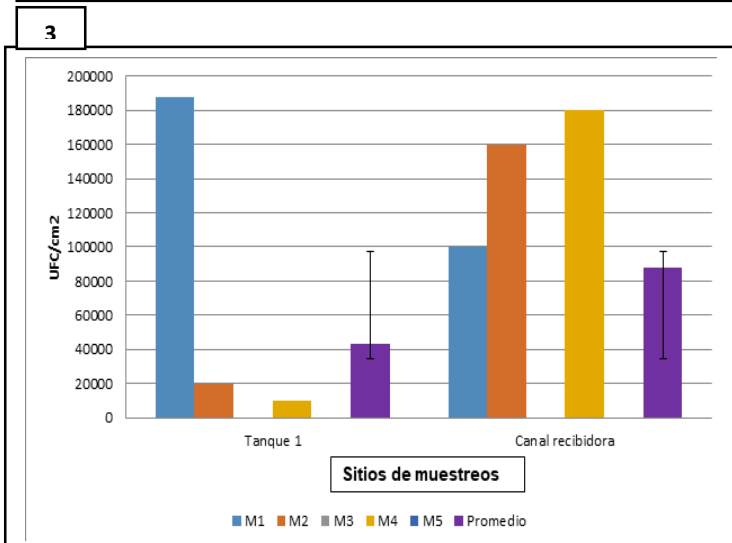
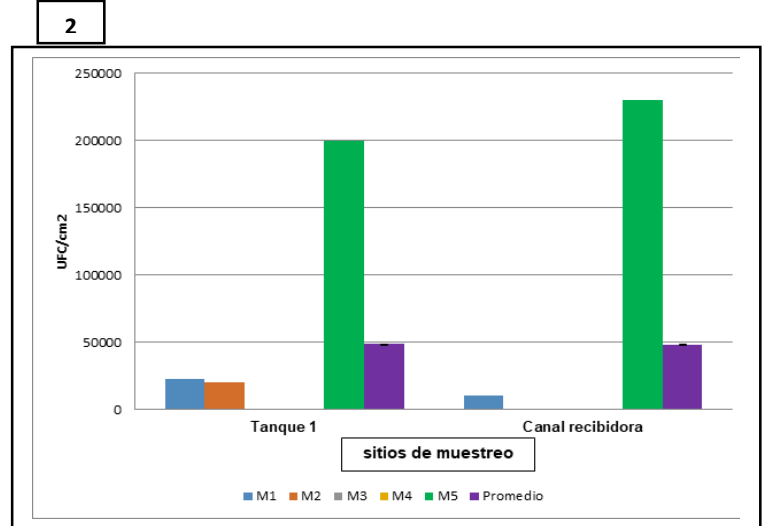
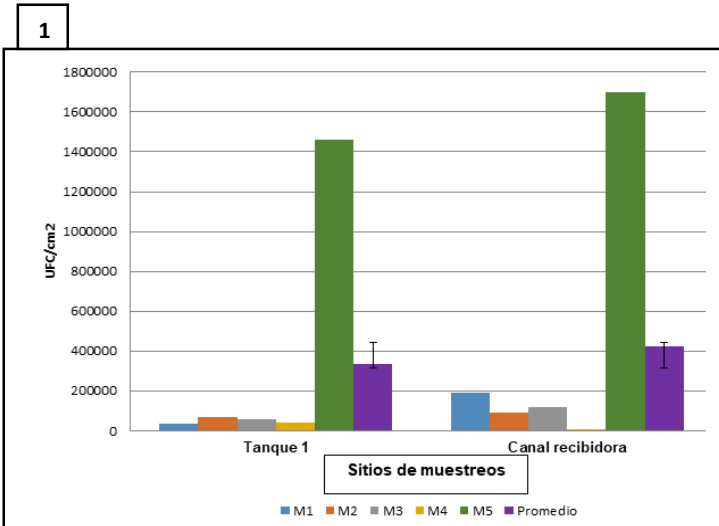
Actividad	Mes	Octubre				Noviembre				Diciembre				Enero				Febrero			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Revisión bibliográfica.	Semanas																				
Planteamiento del proyecto.																					
Presentación del proyecto a los jefes encargados del área.																					
Planteamiento de la Metodología.																					
Desarrollo de la metodología proyecto.																					
Recolección de datos y procesamiento.																					
Redacción del trabajo.																					
Entrega del trabajo.																					
Sustentación.																					
Análisis del azúcar blanco,																					

6. RESULTADOS Y DISCUSION

En las siguientes gráficas, tabuladas a partir de los recuentos obtenidos se presentan los resultados de la superficie de los tanques, para observarlos detalladamente ver el anexo 3 para los tanques recibidores de jugo de primera extracción y anexo 4 para los tanques recibidores de jugo diluido y por último la relación entre los recuentos microbianos y variables fisicoquímicas de los jugos ver anexos 6 y 7. Por último, es conveniente señalar, que los datos fisicoquímicos presentados son rangos con los que el ingenio lleva a cabo el proceso de elaboración, se tiene restricción por parte de la empresa, es decir salvaguardar la información; debido al manejo de política de información empresarial.

6.1 Recuento microbiológico en la superficie de los tanques recibidores de jugo.

Recuentos microbiológicos Superficies de Tanques y Canal.



Grafica 1. Recuentos microbiológicos de Bacterias ácido lácticas (BAL), expresado en UFC/ cm².

Grafica 2. Recuentos microbiológicos de Bacterias ácido lácticas productoras de exopolisacáridos (BALPE), expresado en UFC/ cm².

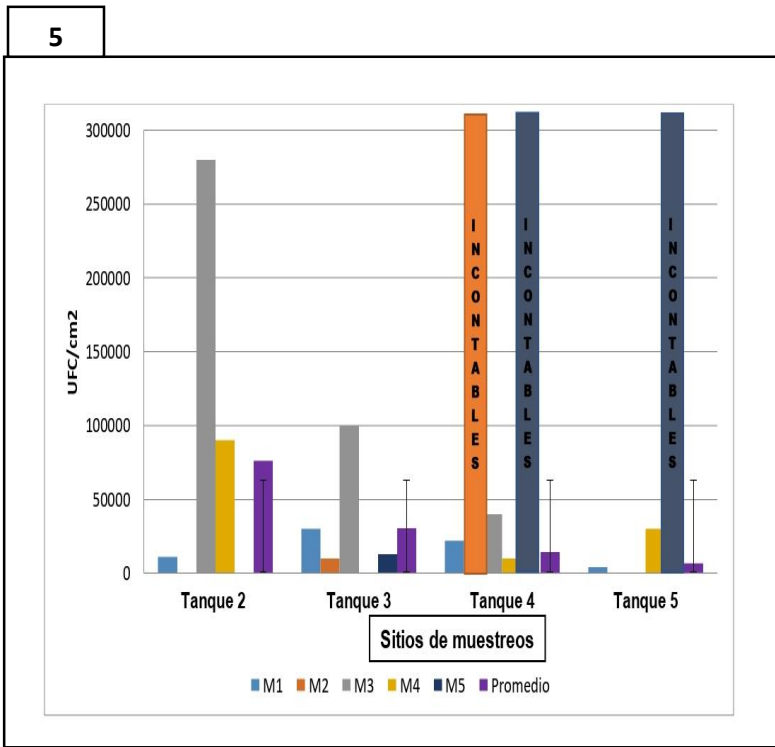
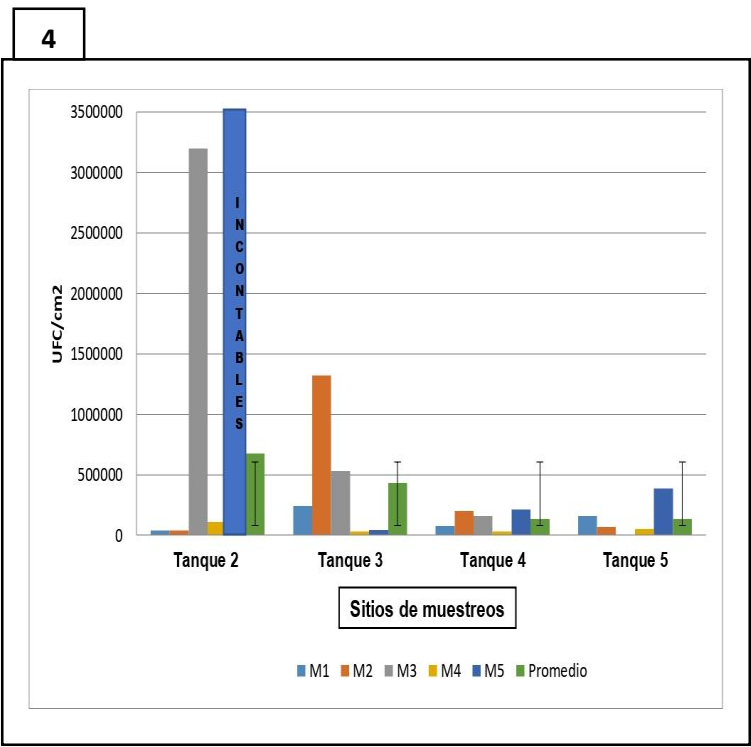
Grafica 3. Recuentos microbiológicos de Levaduras, expresado en UFC/ cm².

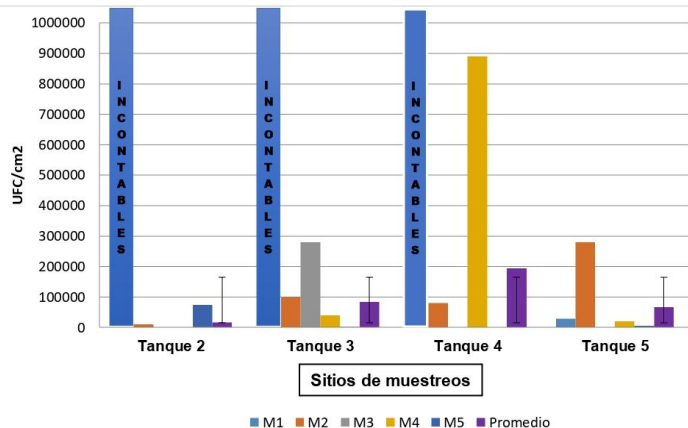
Numero de muestreo

■ M1 ■ M2 ■ M3 ■ M4 ■ M5 ■ Promedio

En las gráficas de la 1 a 6 se presentan los recuentos microbiológicos de BAL, BALPE y levaduras, obtenidos a partir de los cinco muestreos realizados a la superficie de los tanques de almacenamiento de jugo de caña. El tanque de almacenamiento 1 y canal reciben jugo de primera extracción, el tanque 2, 3, 4 y 5 reciben jugo diluido. Como se puede observar los valores obtenidos en los recuentos bacterianos y de levaduras son variables en los 5 muestreos realizados. En la superficie del tanque de almacenamiento 1 y canal reciben el jugo proveniente de la primera molienda de la caña sin agua o algún componente adicional, en estos sitios, se puede evidenciar en promedio que el tanque 1 se obtuvo un promedio de 333200 UFC/ cm² BAL, 81000 UFC/ cm² BALPE y 73000 UFC/ cm² para levaduras, en la canal el promedio para BAL fue de 4224000 UFC/ cm². BALPE 120000 UFC/ cm² y levaduras 150000 UFC/ cm². No existe norma interna o de calidad que establezca rangos permitidos de estos microorganismos en las superficies de los tanques, se evidencia que varían, dependiendo de las condiciones en las que se cosecha la caña, esta puede estar afectada por impurezas que se adhieren a la misma y por la presencia de lodos que se mezclan con el bagacillo, favoreciendo el desarrollo de estos microorganismos llegando a fijarse a la superficie.

Recuentos microbiológicos Jugos del proceso de extracción





Grafica 4. Recuentos microbiológicos de Bacterias ácido lácticas (BAL), expresado en UFC/ cm².

Grafica 5. Recuentos microbiológicos de Bacterias ácido lácticas productoras de exopolisacáridos (BALPE), expresado en UFC/ cm².

Grafica 6. Recuentos microbiológicos de Levaduras, expresado en UFC/ cm².

Numero de muestreo

■ M1 ■ M2 ■ M3 ■ M4 ■ M5 ■ Promedio

En la superficie de los tanques receptor de jugo 2, 3, 4 y 5 que reciben jugo diluido, que proviene de todos los molinos mezclados con agua durante la maceración, se puede observar en las gráficas 4, 5 y 6 que existe, en promedios microbianos superiores al tanque 1 y la canal. En el tanque 2 se obtuvo un recuento promedio de 847500 UFC/ cm² para BAL, 127000 UFC/ cm² BALPE, 42000 UFC/ cm² levaduras, tanque 3 un promedio 432800 UFC/ cm² BAL, 38250 UFC/ cm² BALPE, 105250 UFC/ cm² para levaduras, tanque 4 para BAL 135800 UFC/ cm², 24000 UFC/ cm² BALPE, 485000 UFC/ cm² levaduras y para el tanque 5 el recuento promedio fue de 166500 UFC/ cm² BAL, 17000 UFC/ cm² BALPE, 83750 UFC/ cm² levaduras, incluso reportándose conteos incontables dada la alta proliferación microbiana sobre la superficie de estos tanques de proceso, demostrándose la presencia de bacterias capaces de generar exopolisacáridos que facilitan su fijación a la superficies metálicas (anexo 5).

Al realizar una comparación entre los tanques receptores de jugo de primera extracción y jugo diluido, se evidencia que la carga microbiana es mayor en este último, esto se debe al tiempo de permanencia del jugo y a la ausencia de tratamiento químico que favorece la propagación microbiana y su adherencia a la superficie generando biofilms que producen la alteración del jugo y la pérdida de sacarosa. Por tal motivo los tanques 2, 3, 4 y 5 deben ser priorizados en los procedimientos de limpieza y desinfección periódicamente para controlar la proliferación de este tipo de microorganismos evitando la formación de biopelículas que se ven fortalecidas por la interacción entre las células microbianas, superficie de anclaje y el medio acuoso que los rodea (Nazar, J.2007). Las comunidades microbianas mantienen una forma de comunicación a través de la

detección del quórum sensing, emplean diferentes señales químicas que pueden ser AHL (acil-homoserín-lactona), para supervisar su entorno, alterar la expresión genética y obtener ventaja sobre sus competidores (Caballero et al., 2011).

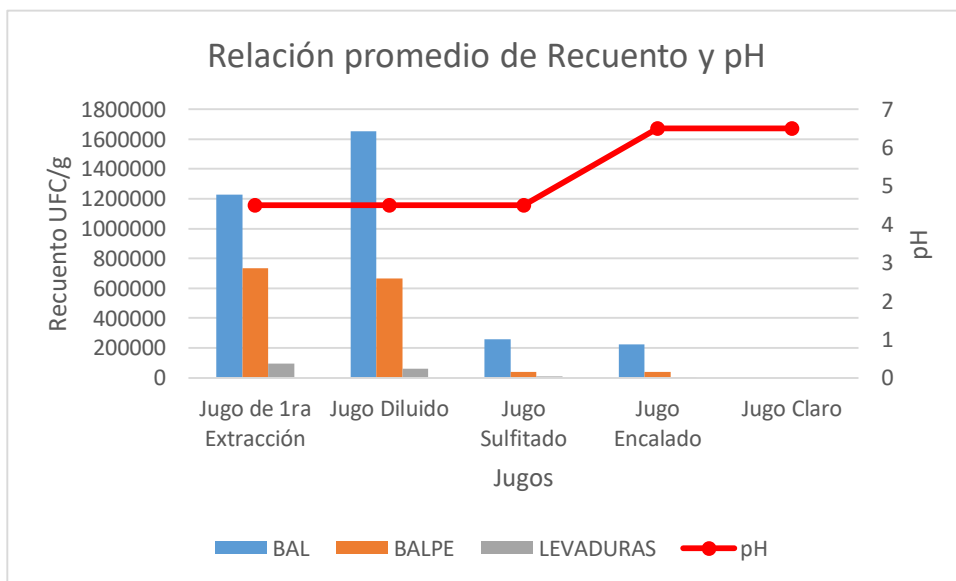
La limpieza se realiza de los tanques y canales con agua caliente, igualmente se añade un bactericida en el jugo de caña y solo se realiza una desinfección a profundidad soda caustica, en los paros programados de los procesos. Chen en el manual de caña, establece que la aplicación de agua caliente a alta presión, a través de pequeñas toberas, reduce las pérdidas al reducir las acumulaciones que se forman, pero no es lo suficientemente eficaz puesto que como se observó los microorganismos presentes en la caña hacen parte de la superficie de los tanques y la canal, lo que facilita que pueda conllevar pérdidas de sacarosa. Lo ideal sería hacer una limpieza constante de los tanques, filtros, mallas, bombas y tuberías que son focos clave de contaminación en donde se forman biopelículas por la dificultad para realizar una limpieza en profundidad, resultando en la unión de material polimérico extracelular, detritus inorgánicos y células microbianas formando capas delgadas de suciedad. No obstante, en la práctica estos no pueden ser limpiados constantemente dado a la capacidad de almacenamiento y disponibilidad de tanques, lo que permiten estas pruebas es priorizar que tanques poseen mayor contaminación y proceder a su limpieza, realizando liquidaciones del tanque evacuando el material de acuerdo a las condiciones del proceso hasta lograr su vaciado y proceder a la limpieza (Sánchez, L. 2019).

6.2 Recuento microbiológico de los jugos de caña.

La variación de la concentración microbiana que se presentó durante los cinco muestreos realizados, depende de la condición climática, estado de la poscosecha, el tipo de material orgánico sembrado, la edad del cultivo y del tipo de corte de la caña (mecanizado o manual), teniendo en cuenta que en el mecanizado se fracciona el tallo y queda más expuesto a la actividad microbiana (Solomon, S.2009).

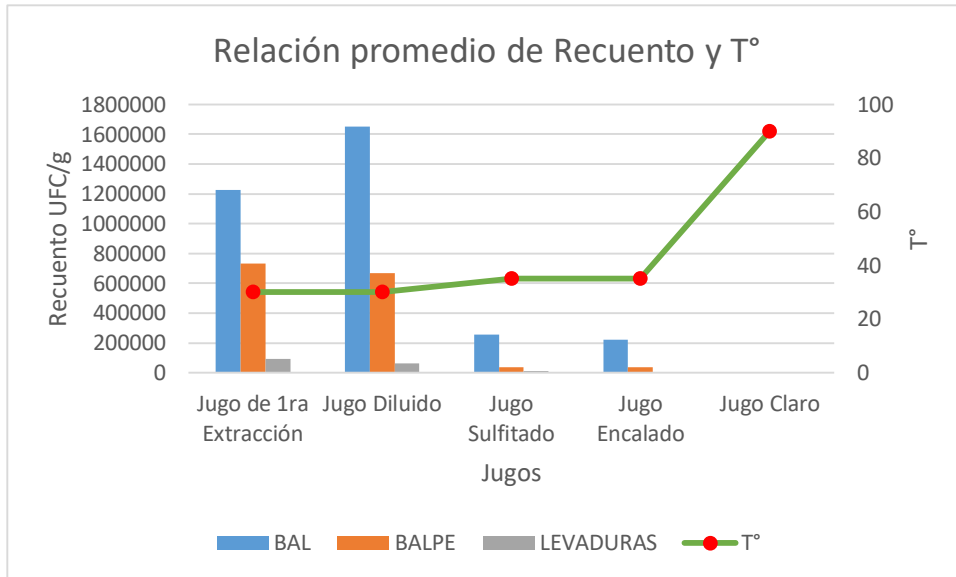
En las gráficas 7 a la 9 se puede observar los valores obtenidos en los recuentos microbianos de BAL, BALPE y levaduras e igualmente los valores obtenidos en los

análisis fisicoquímicos de pH, grados Brix y temperatura, para cada uno de los jugos. Se pudo determinar (Gráfica 7, 8 y 9), que en general en los muestreos, la población microbiológica preponderante corresponde a BAL y BALPE y en menor proporción a las levaduras, esto se ve beneficiado dado que las características fisicoquímicas del jugo de caña hacen de este un excelente sustrato para el desarrollo de este tipo de microorganismos, es de saber que la caña en su estado natural tiene un pH neutro, pero una vez extraído el jugo pierde la neutralidad y por lo tanto aumenta su grado de acidez (Cuervo et al., 2010). Es por ello que este valor es uno de los más importantes en el control de la calidad de la producción y al no adicionarse ningún componente que controle la inversión de la sacarosa, puede favorecerse el crecimiento microbiano que conlleva la pérdida de azúcar por fermentación en los jugos de primera extracción y diluido (Gráfica 7) y disminuye la concentración microbiana en el jugo sulfitado, a continuación, el jugo de caña es sometido a tratamientos térmicos y estabilización de pH, que permiten modificar el pH del jugo y dar estabilidad microbiana al producto, generando un jugo encalado y jugo claro, evitando la alteración y pérdida de sacarosa (Eggleston et al., 2004; Daza et al., 2015).



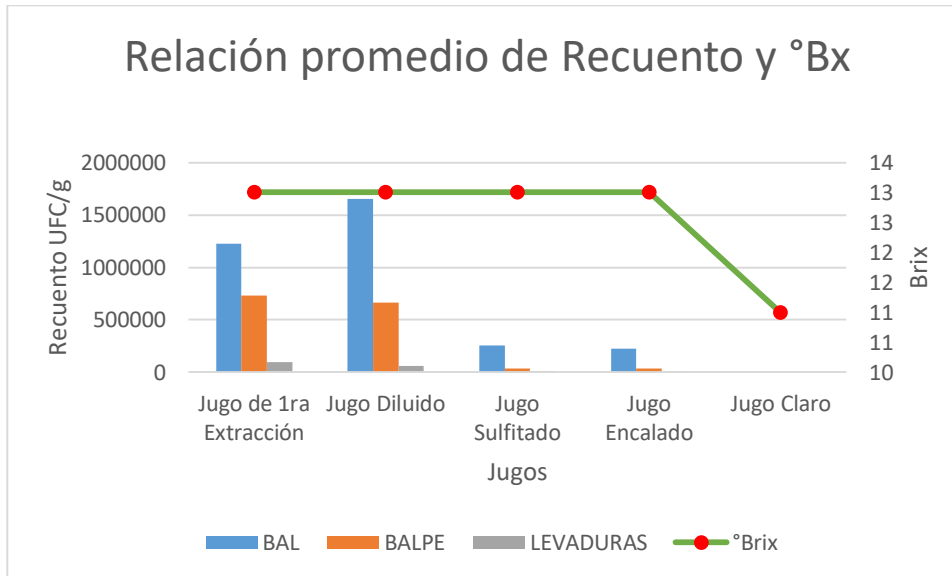
Gráfica 7. Relación entre los recuentos microbiológicos expresado en UFC/ g y pH en los diferentes jugos de caña.

La temperatura que se manejó en cada jugo como se observa en la gráfica 8, permitió que en la mayor parte del proceso se favoreciera la proliferación microbiana y por ende la pérdida de sacarosa dada su actividad fermentativa durante las tres primeras etapas que sumado a la constante a la aireación de los jugos debido al movimiento a través de las tuberías y tanques favorece aún más su proliferación (Hernández et al., 1977; Misra et al., 2017).



Grafica 8. Relación entre los recuentos microbiológicos expresado en UFC/ g y temperatura en los diferentes jugos de caña.

La alta concentración (incontable) de BAL, BALPE y Levaduras en el jugo de primera extracción y jugo diluido como se observa en el anexo 5, podría considerarse normal, puesto que este tipo de microbiota hace parte simbiótica de la planta y una vez sometida la caña a la extracción es trasferida al jugo sin embargo no se logró demostrar que existe una reducción de la sacarosa o una pérdida de la misma dada su actividad fermentativa, puesto que el índice de grados Brix se mantuvo contante a los largo del proceso de los jugos y el descenso que se observó en el jugo claro es producto del proceso de elaboración del azúcar (Grafica 9).

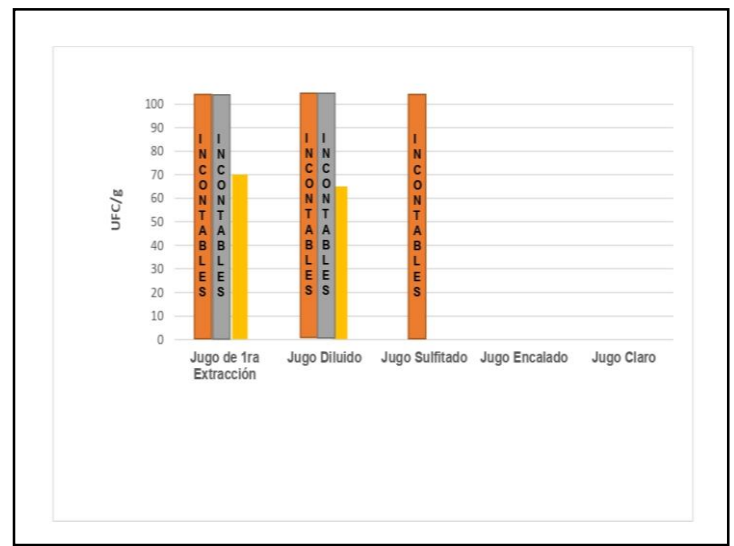
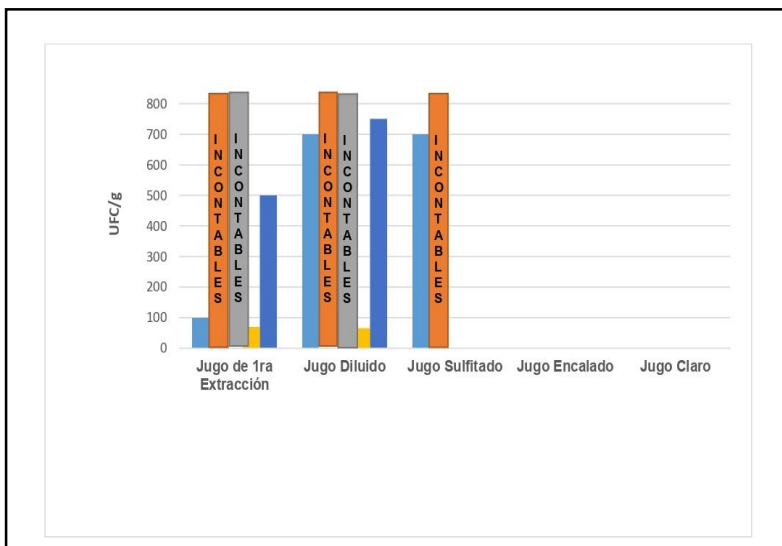


Grafica 9. Relación entre los recuentos microbiológicos expresado en UFC/ g y °Bx en los diferentes jugos de caña.

Se observó la relación pH y T° vs Recuentos microbianos, son inversamente proporcionales, pues el proceso de extracción de sacarosa cuenta con etapas que ayudan a mejorar las características del jugo como son color, impurezas y recuperación de la sacarosa, para el caso microbiano estas etapas ayudan no solo a la calidad del jugo sino a disminuir la carga microbiana causante de la inversión de la sacarosa, estas son la etapa de encalado en la cual se agrega un insumo permitiendo el aumento del pH del jugo lo que inhibe el crecimiento de los microorganismos que se desarrollan en medios ácidos y la etapa de clarificación del jugo, en donde se realiza un calentamiento inicial a una temperatura mayor de 70°C, luego se retiran impurezas por sedimentación iniciando proceso de purificación de la sacarosa, observándose un efecto benéfico al disminuir significativamente los recuentos microbianos. Para el caso de los análisis de ° Brix, dado que solo se encuentra en fases preliminares y aun no se ha concentrado el jugo, no se evidencian cambios en los Brix del mismo, estos se reflejarían al medirlos en las Meladuras, pues el Jugo Claro luego pasa por un proceso de evaporación donde se retira la mayor cantidad de agua presente en el jugo.

Durante el proceso las condiciones de alta temperatura no son favorables para el desarrollo de microorganismos. El mayor efecto en términos de inversión de sacarosa es

causado por las levaduras y en cuanto a producción de metabolitos son las BAL y BALPE las que producen la mayor cantidad de metabolitos en jugos que presentan temperaturas de 30°C - 35°C. Las condiciones favorables para el desarrollo y proliferación de microbiota contaminante se limitan a la etapa de extracción de jugos, ya que en este punto existe la presencia y disponibilidad de nutrientes y factores ambientales favorables. Las etapas de operación posteriores a la extracción de jugos consisten en una serie de tratamientos físico-químicos donde las condiciones extremas de temperatura (>60°C), evitan la proliferación y desarrollo de microorganismos. Es de vital importancia a largo de todo el proceso la acción del pH y especialmente de la temperatura inhibe el desarrollo de microorganismos (Daza et al. 2009).



Numero de muestreo

- 1. 2. 3. 4. 5.

Grafica 10. Recuentos microbiológicos de Coliformes.

Grafica 11. Recuentos microbiológicos de *E. coli*.

La presencia de Coliformes y *E. coli*, en las dos primeras etapas, se debe las impurezas adheridas por la caña que hacen parte de la tierra, especialmente el abono orgánico empleado en la siembra de la caña, sin embargo, su concentración disminuye

drásticamente hasta desaparecer en los jugos tratados térmicamente y estabilizados físico-químicamente.

No se presentó crecimiento de *Salmonella spp* en ninguna de las etapas del proceso como se evidencia en el anexo 6, debido a que las condiciones de pH y T° de los diferentes jugos no son un medio óptimo para su crecimiento, otra razón es por las BAL y BALPE que inhiben su crecimiento debido al cambio de pH, por la producción de ácidos orgánicos. (Parra M. 2002).

7. CONCLUSIONES

- Los microorganismos alterantes determinados y que posiblemente pueden ser causantes del deterioro e inversión de la sacarosa fueron BAL, BALPE, Levaduras, Coliformes, *E. coli*, no se encontró la presencia *Salmonella sp.*
- Se evidencia un descenso significativo de la carga microbiana a lo largo del proceso de elaboración de azúcar, debido a las variables fisicoquímicas: pH, temperatura y Brix. La temperatura y los controles de pH, intervienen como un factor determinante en la proliferación y supervivencia de los microorganismos, notándose que, en las etapas finales del proceso de fabricación del azúcar de caña, los recuentos de microorganismos son cercanos a cero por las altas temperaturas.
- Las concentraciones microbianas determinadas en los jugos de primera extracción y jugo diluido son altas, sin embargo, se pudo constatar que el proceso de elaboración de azúcar, asegura la disminución drástica de este tipo de microorganismos como se pudo observar en el jugo sulfitado, encalado y claro.
- Las concentraciones microbianas permanecieron constantes en las superficies de los tanques recibidores de jugo de primera extracción y diluido, siendo un punto clave para la proliferación de microorganismos responsables de la inversión de sacarosa, ya que la limpieza que se realiza pierde el efecto controlador rápido.
- La presencia de estos microorganismos considerados alterantes, pueden causar deterioro y pérdidas de sacarosa, son eliminados en el proceso del tratamiento térmico y dado el tiempo que transcurre entre cada etapa no es superior a 30 minutos, no se permite que se genere una fermentación que modifique el jugo y conlleve el consumo de la sacarosa.

8. RECOMENDACIONES

- Realizar asepsia periódicamente en los tanques recibidores de jugo para evitar los ambientes propicios para el crecimiento de los microorganismos.
- Incluir la determinación de BAL y BALPE en los análisis de rutina que se realizan a los jugos de fábrica y continuar con los estudios sobre la microflora para identificar los géneros y especies más frecuentes y determinar la incidencia de cada uno de ellos sobre el deterioro e inversión de la sacarosa, para hacer el control respectivo.
- Realizar caracterización e identificación de los microorganismos anaerobios que también tienen efecto alterante en los jugos de caña.

9. GLOSARIO

Azúcar: También denominado sacarosa, es un disacárido formado por glucosa (alfa-glucopiranososa) y fructosa (beta-fructofuranosa). Es el edulcorante por excelencia utilizado en la alimentación humana. es un cuerpo de características sólidas que es blanco y se encuentra cristalizado. Este tipo de sustancia forma parte de los hidratos de carbono, es soluble en H₂O y se caracteriza por su sabor dulce.

Recuentos microbiológicos: Técnicas para determinar la población de los microorganismos.

Jugo sulfitado: La sulfatación y la alcalización son pasos importantes de la producción de azúcar. Para garantizar que ambos procesos se realizan correctamente es necesario medir y controlar el pH. La sulfatación (la adición de dióxido de azufre al jugo) ayuda a garantizar que el azúcar final sea blanco. El dióxido de azufre inhibe las reacciones en el jugo que producen la formación de color y reduce la viscosidad del jugo y, por consiguiente, del jarabe de azúcar, lo cual facilita las fases posteriores de evaporación y hervido.

Jugo encalado: El jugo mixto proveniente de los molinos pasa a un tanque llamado de encalado, donde es tratado con una solución cal (5° Baumé) con la finalidad de aumentar el pH desde 4.5 hasta 7.2 y 7.4 aproximadamente, este producto reacciona con los fosfatos contenidos en el jugo formando un compuesto con el nombre de fosfato tricalcico, que forma sales precipitables de gran superficie de contacto y por ende de gran poder en la clarificación de los jugos.

Jugo diluido: Es el jugo diluido que al unirse al jugo primario forma el jugo mezclado.

Jugo clarificado: Jugo limpio caliente procedente del proceso de clarificación y que será procesado en los evaporadores. Constituye una etapa de gran importancia y significación en el proceso productivo azucarero, dada la gran cantidad de impurezas y no-azúcares que interesan remover en esta, para la obtención de azúcar con la calidad requerida.

Inversión de sacarosa: La sacarosa es dextrorrotatoria; tiene una rotación específica de $+66.53^\circ$. La D-glucosa es también dextrorrotatoria, pero la D-fructosa tiene una rotación negativa fuerte, Cuando la sacarosa se hidroliza a una mezcla de glucosa y fructosa, la rotación de la solución cambia de un valor positivo a un valor negativo, al ser observada en un polarímetro; este proceso se conoce como inversión de la sacarosa.

Coliformes: Bacilos Gram negativos, aerobios y anaerobios facultativos, productores de gas y fermentadores de lactosa.

Escherichia coli: Bacilos Gram negativos, cuya presencia determina contaminación de origen fecal debido a la mala manipulación, por contacto con suelos o aguas contaminadas, falta de aseo o mala desinfección al procesar el alimento.

Levaduras: microorganismos cuya principal característica es su rápida reproducción y sus colonias pequeñas, puntiformes, cremosas y de bordes bien definidos.

Materiales: Tipos de muestras diferentes a azúcar como producto final, por ejemplo: jugos, mieles, masas, azúcar húmedo, jarabes, aguas sin tratar y otros que apliquen.

Bacterias ácido lácticas (BAL): Microorganismos cuya principal característica es la fermentación, es decir invierten la sacarosa en glucosa y fructosa.

Bacterias ácido lácticas productoras de expolisacáridos (BALPE): Microorganismos cuya principal característica es la fermentación, es decir que invierten la sacarosa en glucosa y fructosa, adicionalmente forma un polímero llamado dextrana.

10. BIBLIOGRAFIA

Alvarez, G. (2012). *Comparación entre dos métodos para la reducción de cargas bacterianas en molinos de una industria azucarera* (tesis de pregrado). Universidad San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, Mazatenango, Suchitepéquez.

Asocaña (2020). Sector Agroindustrial De La Caña. Recuperado de <https://www.asocana.org/publico/info.aspx?Cid=215>

Aucatoma, B. (2008). Las dextranas y su efecto en la industria azucarera. Carta Informativa CINCAE (Ecuador) 10 (1), 9-12.

Aucatoma, B.; Chicaiza, B; Fajardo, K. y Solís G. (2005). Cuantificación de las pérdidas de sacarosa entre quema-corte y corte-alce en la variedad Ragnar. Informe anual 2005 CINCAE (Ecuador), 39-42.

Barco, F. (2006). *Evaluación de pérdidas indeterminadas de sacarosa por inversión en el proceso de clarificación en el ingenio castilla industrial* (tesis de pregrado). Universidad Autónoma de Occidente, Facultad de Ingeniería, Santiago de Cali, Valle del Cauca.

Blanco, G. (1995). *Implementación del test de Resazurina como prueba rápida para estimar el número de microorganismos presentes en el jugo de caña* (tesis de pregrado). Universidad De San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias químicas y agrarias, Guatemala.

CENICAÑA. (2020). El Valle del Cauca le saca más 'jugo' a la agroindustria de la caña. Recuperado de <https://www.cenicana.org/el-valle-del-cauca-le-saca-mas-jugo-a-la-agroindustria-de-la-cana/>

CENICAÑA. (2019). ¿Microbiológicamente qué ocurre en las fábricas de azúcar y etanol? Recuperado de <https://www.cenicana.org/microbiologicamente-que-ocurre-en-las-fabricas-de-azucar-y-etanol/>

Comité Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar. (2015). Ficha técnica del cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum L.*).

Corrales, E. y Garzón, G. (2014). Identificación y cuantificación de pérdidas de sacarosa en el efluente final del proceso de elaboración de azúcar en el ingenio azucarero Riopaila Castilla (planta Castilla).

Díaz, A., Reyes., Puerta., Monterrosa., Tovar., Cabrales. y Herrera, A (2011). Biopelículas como expresión del mecanismo de quorum sensing: Una revisión. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*, 23(3), 195-201.

Giraldo, S. y López, D. (2019). Reacciones químicas de los azúcares simples empleados en la industria alimentaria. *Lámpsakos*. (22), 123-136.

Guerrero, L., Daza, Z. y Zafra, G. (2018). *Identificación y evaluación de la actividad metabólica de microorganismos contaminantes representativos de la etapa de elaboración de azúcar* (tesis de pregrado). Universidad De Santander, Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agropecuarias, Bucaramanga.

Jeréz, L. (2008). *Control de la inversión de la sacarosa en el proceso de elaboración de jarabe simple de bebidas carbonatadas* (tesis de pregrado). Universidad San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, Guatemala.

Johany, A., Mulet, C., Cárdenas, R., Durán, A., Mejía, J. y Rodríguez, P. (2009). Efecto de las concentraciones salinas en la inhibición de *Leuconostoc mesenteroides* en un ingenio azucarero del Valle del Cauca. *Guillermo de Ockham*. 7(1),13-18.

Misra, V. y Solomon, S. (2017). Microorganisms affecting Post-Harvest Sucrose Losses in Sugarcane. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6(7), 2554-2566.

Mora, Z. (1994). *Estudio de las microfloras contaminantes durante la etapa de molienda de caña en relación con el proceso de elaboración de azúcar* (tesis de pregrado). Universidad del Valle, Facultad de Ciencias, Cali, Colombia.

Mosquera, H., Garzón, G., y Rubio, J. (2012). Evaluación, análisis y cuantificación de pérdidas de sacarosa de miel final en los procesos de cristalización, agotamiento y centrifugación del Ingenio María Luisa. *Ingenium*, 6(12), 69-75.

Mosquera, S. (2014). *Caracterización microbiológica de productos en proceso generados durante la elaboración de azúcar de caña en el Ingenio Risaralda S.A.* (tesis de pregrado). Universidad Tecnológica de Pereira, Facultad de Tecnología, Pereira, Risaralda.

Panpae, K., Jaturonrusmee, W., Mingvanish, W., Nuntiwattanawong, C., Chunwiset, S., Santudrob, K. y Triphanpitak, S. (2008). Minimization of sucrose losses in sugar industry by pH and temperature optimization. *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*. 12 (3), 513 – 519.

Paucar, L. (2008). *Obtención de un edulcorante natural a partir de la caña de maíz (Zea mays) y su caracterización físico-química* (tesis de pregrado). Universidad Nacional del Centro Del Perú, Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Huancayo, Perú.

Raimbault, M. (1994). *Impacto de la microbiología en la fabricación del azúcar*. Programa Fondo de Nuevos Desarrollos. ASOCAÑA – ORSTOM.

SAGARPA (2020). Azúcar que endulza mi vida. Recuperado de <http://siaprendes.siap.gob.mx/contenidos/3/03-cana-azucar/contexto-2.html#>

Sánchez, L. (2019). *Determinación de las pérdidas de sacarosa por acción de Leuconostoc Spp para la implementación de controles que favorezcan su disminución en un ingenio azucarero* (tesis de maestría). Universidad Católica De Manizales, Facultad de Ciencias de la Salud, Manizales.

Serrano, L. (2006). *Determinación de las poblaciones Microbiológicas en el proceso de extracción de jugo de caña de azúcar en el Ingenio Manuelita S. A.* (tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Bogotá D.C.

Sierra, J., Montes, J., Arbeláez, N., Gil, N., y Daza, T. (2018). Calidad microbiológica de materiales del proceso de producción de azúcar. Técnicaña, Cali, Colombia.

Solomon, S. (2009). Post-harvest deterioration of sugarcane. *Sugar Tech.* 11, 109–123.

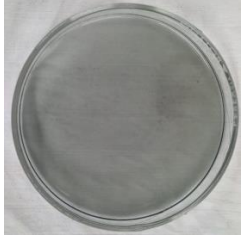
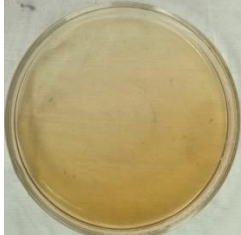
Villarroel, E. y Ortiz, J. (2006). *Aplicación de técnicas para la clarificación del jugo de caña (Saccharum officinarum) como mejorador de sus características organolépticas* (tesis de pregrado). Universidad Técnica De Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en alimentos, Ambato, Ecuador.


Waleed, A. (2020). Effect of Sugarcane Juice Pre-Treatment on the Quality and Crystallization of Sugarcane Syrup (Treacle). Central Laboratory of Organic Agriculture, Minya, Egipto.

Zepeda, E. (2012). *Propuesta de alternativas para la reducción de pérdidas de sacarosa en un ingenio azucarero* (tesis de pregrado). Universidad de el Salvador, Facultad de Ingeniería y Arquitectura, San Salvador.

11. ANEXOS

Anexo 1. Medios de cultivo y temperatura de incubación para el aislamiento de cada grupo microbiano.

Microorganism o a evaluar	Medio de Cultivo	Medio cultivo solidificado	Componentes diferencial	Componentes selectivos	Lectura
BAL: bacterias ácido lácticas	Agar APT suplementado con de azul de anilina al 1 % y de Cicloheximida al 0,1 %.		Peptona, que actúa como una fuente de carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales. El extracto de levadura proporciona nutrientes de vitaminas y complejos B, requeridos para el crecimiento de bacterias. La dextrosa es la fuente de carbohidratos.	Azul de anilina y de Cicloheximida. El cloruro de manganeso, el sulfato de magnesio y el sulfato ferroso son esenciales para la replicación de lactobacilos y estreptococos del ácido láctico. El polisorbato 80 es una fuente de ácidos grasos requerida por los lactobacilos. El citrato sódico inhibe parcialmente el crecimiento de bacterias Gram negativas.	Colonias azules, pequeñas, de forma irregular.
BALPE: bacterias ácido lácticas productoras de exopolisacárido.	Agar APT suplementado con sacarosa al 10 %.		Peptona, que actúa como una fuente de carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales. El extracto de levadura proporciona nutrientes de vitaminas y complejos B, requeridos para el crecimiento de bacterias. La	Sacarosa al 10 %. El cloruro de manganeso, el sulfato de magnesio y el sulfato ferroso son esenciales para la replicación de lactobacilos y estreptococos del ácido láctico. El polisorbato 80 es una fuente	Cuando se pueden contar son Colonias grandes, redondas, gomosas de color traslúcido. Cuando no se pueden contar se observa el exopolisacárido distribuido en toda la caja.

			dextrosa es la fuente de carbohidratos.	de ácidos grasos requerida por los lactobacilos. El citrato sódico inhibe parcialmente el crecimiento de bacterias Gram negativas.	
Mohos y Levaduras	Agar YGC.		Extracto de levadura y glucosa.	Cloranfenicol	Colonias medianas, redondas, de color blanco.

Anexo 2. Placas compact Dry.

Tipo de Placa compact Dry	Microorganismo a analizar	Fundamento
Placas compact Dry EC.	Coliformes y <i>E. coli</i>	Permite la detección y diferenciación entre Coliformes y <i>E. coli</i> . El medio contiene dos sustratos enzimáticos cromógenos: Magenta-GAL y X-Gluc. De esta manera los Coliformes desarrollan una coloración roja, mientras que la de los <i>E. coli</i> es azul.
Placas compact Dry SL.	<i>Salmonella spp.</i>	Cambio de color del medio, de azul lila a amarillo, causado por la alcalización del medio por obra de la decarboxilasa de lisina específica de la <i>Salmonella</i> . Surgimiento de colonias verdinegras por biodegradación del sustrato cromógeno, así como por el sulfuro de hidrógeno producido

		específicamente por las salmonellas. Movilidad de las <i>Salmonella</i> .
--	--	---

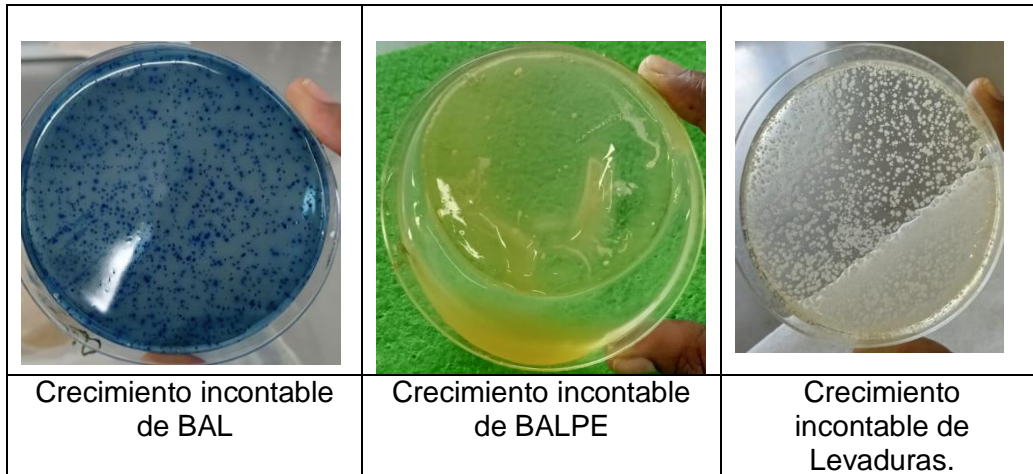
Anexo 3. Resultado de los análisis microbiológicos correspondiente a la superficie de los tanques recibidores de jugo 1 y canal.

DATOS DE MUESTREO / PARÁMETROS / UNIDADES		(UFC /100 cm2)		
MUESTREO	SUPERFICIE	BAL	BALPE	Levaduras
1.	Tanque N° 1	36000	23000	188000
	Canal recibidora de jugo	192000	10000	100000
2.	Tanque N° 1	70000	20000	20000
	Canal recibidora de jugo	90000	< 10000	160000
3.	Tanque N° 1	60000	< 10000	< 10000
	Canal recibidora de jugo	120000	< 10000	< 10000
4.	Tanque N° 1	40000	< 100000	10000
	Canal recibidora de jugo	10000	< 10000	180000
5.	Tanque N° 1	1460000	200000	< 10000
	Canal recibidora de jugo	1700000	230000	< 10000

Anexo 4. Resultado de los análisis microbiológicos correspondiente a la superficie de los tanques recibidores de jugo 2, 3,4, y 5.

DATOS DE MUESTREO / PARÁMETROS / UNIDADES		(UFC /100 cm ²)		
Muestreo	SUPERFICIE	BAL	BALPE	Levaduras
1.	Tanque N° 2	40000	11000	Incontables
	Tanque N° 3	240000	30000	Incontables
	Tanque N° 4	76000	22000	Incontables
	Tanque N° 5	160000	4000	29000
2.	Tanque N° 2	40000	< 10000	10000
	Tanque N° 3	1320000	10000	100000
	Tanque N° 4	200000	Incontables	80000
	Tanque N° 5	70000	< 10000	280000
3.	Tanque N° 2	3200000	280000	< 10000
	Tanque N° 3	530000	100000	280000
	Tanque N° 4	160000	40000	< 10000
	Tanque N° 5	< 10000	< 10000	< 10000
4.	Tanque N° 2	110000	90000	< 10000
	Tanque N° 3	30000	< 10000	40000
	Tanque N° 4	30000	10000	890000
	Tanque N° 5	50000	30000	20000
5.	Tanque N° 2	Incontables	Incontables	74000
	Tanque N° 3	44000	13000	1000
	Tanque N° 4	213000	Incontables	< 1000
	Tanque N° 5	386000	Incontables	6000

Anexo 5. Crecimiento de BAL, BALPE y Levaduras en cajas de Petri.



Anexo 6. Resultado de los análisis microbiológicos correspondiente a la superficie de los tanques recibidores de jugo.

Muestreo	NOMBRE DE LA MUESTRA	SITIO DE MUESTREO	T (°C)	COLIFORMES	<i>Escherichia coli</i>	MOHOS	LEVADURAS	BAL	BALPE	<i>Salmonella sp</i>
				UFC/g						
1.	Jugo de 1ra Extracción	Molinos	30	100	< 10	50000	408000	Incontables	Incontables	
1.	Jugo Diluido	Molinos	30	700	< 10	1000	192000	Incontables	Incontables	
1.	Jugo Sulfitado	Molinos	35	700	< 10	< 10	1000	8000	10000	
1.	Jugo Encalado	Molinos	35	< 10	< 10	< 10	< 10	32000	8000	
1.	Jugo Claro	Clarificación	>90	< 10	< 10	< 10	< 10	70	30	
2.	Jugo de 1ra Extracción	Molinos	30	Incontables	Incontables	< 1000	23000	208000	Incontables	Ausencia
2.	Jugo Diluido	Molinos	30	Incontables	Incontables	< 1000	27000	110000	Incontables	Ausencia
2.	Jugo Sulfitado	Molinos	35	Incontables	Incontables	< 1000	< 1000	19000	1000	Ausencia
2.	Jugo Encalado	Molinos	35	< 10	< 10	< 1000	< 1000	60000	4000	Ausencia
2.	Jugo Claro	Clarificación	>90	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	Ausencia
3.	Jugo de 1ra Extracción	Molinos	30	Incontables	Incontables	< 1000	15000	1800000	1000000	Ausencia
3.	Jugo Diluido	Molinos	30	Incontables	Incontables	< 1000	13000	1400000	700000	Ausencia
3.	Jugo Sulfitado	Molinos	35	< 10	< 10	< 1000	< 1000	200000	< 100000	Ausencia
3.	Jugo Encalado	Molinos	35	< 10	< 10	< 1000	< 1000	100000	< 10000	Ausencia
3.	Jugo Claro	Clarificación	>90	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	Ausencia
4.	Jugo de 1ra Extracción	Molinos	30	70	70	< 1000	20000	1900000	600000	Ausencia
4.	Jugo Diluido	Molinos	30	65	65	< 1000	37000	3500000	400000	Ausencia
4.	Jugo Sulfitado	Molinos	35	< 10	< 10	< 1000	20000	800000	100000	Ausencia
4.	Jugo Encalado	Molinos	35	< 10	< 10	< 1000	5000	700000	100000	Ausencia
4.	Jugo Claro	Clarificación	>90	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	Ausencia
5.	Jugo de 1ra Extracción	Molinos	30	500	< 10	< 1000	10000	1000000	600000	Ausencia
5.	Jugo Diluido	Molinos	30	750	< 10	< 1000	44000	1600000	900000	Ausencia
5.	Jugo Sulfitado	Molinos	35	< 10	< 10	< 1000	< 1000	< 100000	< 100000	Ausencia
5.	Jugo Encalado	Molinos	35	< 10	< 10	< 1000	< 1000	< 100000	< 100000	Ausencia
5.	Jugo Claro	Clarificación	>90	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	Ausencia

Anexo 7. Resultado de los análisis Fisicoquímicos correspondiente a los diferentes jugos de caña.

Jugos	pH	T°	°Brix
Jugo de 1ra Extracción	4,5-5,4	30°C	13-16
Jugo Diluido	4,5-5,4	30°C	13-16
Jugo Sulfitado	4,5-5,4	35°C	13-16
Jugo Encalado	6,5-7,3	35°C	13-16
Jugo Claro	6,5-7,3	90	11-14